



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**«ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΒΛΑΒΩΝ ΝΩΤΙΑΙΟΥ ΜΥΕΛΟΥ. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ
ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ»**

Γ' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΠΑ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΡΑΝΤΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ-ΑΓΓΕΛΟΣ

**«ΕΠΩΔΥΝΟΣ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΣ ΔΙΣΚΟΣ: ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ»**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΟΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ

ΑΘΗΝΑ 2020



**NATIONAL AND KAPODISTRIAN
UNIVERSITY OF ATHENS
MEDICAL SCHOOL**

POST-GRADUATE PROGRAM

**«REHABILITATION FOLLOWING SPINAL CORD LESIONS.
SPINAL PAIN MANAGEMENT»**

MASTER THESIS

TRANTOS IOANNIS ANGELOS

SUPERVISOR: PROFESSOR PNEUMATICOS SPIRIDON

ATHENS 2020

Βιογραφικό σημείωμα

Εκπαίδευση:

2008-2015 Ιατρική σχολή Ε.Κ.Π.Α., βαθμός πτυχίου “Λίαν καλώς”
7,05/10

2005-2008 Β' Αρσάκειο Τοσίτσειο Λύκειο Εκάλης, βαθμός
απολυτηρίου 19,8/20

Εργασία – Άσκηση Ιατρικής Ειδικότητας:

2/2019-σήμερα Ειδικευόμενος Ορθοπαιδικής Χειρουργικής, Ε'
Ορθοπαιδική κλινική Γ.Ν.Α. ΚΑΤ

12/2017- 12/2018 Ειδικευόμενος Γενικής Χειρουργικής, Α
Χειρουργική κλινική Γ.Ν.Α. “Γ. Γεννηματάς”

Συνεχιζόμενη κατάρτιση – πιστοποίηση:

ATLS – Advanced Trauma Life support, American College of
Surgeons – πρόγραμμα ΕΚΠΑ 6/2017

BLS – Basic Life support, European Resuscitation Council, 3/2018

Γνώσεις ξένων γλωσσών:

Αγγλική: Certificate of Proficiency in English, ESOL University of
Cambridge (επίπεδο C2), 6/2005

Γερμανική: Zentrale Mittelstufenprüfung, Goethe-Institut (επίπεδο C1) 5/2006

Μέλος Ι.Σ.Α. (Ιατρικός Σύλλογος Αθήνας) 2016-σήμερα

Εκπλήρωση στρατιωτικής θητείας 2016-2017, ως οπλίτης ιατρός, Γ' ΕΤΕΘ, Χίος

Περίληψη

Ο σχετιζόμενος με τον μεσοσπονδύλιο δίσκο πόνος είναι ένα συχνό πρόβλημα υγείας, που ευθύνεται για αναπηρία σε μεγάλο αριθμό ασθενών παγκοσμίως. Η εκφύλιση του δίσκου είναι μία διαδικασία με σχεδόν καθολική εξέλιξη κατά την γήρανση και συνδέεται όχι μόνο με την οσφυαλγία, αλλά και με την εμφάνιση δισκοκήλης και νευρολογικών ελλειμμάτων. Η συντηρητική θεραπεία για την δισκογενή οσφυαλγία είναι κυρίως συμπτωματική, συχνά έχει βραχεία δράση ή/και είναι ανεπαρκής για μία υποκατηγορία ασθενών. Η χειρουργική θεραπεία δεν αντιμετωπίζει τη βιολογική εξέλιξη της νόσου, συνδέεται με νοσηρότητα και μπορεί να επιταχύνει την εκφύλιση των μεσοσπονδυλίων δίσκων στα γειτονικά επίπεδα. Ανάμεσα στις βιολογικές θεραπείες που διερευνώνται, με στόχο την πάυση ή ακόμα και την αναστροφή της προόδου της νόσου, οι κυτταρικές θεραπείες έχουν προσελκύσει αυξανόμενο ενδιαφέρον το τελευταίο χρονικό διάστημα και συμπεριλαμβάνουν τη χορήγηση τόσο αυτόλογων όσο και αλλογενετικών βλαστοκυττάρων και χονδροκυττάρων. Σε αυτή την εργασία, επιδιώκεται η ανασκόπηση της πρόσφατης βιβλιογραφίας που αφορά την εφαρμογή κυτταρικής θεραπείας σε ασθενείς που πάσχουν από δισκογενή οσφυαλγία και η ανάδειξη τόσο συγκεκριμένων θετικών αποτελεσμάτων, όσο και μελλοντικών εμποδίων για περαιτέρω κλινικές δοκιμές και την πιθανή εφαρμογή των κυτταρικών θεραπειών. Δώδεκα κλινικές δοκιμές και παρουσιάσεις περιστατικών, δημοσιευμένες από το 2006 και μετά, έχουν συμπεριληφθεί.

Λέξεις Κλειδιά: *Οσφυαλγία, Εκφύλιση Μεσοσπονδυλίου Δίσκου, Κυτταρική και ιστική θεραπεία, Βλαστοκύτταρα, Χονδροκύτταρα*

Abstract

Intervertebral disc-related low back pain is a common health issue, responsible for disability for numerous patients world-wide. Disc degeneration is a process with an almost universal development at advancing age and is connected not only with low back pain, but also with disc herniation and neurological deficits. Conservative treatment for discogenic low back pain is mainly symptomatic, often has short effect and/or is inadequate for a subgroup of patients. Surgical treatment does not address the biology of disc degeneration, is connected with morbidity and may hasten adjacent level disc degeneration. Among the biological treatments being investigated, aiming to halt or even reverse the degeneration process, cell therapy has attracted rising interest recently, including the administration of both autologous and allogenic stem cells and chondrocytes. In this study, it is attempted to review the recent literature concerning application of cell treatment to patients suffering from discogenic low-back pain and highlight certain promising results, as well as future obstacles for further clinical trials and possible clinical application of cell therapy. Twelve clinical trials and case reports have been included, all published since 2006.

Key Words: Low Back Pain, Intervertebral Disc Degeneration, Cell- and Tissue-Based Therapy, Stem Cells, Chondrocytes

Περιεχόμενα

<i>Βιογραφικό σημείωμα</i>	<i>III</i>
<i>Περίληψη</i>	<i>V</i>
<i>Λέξεις Κλειδιά</i>	<i>V</i>
<i>Πίνακας εικόνων</i>	<i>VIII</i>
<i>Πίνακας Πινάκων</i>	<i>IX</i>
<i>Πρόλογος</i>	<i>X</i>
<i>Εισαγωγή</i>	<i>XI</i>
<i>1.Η αναζήτηση μίας εφαρμόσιμης κυτταρικής θεραπείας</i>	<i>XVII</i>
<i>1-1 Οι σύγχρονες θεραπευτικές επιλογές και το ενδιαφέρον για τις βιολογικές θεραπείες</i>	<i>XVII</i>
<i>1-2 Κυτταρικοί πληθυσμοί υπό έρευνα για ενδοδισκική χορήγηση</i>	<i>XIX</i>
<i>2.Οι προκλήσεις για μία αποτελεσματική κυτταρική θεραπεία</i>	<i>XXIII</i>
<i>2-1 Το μικροπεριβάλλον του δίσκου</i>	<i>XXIII</i>
<i>2-2 Πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες – η επιλογή κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος και η κλινική εφαρμογή της θεραπείας</i>	<i>XXV</i>
<i>3.Πρόσφατες κλινικές μελέτες για τις κυτταρικές θεραπείες</i>	<i>XXVII</i>
<i>Συζήτηση-Συμπεράσματα</i>	<i>XLV</i>
<i>Βιβλιογραφία</i>	<i>XLIX</i>

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 0-1: Σχηματική απεικόνιση του “εκφυλιστικού κύκλου” (από Vergroesen et al, 2015⁸).....XV

Πίνακας Πινάκων

<i>Πίνακας 0-1: Flowchart</i>	XVI
<i>Πίνακας 1-1: Σχηματική απεικόνιση του “θεραπευτικού κενού” (από Schol et al, 2019)²⁷</i>	XXII
<i>Πίνακας 3-1: Διάγραμμα αποτελεσμάτων ασθενών (από Orozco et al, 2011)⁷⁸</i>	XLIII
<i>Πίνακας 3-2: Διάγραμμα αποτελεσμάτων ασθενών (από Noriega et al, 2017)⁶³</i>	XLIV

Πρόλογος

Ο πόνος σπονδυλικής προέλευσης, που αποτελεί κεντρικού θέματος του σχετιζόμενου με την παρούσα εργασία μεταπτυχιακού προγράμματος, αποτελεί ένα πρόβλημα δημόσιας υγείας που εμφανίζεται με μεγάλη συχνότητα και επομένως αφορά σημαντικό κομμάτι του πληθυσμού, ενώ παράλληλα είναι στις περισσότερες περιπτώσεις πολυπαραγοντικής αιτιολογίας. Η εκφυλιστική νόσος του μεσοσπονδυλίου δίσκου αποτελεί μία από τις κύριες αιτίες εμφάνισης πόνου σπονδυλικής προέλευσης, όταν συνδέεται με την κατάσταση που αποκαλείται επώδυνος μεσοσπονδύλιος δίσκος, και η εξέλιξη της αποτελεί τον προάγγελο της εμφάνισης δομικών αλλαγών στην σπονδυλική στήλη, όπως είναι η δισκοκήλη και η σπονδυλική στένωση, οι οποίες συνδέονται με επίταση του άλγους και πιθανή νευρολογική σημειολογία. Δυστυχώς όμως, η σύγχρονη θεραπευτική φαρέτρα για την αντιμετώπιση του επώδυνου μεσοσπονδυλίου δίσκου παραμένει σχετικά φτωχή. Πέρα από την ποικιλία φαρμακευτικών και φυσιοθεραπευτικών μεθόδων για τη συμπτωματική αντιμετώπιση του άλγους και τις χειρουργικές τεχνικές αντιμετώπισης δομικών προβλημάτων στην σπονδυλική στήλη, η ανάγκη για μια αποτελεσματική θεραπεία για την αντιμετώπιση της εκφυλιστικής διαδικασίας έχει ήδη αναδειχθεί. Στην κατεύθυνση αυτή, αυξανόμενο ενδιαφέρον συγκεντρώνουν τα τελευταία χρόνια οι πιθανές βιολογικές θεραπείες, που φιλοδοξούν να καθυστερήσουν, σταματήσουν ή ακόμα και κατά περίπτωση να αντιστρέψουν την πρόοδο της εκφύλισης του δίσκου. Οι κυτταρικές θεραπείες αποτελούν ένα μόνο τμήμα αυτής της ενεργής αναζήτησης, και η παρούσα μελέτη επιδιώκει να συνοψίσει την τρέχουσα βιβλιογραφία για τις σχετικές κλινικές δοκιμές των τελευταίων ετών. Σε κάθε περίπτωση, αφορά μία πλούσια και συνεχιζόμενη συζήτηση, και σφάλματα ή παραλείψεις από την πλευρά του συγγραφέα δεν μπορούν να αποκλειστούν, με την ελπίδα όμως ότι η παρούσα εργασία θα φανεί ενδιαφέρουσα στον αναγνώστη.

Εισαγωγή

Η οσφυαλγία αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία παγκοσμίως. Αποτελεί μία από τις συχνότερες αιτίες αναζήτησης ιατρικής βοήθειας, αφορά ένα σημαντικό μέρος του γενικού πληθυσμού και συχνά συνδέεται με αναπηρία. Ο επιπολασμός της χρόνιας οσφυαλγίας αυξάνει ανάλογα με την ηλικία. Πιο συγκεκριμένα, έχει υπολογιστεί να είναι 4,2% μεταξύ 24 και 39 ετών, αλλά 19,6% μεταξύ 20 και 59 ετών, με γραμμική αύξηση από τα 30 έως τα 60 έτη και τάση σταθεροποίησης (ή και ενδεχόμενης μείωσης) από την έβδομη δεκαετία της ζωής και εξής [1]. Άλλοι παράγοντες κινδύνου για χρόνια οσφυαλγία είναι το γυναικείο φύλο, το κάπνισμα, το χαμηλό εισόδημα και το χαμηλό επίπεδο εκπαίδευσης, καθώς οι δύο τελευταίοι παράγοντες συνδέονται συχνότερα με χειρωνακτική εργασία [1]. Το άμεσο και έμμεσο κόστος της στην οικονομία των ΗΠΑ εκτιμάται στα 500 δισ. \$[2]. Η εκφύλιση των μεσοσπονδυλίων δίσκων είναι μία συχνή αιτία οσφυαλγίας και αναπηρίας. Η εκφύλιση του δίσκου, αν και σε πολλές περιπτώσεις παραμένει ασυμπτωματική, έχει συνδεθεί με ισχιαλγία και κήλη ή πρόπτωση μεσοσπονδυλίου δίσκου. Μεταβάλλει το ύψος του δίσκου και την μηχανική της σπονδυλικής στήλης πιθανώς επηρεάζοντας αρνητικά τη συμπεριφορά άλλων δομών της σπονδυλικής στήλης, όπως μύες και συνδέσμους. Μακροπρόθεσμα, μπορεί να οδηγήσει σε σπονδυλική στένωση, ένα σημαντικό αίτιο άλγους και αναπηρίας στους ηλικιωμένους [3]. Η επίπτωσή της αυξάνεται ραγδαία με τις τρέχουσες δημογραφικές μεταβολές και τη γήρανση του πληθυσμού [4,5].

Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι βρίσκονται μεταξύ των σπονδυλικών σωμάτων, είναι οι κύριες αρθρώσεις της σπονδυλικής στήλης και καταλαμβάνουν το ένα τρίτο περίπου του συνολικού της ύψους [6]. Ο κύριος ρόλος τους είναι μηχανικός, καθώς σταθερά μεταφέρουν τα φορτία που παράγονται από το σωματικό βάρος και τη μυϊκή δραστηριότητα διαμέσω της σπονδυλικής στήλης. Παρέχουν ευελιξία, καθώς επιτρέπουν κίνηση σε τρεις διαστάσεις με κάμψη, έκταση και στροφή. Έχουν πάχος περίπου 7 με 10 χιλιοστά και η διάμετρος τους, στο προσθιοπίσθιο επίπεδο, στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης είναι περίπου 4 εκατοστά. Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι

είναι σύνθετες δομές, που αποτελούνται από ένα παχύ εξωτερικό δακτύλιο από ινώδη χόνδρο (ο ινώδης δακτύλιος) και ένα ζελατινώδη πυρήνα (ο πηκτοειδής πυρήνας). Ο ινώδης δακτύλιος αποτελείται από μία σειρά από 15 με 25 ομόκεντρα πετάλια από εναλλασσόμενες λοξές ίνες κολλαγόνου, οι οποίες είναι παράλληλες σε κάθε πετάλιο. Ο κεντρικός πηκτοειδής πυρήνας περιέχει ίνες κολλαγόνου, τυχαία οργανωμένες και ίνες ελαστίνης (που μπορεί να φτάνουν τα 150 χιλιοστά σε μήκος), οργανωμένες ακτινωτά εντός ενός ζελατινώδους υγρού που περιέχει αγκρεκάνη (aggrecan) και υψηλή ποσότητα ύδατος. Ανάμεσα στον δίσκο και το σπόνδυλο (κεφαλικά και ουραία) ανευρίσκεται μία λεπτή οριζόντια (συνήθως κάτω του ενός χιλιοστού) πλάκα υαλοειδούς χόνδρου, η τελική πλάκα [6].

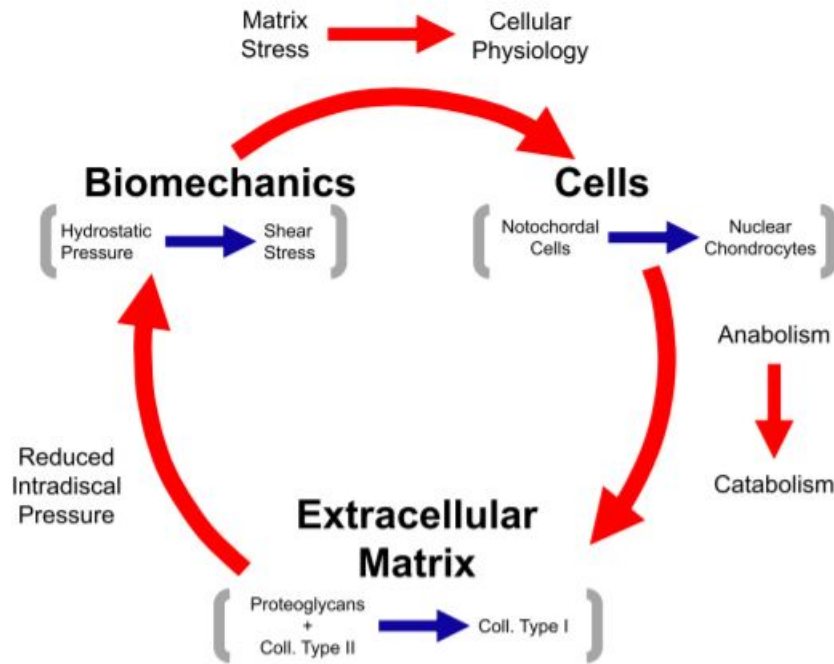
Ο μεσοσπονδύλιος δίσκος (ΜΔ) είναι μία δομή με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, και ειδικά ο πηκτοειδής πυρήνας, ο οποίος σε υγιή κατάσταση έχει περιεκτικότητα νερού σε βάρος πάνω από 80%. Ο ΜΔ περιέχει ένα πυκνό δίκτυο δεσμίδων κολλαγόνου, αποτελούμενο κυρίως από ίνες κολλαγόνου τύπου I και II, που αποτελεί περίπου το 70% και 20% του ξηρού βάρους του δακτυλίου και του πυρήνα, αντίστοιχα. Παρέχει αντοχή ενάντια σε δυνάμεις διάτασης και εγγυάται την πρόσφυση του ιστού στο οστό. Η αγκρεκάνη, η κύρια πρωτεογλυκάνη του δίσκου, είναι υπεύθυνη για την διατήρηση της ενυδάτωσης του ιστού μέσω της κολλοειδοσμητικής πίεσης που παρέχουν οι άλυστοι χονδροϊτίνης και θειϊκής κερατίνης που περιέχει. Το περιεχόμενο σε πρωτεογλυκάνες και νερό του πυρήνα (περίπου 15% και 80% του καθαρού βάρους, αντίστοιχα) είναι μεγαλύτερο από εκείνο του δακτυλίου (περίπου 5% και 70% του καθαρού βάρους, αντίστοιχα) [6,7]. Κύτταρα της νωτιαίας χορδής είναι παρόντα από την έναρξη της εμβρυϊκής διαμόρφωσης του μεσοσπονδυλίου δίσκου και υποβάλλονται σε μία προοδευτική μετάβαση προς κύτταρα του χονδροκυτταρικού τύπου κατά τη διάρκεια της πρώτης δεκαετίας της ζωής [8]. Τα ώριμα χονδροκύτταρα του πυρήνα παράγουν κολλαγόνο τύπου I, αλλά μικρή ποσότητα κολλαγόνου τύπου II και πρωτεογλυκανών που “έλκουν” τα μόρια του ύδατος.

Η εκφύλιση του δίσκου στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης είναι σχεδόν καθολική μετά την ηλικία των 50 ετών [9]. Αυτή η παρατήρηση φαίνεται να συνδέεται με την σχετικά πρόσφατη εξελικτικά μετάβαση των

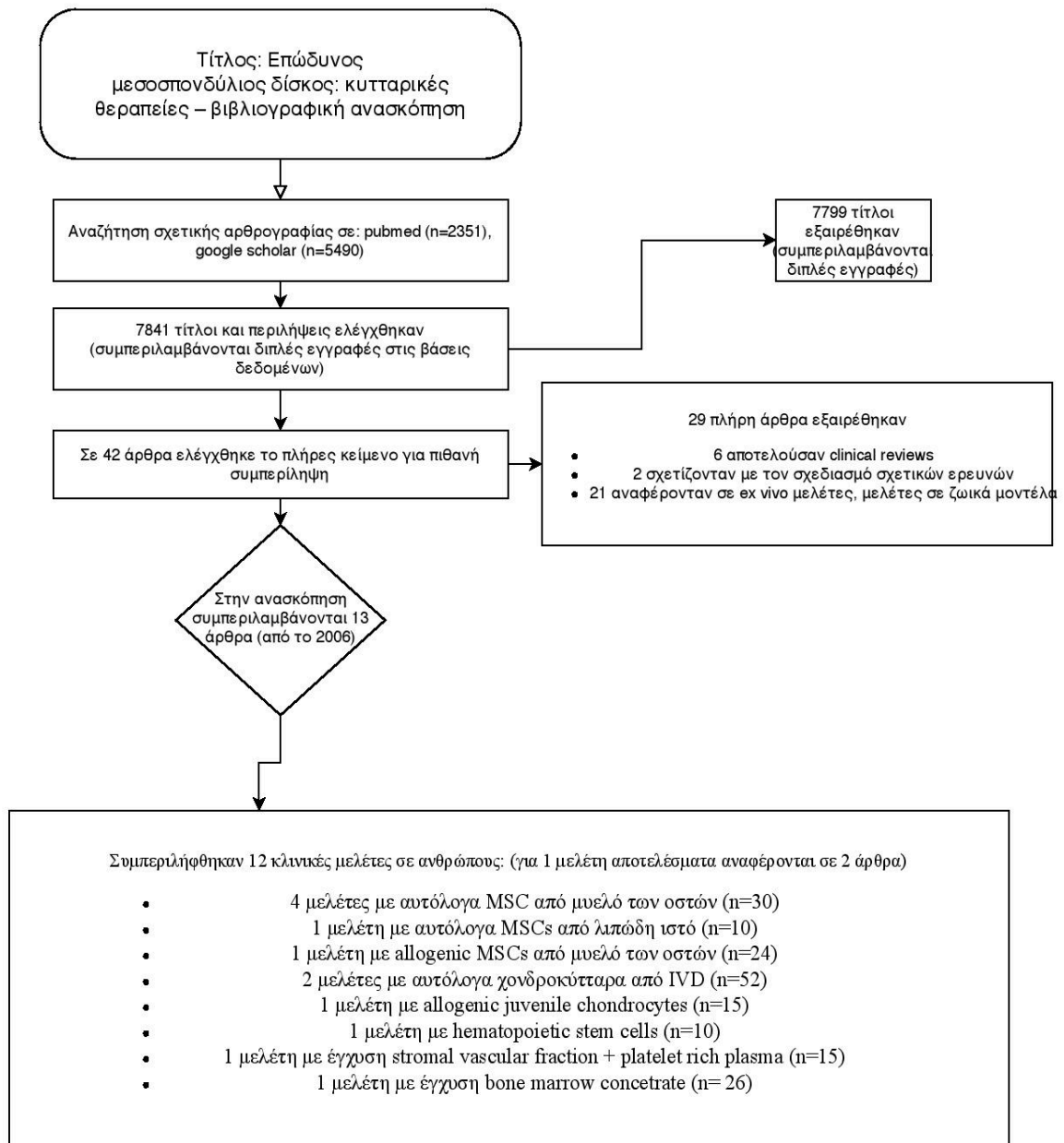
ανθρώπων στην όρθια θέση και βάδιση, με ένα σχήμα σπονδυλικής στήλης τύπου “S” στο οβελιαίο επίπεδο. Από την άλλη, η αιτιολογία της εκφύλισης του μεσοσπονδυλίου δίσκου παραμένει μη πλήρως εξακριβωμένη, και είναι γενικά αποδεκτό από την ιατρική κοινότητα ότι είναι “πολυπαραγοντική”, ενώ ένα ευρέως αποδεκτό μοντέλο για τη νόσο δεν έχει ακόμα παρουσιαστεί [8]. Η ομοιόσταση στους ιστούς του μεσοσπονδυλίου δίσκου επιτυγχάνεται μέσω του σύνθετου και ακριβούς συντονισμού μίας πληθώρας ουσιών, συμπεριλαμβανομένων κυτοκινών, παραγόντων ανάπτυξης, ενζύμων και αναστολέων ενζύμων [10]. Η διαδικασία της εκφύλισης αποτελείται από διάφορες μεταβολές σε κυτταρικό, βιοχημικό, δομικό και εμβιομηχανικό επίπεδο. Ανάμεσά τους είναι η αύξηση της οξύτητας, η μείωση της περιεκτικότητας σε νερό του ΜΔ και της υδροστατικής πίεσης εντός του δίσκου. Αυτά συνδέονται με την αύξηση της καταβολικής δραστηριότητας. Με την εξέλιξη της εκφυλιστικής διαδικασίας, παρατηρείται προοδευτική αύξηση της έκφρασης των φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η IL-1 και η TNFα [11,12,13], μείωση της έκφρασης των πρωτεογλυκανών και των γονιδίων για το κολλαγόνο τύπου II και αύξηση της έκφρασης των γονιδίων για το κολλαγόνο τύπου I, με αποτέλεσμα περιορισμό της ικανότητας δέσμευσης του νερού[8]. Τα επίπεδα της IL-6 στον ορό έχει παρατηρηθεί ότι είναι επίσης σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με οσφυαλγία σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου [14,15]. Η απώλεια της υδροστατικής πίεσης οδηγεί σε μείωση του ύψους του δίσκου, αυξάνει την συγκέντρωση φορτίων εντός του δίσκου και τις διατμητικές τάσεις στον πυρήνα. Επιπρόσθετα, η παραγωγή MMP-3 (matrix metalloproteinase-3) είναι μειωμένη και η παραγωγή TIMP (tissue inhibitor of metalloproteins-1) αυξάνεται, περιορίζοντας την αναδιαμόρφωση (remodelling) της εξωκυττάριας ουσίας. Στο δακτύλιο, η απώλεια της υδροστατικής πίεσης μειώνει την τάση στις ίνες του δακτυλίου και διευκολύνει την πρόπτωσή τους επί τα έσω ή τα έξω. Αυτό μπορεί να αυξήσει τις διατμητικές δυνάμεις μεταξύ των πεταλίων, απώλεια της μεταξύ τους σύνδεσης με επακόλουθη αύξηση του κινδύνου ρήξης. Στις τελικές πλάκες, η απώλεια της πίεσης στον δακτύλιο και η μείωση της απορρόφησης των φορτίων στον πυρήνα μεταβάλλει την κατανομή των εμβιομηχανικών φορτίων στις τελικές πλάκες, γεγονός που μπορεί να αποτελεί το αίτιο σκλήρυνσης, ρωγμών ή των “κόμβων” του Schmorl [16]. Η αύξηση της αγγείωσης και

νεύρωσης στους εκφυλισμένους δίσκους, η οποία έχει ενοχοποιηθεί για χρόνιο πόνο, πιθανώς συνδέεται με την απώλεια των πρωτεογλυκανών, καθώς η αγκρεκάνη φαίνεται ότι μειώνει την επέκταση των νευρικών απολήξεων εντός του δίσκου. Οι αλλαγές στο κυτταρικό επίπεδο προηγούνται των μακροσκοπικά εμφανών δομικών εκφυλιστικών αλλαγών, όπως της απώλειας του ύψους του δίσκου, της πρόπτωσης και της εμφάνισης κήλης του δίσκου, της σκλήρυνσης του υποχόνδριου οστού και της δημιουργίας οστεόφυτων. Επίσης, υπάρχει ισχυρή γενετική προδιάθεση για την εκφύλιση του δίσκου [17,18], καθώς η γενετική πληροφορία καθορίζει την κυτταρική συμπεριφορά και τη δομική συνοχή της εξωκυττάριας ουσίας. Για αυτόν τον λόγο, πολυμορφισμοί σε γονίδια όπως COL1A1 και/ή ADAMTS5 είναι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση εκφύλισης σε νεαρότερη ηλικία [19,20]. Το μοντέλο του “εκφυλιστικού κύκλου” (degenerative cycle) που παρουσίασαν οι Vergroesen et al [8], επιχειρεί να διασυνδέσει τις διαφορετικές διαδικασίες της εκφύλισης του δίσκου εντός ενός “κύκλου” θετικής ανατροφοδότησης που αφορά μεταβολές στα κύτταρα, την εξωκυττάρια ουσία και την εμβιομηχανική [Εικόνα 0-1].

Ο στόχος της εργασίας αυτής είναι η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας που αφορά τις κλινικές μελέτες για τις κυτταρικές θεραπείες της εκφύλισης του μεσοσπονδυλίου δίσκου των τελευταίων ετών. Διενεργήθηκε αναζήτηση για σχετικά άρθρα στις διαδικτυακές βάσεις δεδομένων PubMed και Google Scholar και βρέθηκαν συνολικά 7841 δημοσιεύσεις (συμπεριλαμβανομένων άρθρων που είχαν καταχωρηθεί και στις δύο βάσεις δεδομένων). Μετά από έλεγχο των τίτλων και των περιλήψεων, 42 άρθρα επιλέχθηκαν για αξιολόγηση του πλήρους κειμένου, από τα οποία 13 άρθρα παρουσίαζαν 12 συνολικά κλινικές μελέτες, δημοσιευμένα από το 2006 και εξής. [Πίνακας 0.1] Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών παρουσιάζονται και αναλύονται παρακάτω στην εργασία.



Εικόνα 0-1: Απεικόνιση του “εκφυλιστικού κύκλου”. Biomechanics: Εμβιομηχανική, (reduced) hydrostatic pressure: (μειωμένη) υδροστατική πίεση, shear stress: διατμητική τάση, matrix stress: πίεση/φόρτιση της εξωκυττάριας ουσίας, cellular physiology: κυτταρική φυσιολογία, cells: κύτταρα, notochordal cells: κύτταρα της νωτιαίας χορδής, nuclear chondrocytes: χονδροκύτταρα του πυρήνα, anabolism/catabolism: αναβολισμός / καταβολισμός, extracellular matrix: εξωκυττάρια ουσία, proteoglycans: πρωτεογλυκάνες, coll(agen) type I,II: κολλαγόνο τύπου I,II (**Vergroesen et al⁸⁾**)



Πίνακας 0-1: Flowchart αναζήτησης βιβλιογραφίας για την εργασία

Κεφάλαιο 1 - Η αναζήτηση μίας εφαρμόσιμης κυτταρικής θεραπείας

1-1 Οι σύγχρονες θεραπευτικές επιλογές και το ενδιαφέρον για τις βιολογικές θεραπείες

Οι ενδεδειγμένες θεραπευτικές επιλογές περιορίζονται μέχρι σήμερα, σε γενικές γραμμές, στην συντηρητική θεραπεία, τις εγχύσεις στεροειδών, την συνταγογράφηση οπιοειδών και την χειρουργική αντιμετώπιση. Τις τελευταίες δεκαετίες, η επιλογή της χειρουργικής αντιμετώπισης των επιπτώσεων της εκφύλισης του ΜΔ έχει εμφανή αύξηση [21]. Σε περιπτώσεις δίσκων με πρόπτωση ή κήλη, με σημεία νευρικής συμπίεσης, διενεργείται (μικρο)δισκεκτομή. Εναλλακτικά, επιχειρείται η ολική αντικατάσταση του ΜΔ, είτε με σπονδυλοδεσία είτε με ολική αρθροπλαστική δίσκου, αν και υπάρχει ανοικτή συζήτηση σχετικά με την αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων αυτών. Η συχνότερη χειρουργική αντιμετώπιση της δισκογενούς οσφυαλγίας είναι η σπονδυλοδεσία, με το ποσοστό κλινικής επιτυχίας να εκτιμάται μεταξύ 50% και 70%. Αν και οι υπαρκτές χειρουργικές θεραπείες είναι πιο αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση του άλγους, σε σύγκριση με τις μη χειρουργικές παρεμβάσεις, δεν αντιμετωπίζουν τη βιολογική πρόοδο της εκφυλιστικής διαδικασίας, η οποία αποτυπώνεται μεταξύ άλλων, στα υψηλά επίπεδα σχετιζόμενων με τη φλεγμονή κυτοκινών ή στην απώλεια κυττάρων του πηκτοειδούς πυρήνα [22-26]. Η χειρουργική αντιμετώπιση, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, μπορεί προσωρινά να αντιμετωπίσει αλλαγές από μηχανική φθορά και σπονδυλική αστάθεια, αλλά σε πολλές περιπτώσεις η απώλεια κίνησης λόγω της σπονδυλοδεσίας συμβάλλει στην αύξηση του εμβιομηχανικού στρες λόγω μεταβολής της κινησιολογίας της σπονδυλικής στήλης και την επιτάχυνση της εκφυλιστικής διαδικασίας σε γειτονικά επίπεδα. Οι γενετικές ανωμαλίες ή / και η γενετική προδιάθεση για εκφυλιστική νόσο επίσης δεν αντιμετωπίζονται με τη χειρουργική επέμβαση, με αποτέλεσμα την εξέλιξη της νόσου σε μεσοσπονδύλια επίπεδα εκτός των χειρουργηθέντων. Επιπρόσθετα, η χειρουργική επέμβαση διενεργείται μόνο αφού έχει αποτυπωθεί σημαντική εξέλιξη της εκφυλιστικής διαδικασίας με δομικές αλλαγές στον ΜΔ και, αρκετά συχνά, νευρολογική συμπτωματολογία. Η

μετεγχειρητική νοσηρότητα και το χειρουργικό κόστος είναι επίσης παράγοντες που χρειάζεται να λαμβάνονται υπόψη. Οι συντηρητικές θεραπείες, από την άλλη πλευρά, είναι αποτελεσματικές για μικρό μόνο χρονικό διάστημα και, αν και μπορούν να προσφέρουν απαλλαγή από τον πόνο και βελτίωση της λειτουργικότητας, δεν καθυστερούν ή μεταβάλλουν την εκφυλιστική διαδικασία, και ένα υποσύνολο των ασθενών που δέχονται αυτές τις θεραπείες μεταπίπτει σε κατάσταση χρόνιας και ανεπαρκώς θεραπευόμενης οσφυαλγίας.

Όπως έχει διατυπωθεί από τους Schol και Sakai [27], υπάρχει ένα “θεραπευτικό κενό” (“treatment gap”) [Πίνακας 1-1] στις σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση της οσφυαλγίας, η οποία δεν υφίσταται με την συντηρητική θεραπεία, αλλά από την άλλη πλευρά δεν συνδέεται με τέτοια μείωση της λειτουργικότητας του ασθενούς, ώστε να τίθεται η ένδειξη χειρουργικής αντιμετώπισης. Για αυτό τον λόγο, προσφάτως υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη νέων αναγεννητικών θεραπειών, οι οποίες θα στοχεύουν στην επαναφορά του ΜΔ σε υγιή κατάσταση. Τέτοιες θεραπείες θα μπορούσαν να αξιοποιούν, μεταξύ άλλων, την έγχυση πρωτεϊνών, βιοϋλικών και άλλων χημικών ενώσεων, όπως και τη γονιδιακή θεραπεία, με στόχο την αναπροσαρμογή ή την ενίσχυση των ενδημικών κυτταρικών πληθυσμών. Επιπρόσθετα, ερευνητές διερευνούν τη δυνατότητα κατασκευής βιολογικών προθεμάτων για την αντικατάσταση του ΜΔ.

Διάφορες κλινικές δοκιμές έχουν δημοσιευθεί, οι οποίες μελετούν την μεταμόσχευση διαφορετικών κυτταρικών πληθυσμών, αλλά παραμένουν ανοικτά ερωτήματα σχετικά με την επιλογή του ιδανικού πληθυσμού, αναφορικά με την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα μίας αναγεννητικής θεραπείας στον ΜΔ. Ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων είναι άλλωστε εξ αρχής χαμηλός εντός του φυσιολογικού ΜΔ (περίπου 5×10^6 /εκ³ στον πυρήνα και 9×10^6 /εκ³ στον δακτύλιο), και η λειτουργικότητά τους υποβαθμίζεται περαιτέρω με την πρόοδο της γήρανσης και της εκφύλισης. Επίσης, αυξημένη κυτταρική γήρανση έχει παρατηρηθεί στους εκφυλισμένους δίσκους [28].

1-2 Κυτταρικοί πληθυσμοί υπό έρευνα για ενδοδισκική χορήγηση

Η μεταμόσχευση αυτόλογων χονδροκυττάρων έχει καθιερωθεί ως θεραπευτική επιλογή για την επιδιόρθωση του αρθρικού χόνδρου κατά τις δύο τελευταίες δεκαετίες. Η κλινική εφαρμογή της ενδοδισκικής μεταμόσχευσης αυτόλογων χονδροκυττάρων είναι υπό διερεύνηση και δοκιμές είναι υπό εξέλιξη με στόχο να επιβεβαιώσουν τα ευρήματα των αρχικών μελετών [28]. Κύτταρα που απομονώνονται από τον ιστό του ΜΔ μπορούν να ενεργοποιηθούν μέσω της καλλιέργειας τους από κοινού με αυτόλογα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (mesenchymal stem cells – MSCs), ώστε να ενισχυθεί η μεταβολική τους δραστηριότητα και η δυνατότητα τους για σύνθεση εξωκυττάριας ουσίας. Η βραχυχρόνια κοινή καλλιέργεια με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από τον μυελό των οστών υπό άμεση επαφή “κύτταρο με κύτταρο” οδήγησε σε σημαντική αύξηση τόσο της ανάπτυξης, όσο και της σύνθεσης πρωτεογλυκανών για τα κύτταρα του πυρήνα του ΜΔ, χωρίς καμία ένδειξη ογκογένεσης ή εμφάνισης χρωμοσωμικών ανωμαλιών [29]. Η διαδικασία αυτή φαίνεται να είναι ασφαλής και αποτελεσματική, και κλινικές μελέτες υπό εξέλιξη διερευνούν την έγχυση κυττάρων του πηκτοειδούς πυρήνα, που έχουν ενεργοποιηθεί κατά τον παραπάνω τρόπο, σε ήπια εκφυλισμένους δίσκους γειτονικών με το χειρουργούμενο επιπέδων ασθενών, οι οποίοι υποβάλλονται σε σπονδυλοδεσία. Πρόσφατα, έχει μελετηθεί και η βιωσιμότητα της κρυοσυντήρησης των κυττάρων του πηκτοειδούς πυρήνα [30]. Στα αποτελέσματα δεν αποτυπώθηκε σημαντική μεταβολή τόσο στην κυτταρική δραστηριότητα, όσο και στην σύνθεση εξωκυττάριας ουσίας σε κύτταρά που είχαν υποβληθεί σε κρυοσυντήρηση σε σχέση με πρόσφατα απομονωμένα “φρέσκα” κύτταρα. Το γεγονός αυτό ανοίγει τη δυνατότητα ενεργοποίησης και μεταμόσχευσης κυττάρων που απομονώθηκαν σε προγενέστερη επέμβαση, και με βάση τις επιθυμίες γιατρού και ασθενούς. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν σαφείς περιορισμοί σε αυτή τη διαδικασία, με σημαντικότερους τον περιορισμένο πληθυσμό διαθέσιμων κυττάρων, την ανεπαρκή αναγεννητική δυνατότητα των εκφυλισμένων κυττάρων και τις πιθανές επιπλοκές από την διαδικασία απομόνωσης των κυττάρων προς μεταμόσχευση από διαφορετικά μεσοσπονδύλια επίπεδα [31]. Επιπλέον, η επιλογή μεταμόσχευσης

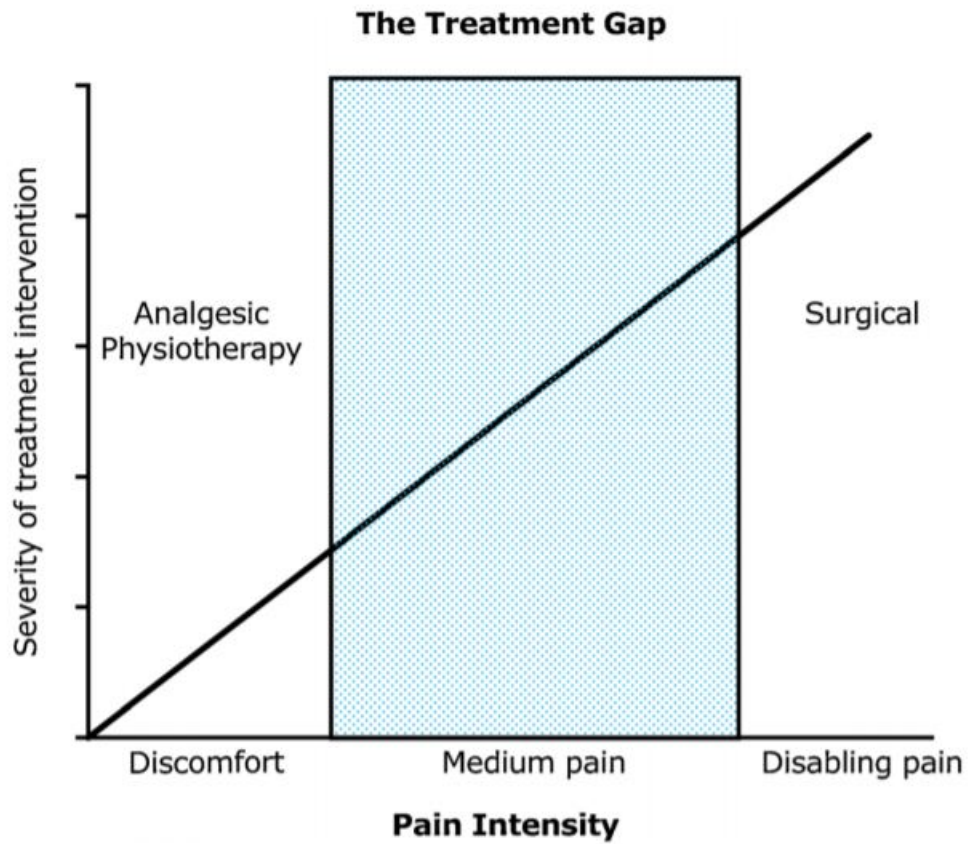
αλλογενών κυττάρων μπορεί να διερευνηθεί. Αλλογενή νεανικά (juvenile) χονδροκύτταρα σε συνδυασμό με πρωτεϊνικό κυτταρικό μεταφορέα (cell carrier) έχουν χορηγηθεί σε ασθενείς με μέση εκφύλιση οσφυϊκών μεσοσπονδυλίων δίσκων με θετικά κλινικά και ακτινολογικά αποτελέσματα [32].

Μία εναλλακτική επιλογή προς τα διαφοροποιημένα δισκοκύτταρα ή τα χονδροκύτταρα μπορεί να αποτελέσει η έγχυση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, η οποία έχει μελετηθεί σε σημαντικό αριθμό ζωικών μοντέλων εκφύλισης ΜΔ και σε μικρό αριθμό κλινικών δοκιμών. Ο ρόλος των MSCs έχει μελετηθεί σημαντικά σε προκλινικές μελέτες και ο εκτιμώμενος μηχανισμός για την αναγεννητική τους δράση συμπεριλαμβάνει τόσο τη συμβολή στην διατήρηση των αυτόχθονων κυτταρικών πληθυσμών, όσο και τη διαφοροποίηση των ίδιων των MSCs και τη λειτουργία τους ως αυτόχθονων κυττάρων με σύνθεση εξωκυττάριας ουσίας. Αναφορικά με την παραπάνω προσέγγιση, η “προετοιμασία” κυττάρων *in vitro* με παράγοντες ανάπτυξης ενόψει της μεταμόσχευσης έχει ήδη προβληθεί ως μία διαδικασία για την αντιμετώπιση των βλαβών του αρθρικού χόνδρου, και θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για την αντιμετώπιση της εκφύλισης του ΜΔ [33]. Ο μυελός των οστών παραμένει η πιο συχνή πηγή για την απομόνωση MSCs, αν και MSCs προερχόμενα από τον λιπώδη ιστό έχουν επίσης δείξει αναγεννητική δυνατότητα στον δίσκο [34]. Σε ζωικά μοντέλα εκφύλισης του ΜΔ (διάτρηση του ινώδους δακτυλίου, αφαίρεση του πυρήνα δια βελόνης ή μέσω ενζυμικής δραστηριότητας), η μεταμόσχευση MSCs έχει οδηγήσει σε αποκατάσταση του ύψους του δίσκου, έκφραση φαινοτύπου που προσομοιάζει στα κύτταρα του ΜΔ, σύνθεση δισκογενούς εξωκυττάριας ουσίας και βελτίωση στην MRI απεικόνιση [35-37]. Σε *in vivo* μελέτες με έγχυση MSCs σε ποντίκια [38], κουνέλια και σκύλους επιβεβαιώθηκε η διαφοροποίηση των MSCs, ενώ και ανθρώπινα κύτταρα που μεταμοσχεύθηκαν σε δίσκους αρουραίων ή γουρουινών έδειξαν να υιοθετούν το φαινότυπο των χονδροκυττάρων ή κυττάρων που προσομοίαζαν σε κύτταρα ΜΔ [39-43]. Επίσης, σε μία μελέτη από τους Beeravolu et al [44], ανθρώπινα MSCs από τον ομφάλιο λώρο και χονδρο-προγονικά κύτταρα (chondroprogenitor cells-CPCs) που προέρχονταν από διαφοροποίηση των πρώτων, παρουσίασαν την ικανότητα αναγέννησης

ΜΔ με βλάβη σε μοντέλο κουνελιού. Τα κύτταρα που μεταμοσχεύθηκαν επιβίωσαν, ενσωματώθηκαν και εξαπλώθηκαν εντός του πηκτοειδούς πυρήνα. Ενδιαφέρον ήταν το γεγονός, ότι σημαντική βελτίωση της ιστολογικής εικόνας, της κυτταρικής πυκνότητας, του “μείγματος” πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας, της περιεκτικότητας σε νερό και γλυκοζαμινογλυκάνες παρατηρήθηκε στους δίσκους που έλαβαν CPCs σε σχέση με όσους έλαβαν MSCs.

Οι εξελίξεις στην επιστημονική κατανόηση του κυτταρικού φαινότυπου και του μικροπεριβάλλοντος μπορούν να ανοίξουν νέους ορίζοντες σχετικά με την αναζήτηση εναλλακτικών πηγών λήψης, με ελάχιστες επιπλοκές, για την απομόνωση κυττάρων προς “επιδιόρθωση” του νοσούντος δίσκου. Κύτταρα με προέλευση ρινική [45-52], ωτιαία [53,54] και από τον χόνδρο των πλευρών [55] έχουν όλα μελετηθεί ως πιθανές πηγές για την απομόνωση χονδροκυττάρων, λόγω της υψηλής πυκνότητας σε κύτταρα και της αναγεννητικής ικανότητας των κυττάρων σχετικά με την ενεργοποίηση και την συνθετική δραστηριότητα σε διαφορετικά βιοχημικά περιβάλλοντα, όπως την άρθρωση, τον δίσκο κ.α. [56,57]. Σε αντίθεση με τα αυτόλογα κύτταρα που απομονώνονται από τον εκφυλισμένο πηκτοειδή πυρήνα [58], τα κύτταρα αυτά διατηρούν καλύτερη αναγεννητική ικανότητα για την διαμόρφωση ιστού που προσομοιάζει σε χόνδρο. Από την άλλη πλευρά, επειδή οι διαφορές μεταξύ των διαφορετικών πηγών δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς και δεν είναι οριστικά εξακριβωμένες, είναι άγνωστο, και ίσως λίγο πιθανό, το αν είναι εφικτό να επιτευχθεί και να διατηρηθεί ο φαινότυπος των κυττάρων του πηκτοειδούς πυρήνα από κυτταρικούς πληθυσμούς από αυτές τις πηγές.

Αυτόλογα και αλλογενή κύτταρα έχουν χρησιμοποιηθεί σε κλινικές δοκιμές, όμως ξενογενή (προερχόμενα από διαφορετικό είδος από τον ξενιστή) κύτταρα έχουν χρησιμοποιηθεί μόνο σε μελέτες σε ζώα. Στην πλειοψηφία αυτών των περιπτώσεων, διαφορετικοί πληθυσμοί ανθρώπινων κυττάρων έχουν χρησιμοποιηθεί για την “επιδιόρθωση” τραυματισμένων ή εκφυλισμένων ζωικών μεσοσπονδυλίων δίσκων [59].



Πίνακας 1-1: Σχηματική απεικόνιση του “θεραπευτικού κενού” - treatment gap. Severity of treatment intervention: Βαρύτητα της θεραπευτικής παρέμβασης, Pain Intensity: Ένταση άλγους, Discomfort: Ενόχληση, Medium pain: άλγος μέσης βαρύτητας, Disabling pain: άλγος που επηρεάζει τη λειτουργικότητα, Analgesic: αναλγητικά, physiotherapy: φυσικοθεραπεία, Surgical: χειρουργική (αντιμετώπιση) **(Schol et al²⁷)**

Κεφάλαιο 2 - Οι προκλήσεις για μία αποτελεσματική κυτταρική θεραπεία

2-1 Το μικροπεριβάλλον του δίσκου

Υπάρχουν αρκετές προκλήσεις, οι οποίες απαιτείται να ξεπεραστούν, προκειμένου οι κυτταρικές θεραπείες για την αντιμετώπιση της εκφύλισης του δίσκου να μπορούν να αξιοποιηθούν ως εφαρμόσιμες θεραπευτικές επιλογές. Το μικροπεριβάλλον εντός του ΜΔ έχει χαρακτηριστικά, που δεν ανευρίσκονται εύκολα σε άλλους ιστούς. Είναι σχετικά ανάγγειος ιστός, με χαμηλά επίπεδα οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών διαθέσιμα για τους κυτταρικούς πληθυσμούς. Παράλληλα, το χαμηλό pH και η υψηλή υδροστατική πίεση συμβάλλουν στην δημιουργία ενός “εχθρικού” περιβάλλοντος [28]. Η πίεση του οξυγόνου εντός του δίσκου είναι σημαντικά μειωμένη προς το κέντρο του πηκτοειδούς πυρήνα και ο μεταβολισμός των κυττάρων του δίσκου εκεί είναι μερικά αναερόβιος, με αποτέλεσμα την επικράτηση συνθηκών υψηλής συγκέντρωση γαλακτικού οξέος και χαμηλού pH. Όλα τα παραπάνω αποτελούν εμπόδια, τα οποία είναι απαραίτητο να υπερκεραστούν, προκειμένου να επιλεγεί ο κατάλληλος κυτταρικός πληθυσμός για μία κυτταρική θεραπεία [60], ειδικά αν ληφθεί υπόψη ότι με την πρόοδο της εκφύλισης του δίσκου, η ασβεστοποίηση της τελικής πλάκας, ο περαιτέρω περιορισμός των διαθέσιμων θρεπτικών συστατικών και η συγκέντρωση παραπροϊόντων του μεταβολισμού οδηγούν σε ένα ακόμα πιο ισχαιμικό και όξινο περιβάλλον [61]. Παράμετροι που δυσχεραίνουν περισσότερο το δισκικό μικροπεριβάλλον είναι επίσης η αυξημένη έκφραση φλεγμονωδών κυτοκινών και οι μεγάλες διακυμάνσεις στο μηχανικό στρες [62]. Τα κύτταρα που θα επιλεχθούν χρειάζεται: (α) να μπορούν να προσαρμοστούν στο μικροπεριβάλλον του δίσκου, (β) να μην “ανταγωνίζονται” τα κύτταρα του ιστού για τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά και το οξυγόνο (στοιχείο που μπορεί να είναι κρίσιμο για τον καθορισμό της σωστής δοσολογίας μιας κυτταρικής θεραπείας), (γ) να μην προκαλούν ανοσολογική αντίδραση στον ασθενή-ξενιστή (στην περίπτωση των μη αυτόλογων κυττάρων). Σχετικά με το τελευταίο ζήτημα, αισιοδοξία προκαλεί το γεγονός, ότι το ενδοδισκικό μικροπεριβάλλον μπορεί να περιγραφεί ως ένας σχετικά “προνομιούχος” από ανοσολογικής άποψης ιστός

("immunologically privileged"), όπου η παρουσία κυττάρων του ανοσοποιητικού και η ανοσολογική αντίδραση είναι περιορισμένες, και εκεί τα κύτταρα υπό μεταμόσχευση πιθανώς είναι προστατευμένα από μία αντίδραση ξενιστή [32]. Επίσης, και τα MSCs μπορούν να περιγραφούν ως "ανοσολογικά προνομιούχα" κύτταρα, καθώς καταστέλλουν την ανοσολογική αντίδραση με τρόπο που δεν περιορίζεται από το σύστημα HLA (Human Leukocyte Antigen). Επομένως, τα μη συμβατά, με βάση το σύστημα HLA, MSCs είναι πολύ καλύτερα ανεκτά από τον ξενιστή σε σχέση με άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς. Μάλιστα, δεν έχει παρατηρηθεί καμία περίπτωση απόρριψης μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων από τον ξενιστή σε πειράματα με ζωικά μοντέλα, ενώ τα ποσοστά επιβίωσης των μεταμοσχευμένων MSCs εντός του ιστού του ξενιστή φαίνεται να είναι όμοια για αυτόλογα και αλλογενή κύτταρα [63]. Σε πολλές κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους έχει επίσης παρατηρηθεί άριστη ανοχή στην μεταμόσχευση αλλογενών μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων.

2-2 Πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες - η επιλογή κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος και η κλινική εφαρμογή της θεραπείας

Άλλες προκλήσεις για τις κυτταρικές θεραπείες σχετίζονται με την χορήγηση των μεταμοσχευόμενων κυττάρων εντός του δίσκου. Η δομική ακεραιότητα του ινώδους δακτυλίου είναι ζωτικής σημασίας για την σταθερότητα του δίσκου και ένας πιθανός τραυματισμός του μπορεί να προκαλέσει πρόπτωση του δίσκου και επιτάχυνση του εκφυλιστικού “καταρράκτη”. Είναι όμως ενδιαφέρον το εύρημα μίας πρόσφατης μελέτης σε ζωικά μοντέλα, ότι η διάτρηση του δίσκου με βελόνα μεγέθους 22G δεν οδήγησε σε εκφυλιστικές αλλοιώσεις ορατές ακτινολογικά ή ιστολογικά [64]. Η επιλογή του κατάλληλου κυτταρικού φορέα είναι επίσης σημαντική: (α) για την αποφυγή διαρροής κυττάρων εκτός του δίσκου (ειδικά αν λάβει κανείς υπόψη την υψηλή ενδοδισκική υδροστατική πίεση) και (β) για την υποστήριξη της επιβίωσης, ανάπτυξης και πολλαπλασιασμού των χορηγούμενων κυττάρων. Μία μελέτη από τους Vadala et al σχετικά με την έγχυση δια βελόνης μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων εντός ζωικών δίσκων, ανέδειξε: (α) μία μη επιδιωκόμενη (ισοδύναμη της διαρροής κυττάρων) εκτός του δίσκου και (β) τη δημιουργία οστεοφύτων στα σπονδυλικά επίπεδα υπό θεραπεία, ως εκτιμώμενο ανεπιθύμητο αποτέλεσμα της κυτταρικής μετανάστευσης [65]. Πρώιμα ερευνητικά δεδομένα από τους Tong et al [66] δείχνουν ότι νεανικά αλλογενή χονδροκύτταρα που εγχύθηκαν δια βελόνης στο κέντρο του μεσοσπονδυλίου δίσκου κουνελιών μπορούν επίσης να διαφύγουν στο σημείο της έγχυσης. Ποικίλα υλικά έχουν διερευνηθεί για την πιθανότητα αξιοποίησής τους ως πιθανοί κυτταρικοί φορείς. Από αυτούς, η γέλη ινικής (fibrin gel) έχει καταγραφεί ότι μειώνει τη διαρροή κυττάρων [67]. Η συγχορήγηση μικροσφαιριών κολλαγόνου έχει παρατηρηθεί ότι μειώνει τον κίνδυνο γένεσης οστεοφύτων [68]. Διαφορετικά μείγματα υδρογέλης βασισμένης στο υαλουρονικό οξύ έχουν αναπτυχθεί, τα οποία επιτρέπουν την διατήρηση του χονδροκυτταρικού φαινοτύπου, την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό και στερεοποιούνται σε θερμοκρασία σώματος, γεγονός που τα καθιστά ιδανικούς υποψήφιους φορείς σε θεραπείες έγχυσης κυττάρων [69-72]. Έχει επίσης φανεί, ότι τα μείγματα αυτού του τύπου

ενισχύουν τη σταθερότητα της έκφρασης του φαινοτύπου των κυττάρων του πηκτοειδούς πυρήνα [73]. Μια υδρογέλη “τριπλά αλληλοδιεισδυτικού δικτύου” (triple-interpenetrating-network hydrogel), η οποία βελτιώνει τις εμβιομηχανικές ιδιότητες του μεσοσπονδυλίου δίσκου υπό θεραπεία και υποστηρίζει την μεταφορά των κυττάρων εντός του ιστού έχει επίσης παρουσιαστεί [74]. Άλλα υλικά, φυσικά ή συνθετικά, όπως η λαμινίνη, η ζελατίνη από οστό χοίρου ή η εξωκυττάρια ουσία από αρθρικό χόνδρο, το κολλαγόνο, σύνθετο υλικό από κολλαγόνο με αλγινικό, η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη έχουν δοκιμαστεί, με στόχο την παροχή δομικής υποστήριξης στον δίσκο υπό θεραπεία, τοποθετούμενα στον χώρο του μεσοσπονδυλίου δίσκου σε συνδυασμό τους με in vitro κύτταρα [66].

Παράλληλα, πληθώρα ερωτημάτων σχετικά με την αναγκαία αποθήκευση και διανομή των θεραπευτικών σχημάτων, καθώς και τις παραμέτρους σχετικά με την καλλιέργεια των κυττάρων προς μεταμόσχευση παραμένει. Για να “μεταφερθεί” μία αποτελεσματική κυτταρική θεραπεία από το πειραματικό στάδιο στην κλινική πρακτική, όλες οι παραπάνω διαδικασίες χρειάζεται να οριστούν με σαφήνεια, λαμβάνοντας υπόψη όχι μόνο την ασφάλεια του ασθενούς, αλλά και το συνολικό κόστος της θεραπείας [75,76].

Κεφάλαιο 3 – Πρόσφατες κλινικές μελέτες για τις κυτταρικές θεραπείες

Σε μία παρουσίαση περιστατικού από τους Yoshikawa et al το 2010[77], δύο περιστατικά ασθενών παρουσιάστηκαν. Και οι δύο ασθενείς, γυναίκες ηλικίας 67 και 70 ετών αντίστοιχα, είχαν οσφυαλγία, άλγος και αιμωδία κάτω άκρου. Τα κριτήρια συμπερίληψης των ασθενών ήταν: (1) εκφυλιστική νόσος μεσοσπονδύλιου δίσκου επιβεβαιωμένη με μαγνητική τομογραφία. (2) εικόνα μεσοσπονδύλιου “φαινομένου κενού” (vacuum phenomenon) στις ακτινογραφίες οσφυϊκής μοίρας σπονδυλικής στήλης (ΟΜΣΣ). (3) εικόνα σπονδυλικής αστάθειας στην ακτινογραφία. (4) συμπτωματολογία πίεσης και απρόκλητου άλγους στο επίπεδο της ΟΜΣΣ που σχετιζόταν με τις παραπάνω παθολογικές απεικονίσεις, και άρση του άλγους με την χρήση ζώνης ΟΜΣΣ, γεγονός που έθεσε την διάγνωση του συμπτωματικού ΜΔ. (5) παρουσία σπονδυλικής στένωσης, νευρολογικής σημειολογίας και αντοχή της κλινικής εικόνας στην συντηρητική θεραπεία, στοιχεία που έθεταν την ένδειξη χειρουργικής θεραπείας. Μία ασθενής είχε υποβληθεί σε σπονδυλοδεσία Ο4-Ο5 προ 15 ετών λόγω αιμωδίας αριστερού άκρου ποδός με συνοδό οσφυαλγία. Περίπου έξι έτη μεταχειρητικά, εμφανίστηκαν τα συμπτώματα οσφυαλγίας και αιμωδίας δεξιού άκρου ποδός, καθώς και μία απεικονιστική εικόνα μεσοσπονδύλιου “φαινομένου κενού”, αστάθειας και σπονδυλικής στένωσης στα επίπεδα Ο2-Ο3 και Ο3-Ο4. Η άλλη ασθενής είχε άλγος οσφύος και άκρου ποδός για έτη, που δεν αντιμετωπιζόταν επαρκώς με συντηρητική θεραπεία και εικόνα σπονδυλικής στένωσης Ο4-Ο5. Υγρό από τον μυελό των οστών λήφθηκε από το λαγόνιο και τα MSCs καλλιεργήθηκαν σε μείγμα που περιείχε αυτόλογο ορό των ασθενών, για 4 εβδομάδες για την πρώτη και 2 εβδομάδες για τη δεύτερη ασθενή. Οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση αποσυμπίεσης στο επίπεδο της σπονδυλικής στένωσης και στη συνέχεια, τεμάχια σπόγγου κολλαγόνου που περιείχε τα βλαστοκύτταρα προς μεταμόσχευση τοποθετήθηκαν διαθερμικά στους εκφυλισμένους μεσοσπονδύλιους δίσκους. Στη μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών, η απεικόνιση μετά διετίας από ακτινογραφίες και αξονική τομογραφία ανέδειξαν βελτίωση του “φαινομένου κενού” στις δύο ασθενείς. Στην μαγνητική τομογραφία, οι T2 λήψεις ανέδειξαν ισχυρό σήμα των δίσκων

που είχαν λάβει μοσχεύματα, το οποίο συνδέεται με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό. Η ακτινογραφία έδειξε βελτίωση της αστάθειας των οσφυϊκών σπονδύλων. Η οσφυαλγία, όπως και η νευρολογική σημειολογία βελτιώθηκαν, ενώ δεν αναφέρθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες από την θεραπεία.

Σε μία μελέτη που δημοσιεύθηκε από τους Ogozc et al το 2011[78], συμπεριλήφθηκαν 10 ασθενείς με χρόνια οσφυαλγία ανθεκτική στην συντηρητική αντιμετώπιση (αποτυχία φαρμακευτικής αγωγής και φυσικοθεραπείας για 6 τουλάχιστον μήνες), διεγνωσμένοι με εκφυλιστική νόσο μεσοσπονδυλίου δίσκου στην ΟΜΣΣ, με ακέραιο ινώδη δακτύλιο των προσβεβλημένων δίσκων. Τέσσερις από τους ασθενείς ήταν άνδρες, έξι ήταν γυναίκες και η μέση ηλικία τα 35 ± 7 έτη. Η βλάβη εντοπιζόταν στα επίπεδα Ο4-Ο5 (2 ασθενείς), Ο5-Ι1 (6 ασθενείς) ή και στα δύο αυτά επίπεδα (2 ασθενείς). Τους χορηγήθηκαν αυτόλογα MSCs προερχόμενα από τον μυελό των οστών με έγχυση δια βελόνης στον χώρο του πηκτοειδούς πυρήνα. Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας παρακολουθήθηκε για ένα έτος και περιλάμβανε την εκτίμηση της έντασης της οσφυαλγίας, της λειτουργικότητας και της ποιότητας ζωής. Η οσφυαλγία εκτιμήθηκε με την Οπτική Αναλογική Κλίμακα (Visual Analogue Scale – VAS), η λειτουργικότητα με το ερωτηματολόγιο Oswestry Disability Index (ODI) και η ποιότητα ζωής με το ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής short form-36 (SF-36), πριν τη θεραπεία, και στους 3, 6 και 12 μήνες μετά τις εγχύσεις. Υπήρξε παράλληλα και εκτίμηση της ισχιαλγίας για τους έξι ασθενείς που είχαν σχετική συμπτωματολογία πριν την έναρξη της θεραπείας. Έγινε εκτίμηση του ύψους και της περιεκτικότητας σε ύδωρ των δίσκων υπό θεραπεία με εικόνες μαγνητικής τομογραφίας σήματος T2 στο οβελιαίο επίπεδο. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά, καθώς η μέση τιμή για κάθε μία από τις κατηγορίες του πόνου (συμπεριλαμβανομένης της ισχιαλγίας), της λειτουργικότητας και της ποιότητας ζωής βελτιώθηκε. Η βελτίωση του πόνου και της λειτουργικότητας ήταν στατιστικά σημαντική το πρώτο τρίμηνο μετά την θεραπεία, με την βελτίωση του πόνου να φτάνει το 71% της ιδανικής μετά ένα έτος από την θεραπεία [Πίνακας 3-1]. Η αναλγητική επίδραση της θεραπείας ήταν σχετικά ταχεία, αφού το μεγαλύτερο μέρος της βελτίωσης του πόνου (85%) επιτεύχθηκε στο πρώτο τρίμηνο. Τα αποτελέσματα του ερωτηματολογίου SF-36 ανέδειξαν μέχρι το τέλος της

παρακολούθησης των ασθενών σημαντική βελτίωση στη σωματική συνιστώσα, χωρίς μεταβολή στα αποτελέσματα σχετικά με την πνευματική συνιστώσα της ποιότητας ζωής. Η θεραπεία φάνηκε να έχει ανώτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με προηγούμενες μελέτες που ερευνούσαν τα αποτελέσματα φυσικοθεραπείας και σπονδυλοδεσίας με ή χωρίς αντικατάσταση του μεσοσπονδυλίου δίσκου. Επίσης, ενώ δεν υπήρξε βελτίωση του ύψους του δίσκου, το περιεχόμενο σε νερό των δίσκων υπό θεραπεία ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένο ένα έτος μετά την θεραπευτική παρέμβαση. Καμία σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια ή ζήτημα σχετιζόμενο με την ασφάλεια των ασθενών δεν καταγράφηκε.

Σε μία μελέτη από τους Centeno et al [79], δημοσιευμένη το 2017, συμπεριλήφθηκαν 33 ασθενείς με οσφυαλγία και εκφυλιστική νόσο μεσοσπονδυλίου δίσκου που παρουσιαζόταν με οπίσθια πρόπτωση, η οποία απεικονιζόταν σε μαγνητική τομογραφία. Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε διαδερμικές, ενδοδισκικές εγχύσεις αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, μαζί με αυτόλογο platelet lysate σε ένα μεσοσπονδύλιο επίπεδο. Τα MSCs είχαν απομονωθεί από τον μυελό των οστών (από την οπίσθια λαγόνια ακρολοφία). Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, μετά από μία περίοδο παρακολούθησης έξι ετών μετά τη θεραπεία. Η βελτίωση του γενικού μέσου όρου στην τροποποιημένη κλίμακα SANE (modified single assessment numeric evaluation) ήταν 48,2%, μετά από 40,6 μήνες κατά μέσο όρο, με το 50,4% των ασθενών να καταγράφει βελτίωση μεγαλύτερη ή ίση του 50%. Στα τρία έτη μετά τη θεραπεία, συνολικά το 90% των ασθενών (30 από τους 33) κατέγραψε βελτίωση. Στην αριθμητική κλίμακα πόνου (numeric pain score- NPS) παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική βελτίωση στους 3 μήνες, τα 4 έτη και τα 5 έτη για την υποκατηγορία των 25 ασθενών που κατέγραψαν αποτελέσματα προ της θεραπείας. Τα αποτελέσματα σχετικά με τη λειτουργικότητα στο ερωτηματολόγιο Functional Rating Index (FRI) είχαν στατιστικά σημαντική βελτίωση στους 3 μήνες και τα 5 έτη μετά τη θεραπεία. Πέρα από τα αποτελέσματα που βασίζονται στην υποκειμενική εικόνα των ασθενών, καταγράφηκαν και οι μεταβολές στην οπίσθια προβολή των μεσοσπονδυλίων δίσκων πέραν του ορίου των σπονδυλικών σωμάτων. Μείωση της οπίσθιας πρόπτωσης του δίσκου καταγράφηκε στο 85% των

ασθενών μετά από 6 μήνες κατά μέσο όρο. Σε μία προσπάθεια συσχέτισης των απεικονιστικών αποτελεσμάτων και της κλινικής εικόνας, καταγράφηκε ότι ασθενείς με μείωση της πρόπτωσης κατά τουλάχιστον 25% είχαν στατιστικά σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα σχετικά με τον αναφερόμενο πόνο μετά από έξι μήνες σε σχέση με όσους είχαν απεικονιστική βελτίωση μικρότερη από 25%. Καταγράφηκαν τρεις περιπτώσεις ανεπιθύμητων ενεργειών, σχετιζόμενες με πόνο, οι οποίες επιλύθηκαν, ενώ σε έναν ασθενή εμφανίστηκε μία ευμεγέθης κήλη δίσκου μήνες μετά την έγχυση. Αυτό εκτιμάται ότι ήταν αποτέλεσμα είτε τραυματισμού του δίσκου από την εισαγωγή της βελόνης είτε της προόδου της εκφυλιστικής διαδικασίας του δίσκου.

Σε μία μελέτη από τους Elabd et al [80] που παρουσιάστηκε το 2016, συμμετείχαν πέντε ασθενείς με επώδυνη εκφυλιστική νόσο μεσοσπονδυλίου δίσκου στην οσφυϊκή μοίρα με συνοδό σπασμό ή έλλειμμα λειτουργικότητας και αποτυχία της συντηρητικής θεραπείας για ένα διάστημα μεταξύ τριών μηνών και πέντε ετών. Έλαβαν αυτόλογα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα προερχόμενα από τον μυελό των οστών και καλλιεργημένα σε συνθήκες υποξίας. Τέσσερα με έξι έτη μετά την μεταμόσχευση των κυττάρων, επανεκτιμήθηκαν για να αξιολογηθεί η μακροπρόθεσμη ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Η επανεκτίμηση αυτή περιελάμβανε κλινική εξέταση, συμπλήρωση ενός ερωτηματολογίου σχετικού με την ποιότητα ζωής και μαγνητική τομογραφία σπονδυλικής στήλης. Τέσσερις ασθενείς έλαβαν έγχυση στο μεσοσπονδύλιο επίπεδο O5-I1 και ένας στο επίπεδο O4-O5, και ο αριθμός των χορηγούμενων MSCs ήταν από 15,1 έως 56,1 εκατομμύρια. Το σύνολο των ασθενών εμφάνισε βελτίωση της μυϊκής ισχύος, τέσσερις ασθενείς βελτίωση της κινητικότητας, ενώ υπήρχε μία συνολική βελτίωση στα αποτελέσματα του ερωτηματολογίου της ποιότητας ζωής της τάξεως του 10-90%. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός, ότι τέσσερις στους πέντε ασθενείς εμφάνισαν βελτίωση (μείωση) στο μέγεθος της πρόπτωσης του δίσκου. Παράλληλα, όλοι οι ασθενείς είχαν σταθερό ή μόνο ελαφρά μειωμένο ύψος δίσκου μετά την μακροπρόθεσμη επανεκτίμηση. Καμία ανεπιθύμητη ενέργεια δεν καταγράφηκε.

Σε μία τυχαίοποιημένη τυφλή μελέτη από τους Noriega et al [63] το 2017, συμμετείχαν 24 ασθενείς διεγνωσμένοι με εκφυλιστική νόσο μεσοσπονδυλίου δίσκου σταδίου II έως IV κατά Pfirrmann, σε ένα ή δύο μεσοσπονδύλια επίπεδα, με την εντόπιση της βλάβης να είναι στο επίπεδο O1-O2 (ένας ασθενής), O2-O3 (1), O3-O4 (3), O4-O5 (18) ή O5-I1 (15). Όλοι οι ασθενείς είχαν υποβληθεί σε συντηρητική θεραπεία (φαρμακευτική και φυσιοθεραπευτική) για έξι τουλάχιστον μήνες. Οι ασθενείς κατανεμήθηκαν σε δύο ομάδες σε αναλογία 1:1 (δώδεκα ασθενείς σε κάθε ομάδα). Η μία ομάδα έλαβε MSCs (25x10⁶ κύτταρα σε 2 ml αλατούχου διαλύματος ανά δίσκο) υπό τοπική αναισθησία και η άλλη (ομάδα ελέγχου – control) υπεβλήθη σε διήθηση των παρασπονδύλιων μυών πλησίον του επιπέδου (ή των επιπέδων) της βλάβης με 2 ml διαλύματος 1% μερινακαΐνη. Τα βλαστοκύτταρα που χορηγήθηκαν ήταν αλλογενή και απομονώθηκαν από πέντε υγιείς δότες. Έγινε κλινική εκτίμηση και αναλύσεις ρουτίνας, εκτίμηση άλγους (στην οπτική αναλογική κλίμακα/ visual analogue scale – VAS) εκτίμηση λειτουργικότητας με το ερωτηματολόγιο Oswestry Disability Index (ODI) και εκτίμηση ποιότητας ζωής με το ερωτηματολόγιο short form-12 (SF-12), στις 8 ημέρες και 3, 6 και 12 μήνες μετά την μεταμόσχευση. Έλεγχος με μαγνητική τομογραφία διενεργήθηκε πριν τη θεραπεία και στους 6 και 12 μήνες μετά τις εγχύσεις. Καμία σημαντική επιπλοκή ή ανεπιθύμητη ενέργεια δεν αναφέρθηκε. Έντεκα ασθενείς (8 από την ομάδα ελέγχου και 3 από την ομάδα θεραπείας) χρειάστηκαν σύντομη αγωγή με μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη για ελάσσονα επεισόδια άλγους και δύο ασθενείς (1 από την ομάδα ελέγχου και 1 από την ομάδα θεραπείας) χρειάστηκε να λάβουν αγωγή με οπιοειδή. Τόσο το οσφυϊκό άλγος, όσο και η λειτουργικότητα παρουσίασαν σημαντική βελτίωση στους τρεις μήνες μετά τη θεραπεία, και η βελτίωση αυτή διατηρήθηκε στους 6 και 12 μήνες. Σε σύγκριση με τα αρχικά (προ της θεραπείας) επίπεδα άλγους και λειτουργικότητας, η βελτίωση ήταν στατιστικά σημαντική σε όλα τα χρονικά σημεία εκτίμησης των ασθενών εκτός των 8 ημερών, γεγονός που πιθανώς οφείλεται στο φαινόμενο placebo ή στη διήθηση με τοπικό αναισθητικό, αν και δεν καταγράφεται μία τόσο ταχεία βελτίωση στην ομάδα θεραπείας. Μία ταχεία βελτίωση του άλγους καταγράφηκε στην ομάδα ελέγχου την όγδοη ημέρα μετά τη θεραπεία, αλλά δεν υπήρξε καμία τάση περαιτέρω βελτίωσης. Η κατανομή των αποτελεσμάτων των ασθενών της ομάδας θεραπείας είναι

ενδεικτικά μίας κατανομής σε δύο υποομάδες στο πρότυπο Huskisson (Huskisson plot), καθώς πέντε ασθενείς (οι ανταποκρινόμενοι στη θεραπεία-responders) βρίσκονται κοντά στην μπλε γραμμή που αναπαριστά την ιδανική θεραπεία, ενώ επτά ασθενείς (οι μη ανταποκρινόμενοι στη θεραπεία – non responders) είχαν αντίστοιχα αποτελέσματα με την ομάδα ελέγχου, χωρίς ένδειξη αποτελεσματικότητας της θεραπείας [Πίνακας 3-2]. Τα αποτελέσματα του ερωτηματολογίου SF-12 δεν έδειξαν σημαντική βελτίωση τόσο στην σωματική, όσο και στην πνευματική συνιστώσα. Το ύψος των δίσκων υπό θεραπεία, όπως απεικονίστηκε στην MRI, είχε μεγαλύτερη μέση μείωση στην ομάδα ελέγχου σε σχέση με την ομάδα θεραπείας, αλλά η διαφορά των τιμών αυτών δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Αν και η περιεκτικότητα των δίσκων σε νερό αυξήθηκε μετά την θεραπεία με βλαστοκύτταρα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Αποτελεί όμως ένα ενδιαφέρον εύρημα το γεγονός, ότι η εξέλιξη της σταδιοποίησης των δίσκων κατά Pfirrmann με βάση την απεικονιστική εικόνα ήταν εμφανώς διαφορετική μεταξύ των ομάδων θεραπείας και ελέγχου. Στην ομάδα ελέγχου, υπήρξε μία επιβάρυνση της εικόνας με μεταβολή από στάδιο 3,15 ± 0,15 σε στάδιο 3,78 ± 0,16 (n=20, p<0,001), ενώ στην ομάδα θεραπείας υπήρξε μία βελτίωση κατά μέσο όρο από στάδιο 3,68 ± 0,13 σε 3,18 ± 0,17 (p<0,01). Η αποτελεσματικότητα της αλλογενούς θεραπείας όπως καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη (0,28) είναι μικρότερη από εκείνη που καταγράφηκε σε θεραπεία με αυτόλογα κύτταρα (0,71) [78], αν και είναι αμφίβολη η άμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων καθώς δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου στην μελέτη των Orozco et al. Θα ήταν όμως πολύ ενδιαφέρουσα η άμεση σύγκριση της αποτελεσματικότητας αυτόλογης και αλλογενούς κυτταρικής θεραπείας στο πλαίσιο της ίδιας κλινικής μελέτης, στο μέλλον.

Σε μία κλινική μελέτη φάσης I από τους Kumar et al [81], δημοσιευμένη το 2017, συμμετείχαν δέκα ασθενείς με χρόνια οσφυαλγία λόγω εκφυλιστικής νόσου μεσοσπονδυλίου δίσκου μέσης βαρύτητας (σταδίου III-IV κατά Pfirrmann, σε ένα ή δύο μεσοσπονδύλια επίπεδα σε απεικόνιση με MRI σήματος T2) και συμπτωματικούς εκφυλισμένους δίσκους επιβεβαιωμένους από δισκογραφία. Υποβλήθηκαν σε ενδοδισκική έγχυση δια βελόνης μείγματος παραγώγου υαλουρονικού οξέος (εμπορικό σκεύασμα Tissuefill)

και αυτόλογων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, προερχόμενων από λιπώδη ιστό, σε δόσεις 2×10^7 κύτταρα/δίσκο ($n = 5$) ή 4×10^7 κύτταρα/δίσκο ($n = 5$). Τα βλαστοκύτταρα καλλιεργήθηκαν για τρεις εβδομάδες μετά την απομόνωσή τους από τον υποδόριο λιπώδη ιστό της κοιλιακής χώρας, ο οποίος λήφθηκε με λιποαναρρόφηση. Τα αποτελέσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της θεραπείας εκτιμήθηκαν με την οπτική αναλογική κλίμακα πόνου VAS, τα ερωτηματολόγια ODI και SF-36 και απεικονιστικές εξετάσεις (ακτινογραφίες και μαγνητικές τομογραφίες ΟΜΣΣ) ανά τακτικά χρονικά διαστήματα για ένα έτος (1 εβδομάδα και 1,3,6,9,12 μήνες μετά την μεταμόσχευση). Με βάση τα αποτελέσματα από τη δισκογραφία, το μείγμα βλαστοκυττάρων – υαλουρονικού οξέος χορηγήθηκε στον μεσοσπονδύλιο δίσκο O4/O5 σε εννιά ασθενείς, ενώ ένας ασθενείς έλαβε αγωγή τόσο στον O4/O5, όσο και στον O5/I1 δίσκο. Επτά από τους δέκα ασθενείς έδειξαν σημαντική βελτίωση $\geq 50\%$ στα αποτελέσματα των VAS και ODI μετά από έξι μήνες, ενώ η τελική επιτυχία της θεραπείας (η οποία ορίστηκε ως η βελτίωση στα αποτελέσματα των VAS και ODI $\geq 50\%$ σε σύγκριση με τα αποτελέσματά τους προ θεραπείας) παρατηρήθηκε σε έξι ασθενείς, κατά την εκτίμηση μετά ένα έτος. Δεν παρατηρήθηκε κανένα περιστατικό μείωσης του ύψους των υπό θεραπεία δίσκων στις ακτινογραφίες ή περαιτέρω εκφύλισής τους στις μαγνητικές τομογραφίες. Επιπρόσθετα, η σταδιοποίηση της εκφύλισης κατά Pfirrmann βελτιώθηκε σε στάδιο III από στάδιο IV στην εκτίμηση μετά 6 και 12 μήνες σε έναν ασθενή, όπου μάλιστα παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση του άλγους του κατά VAS στους έξι μήνες. Μεταξύ των έξι ασθενών που είχαν επιτυχή θεραπεία στον τελικό επανέλεγχο, σε τρεις παρατηρήθηκε αυξημένη περιεκτικότητα του δίσκου σε νερό στην απεικόνιση με MRI. Κατά τη διάρκεια της ετήσιας παρακολούθησης μετά την θεραπεία, δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες σχετιζόμενες με αυτή. Το ποσοστό επιτυχίας της θεραπείας δεν είχε διαφορά μεταξύ των ασθενών που έλαβαν χαμηλή (2×10^7 κύτταρα/δίσκο) και υψηλή (4×10^7 κύτταρα/δίσκο) δόση. Μεταξύ των τεσσάρων ασθενών, στους οποίους η θεραπεία θεωρήθηκε ανεπιτυχής, ένας ανέφερε σημαντική βελτίωση της οσφυαλγίας (κατά 50% μειωμένο άλγος), αλλά ανεπαρκή (<30%) βελτίωση της λειτουργικότητας κατά ODI μετά ένα έτος, ενώ είχε και σημαντική βελτίωση στην απεικονιστική εικόνα στην MRI και τη σταδιοποίηση κατά

Pfirmann στον επανέλεγχο του εξαμήνου. Δύο ασθενείς από την παραπάνω κατηγορία είχαν και άλλα στοιχεία παθολογίας της σπονδυλικής στήλης, που πιθανώς ενοχοποιούνται για την οσφυαλγία τους, όπως σπονδυλολίση, σπονδυλική στένωση, αρθρίτιδα των ανάντι και κατόντι αρθρώσεων των σπονδύλων, μειωμένο ύψος δίσκου και δισκοκήλη, ενώ ο τέταρτος ασθενής είχε καταθλιπτική συμπτωματολογία, γεγονός που πιθανώς συνέβαλε στην αποτυχία της θεραπείας. Επομένως, ενισχύεται η αντίληψη ότι η προσεκτική επιλογή των ασθενών είναι κρίσιμη για την επιτυχία των κυτταρικών θεραπειών για το χρόνιο δισκογενές άλγος.

Σε μία προοπτική μελέτη από τους Haufe et al[82] από το 2006, δέκα ασθενείς υποβλήθηκαν σε ενδοδισκική έγχυση δια βελόνης αιμοποιητικών πρόδρομων βλαστοκυττάρων (hematopoietic precursor stem cells -HSCs) που απομονώθηκαν από τον μυελό των οστών της λεκάνης, με στόχο το αναγεννητικό αποτέλεσμα στον ιστό του δίσκου. Η συμμετοχή στη μελέτη προτάθηκε τυχαία στους ασθενείς, και συμμετείχαν ασθενείς με επιβεβαιωμένο από δισκογραφία δισκογενές άλγος. Στο παρελθόν, όλοι οι ασθενείς αυτοί είχαν υποβληθεί σε ενδοσκοπική δισκεκτομή για την αντιμετώπιση της παραπάνω συμπτωματολογίας χωρίς επιτυχία. Μετά από την έγχυση των HSCs, οι ασθενείς ακολούθησαν μία αγωγή με υπερβαρικό οξυγόνο για δύο εβδομάδες. Οι ασθενείς προσήλθαν για επανέλεγχο στους έξι και δώδεκα μήνες μετά τη θεραπεία, με στόχο την εξακρίβωση του βαθμού αντιμετώπισης του άλγους. Από τους ασθενείς αυτούς, κανένας δεν εμφάνισε βελτίωση της δισκογενούς οσφυαλγίας έναν χρόνο μετά από τη θεραπεία. Αν και μελέτες σε ζωικά μοντέλα υποδεικνύουν ότι εγχύσεις HSCs μπορούν να έχουν αναγεννητικά αποτελέσματα στον μεσοσπονδύλιο δίσκο, η μελέτη σε ανθρώπους δείχνει ότι τέτοια αγωγή δεν συνδέεται με μειωμένο άλγος και επομένως φαίνεται ότι δεν μπορεί να αξιοποιηθεί σε αυτή την κατεύθυνση.

Σε μία προοπτική μελέτη από τους Coric et al [32], που δημοσιεύθηκε το 2013, διερευνήθηκε η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα μίας θεραπείας με αλλογενετικά νεανικά (juvenile) χονδροκύτταρα για την αντιμετώπιση της χρόνιας δισκογενούς οσφυαλγίας. Δεκαπέντε ασθενείς έλαβαν την αγωγή, η οποία συνίσταται στην ενδοδισκική χορήγηση των κυττάρων: δύο ασθενείς έλαβαν αγωγή στο επίπεδο O3-O4, ένας στο O4-O5, δώδεκα στο O5-I1, ενώ

12 ασθενείς είχαν εκφύλιση σταδίου III κατά Pfirrmann και 3 σταδίου IV. Το θεραπευτικό σχήμα ήταν μία έγχυση δια βελόνης ενός πληθυσμού κυττάρων περίπου 10^7 κυττάρων/ml μαζί με έναν κυτταρικό φορέα ινικής, σε ένα μείγμα όγκου 1 με 2 ml (1,3 ml κατά μέσο όρο). Τα χονδροκύτταρα απομονώθηκαν από την αρθρική επιφάνεια πτωματικού ιστού προερχόμενου από δότη και καλλιεργήθηκαν *in vitro*. Οι ασθενείς εκτιμήθηκαν πριν την αγωγή και σε 1, 3, 6 και 12 μήνες μετά την αγωγή. Οι μέσες τιμές στην αριθμητική κλίμακα ταξινόμησης (numeric rating scale – NRS) για την εκτίμηση του άλγους και των αποτελεσματικών του ερωτηματολογίου ODI και της σωματικής συνιστώσας του ερωτηματολογίου SF-36 βελτιώθηκαν σημαντικά συγκριτικά με πριν την θεραπεία, ενώ οι τιμές για την πνευματική συνιστώσα του SF-36 βελτιώθηκαν μεν, σε όχι στατιστικά σημαντικό βαθμό δε. Κατά τον επανέλεγχο μετά από ένα εξάμηνο, 13 από τους ασθενείς υποβλήθηκαν σε μαγνητική τομογραφία, καθώς ένας ασθενής υποβλήθηκε σε αξονική τομογραφία και ένας ασθενής αρνήθηκε να υποβληθεί σε εξέταση απεικόνισης. Δέκα από τους δεκατρείς ασθενείς (ποσοστό 77%) παρουσίασαν βελτίωση στην απεικονιστική εικόνα. Τρεις ασθενείς είχαν βελτίωση του ύψους ή του σχήματος-περιγράμματος των δίσκων υπό αγωγή. Ζώνες υψηλής έντασης (high intensity zones – HIZs), οι οποίες συνδέονται με οπίσθια ρήξη του ινώδους δακτυλίου, απεικονίστηκαν στους δίσκους εννιά ασθενών προ της θεραπείας. Σε οκτώ από αυτούς (89%) τα ευρήματα αυτά είτε βελτιώθηκαν είτε εξαφανίστηκαν τελείως μετά από έξι μήνες, ενώ στον ένατο ασθενή υπήρξε βελτίωση της απεικόνισης στους 3 μήνες χωρίς όμως να γίνει απεικονιστικός επανέλεγχος στη συνέχεια. Από τους 10 ασθενείς με απεικονιστική βελτίωση μετά από 6 μήνες, σε 8 ασθενείς υπήρχε περαιτέρω βελτίωση ή σταθερή εικόνα στον επανέλεγχο ένα έτος μετά από τη θεραπεία. Δεν καταγράφηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες στην μελέτη αυτή. Τρεις ασθενείς (20%) υποβλήθηκαν σε ολική αντικατάσταση μεσοσπονδυλίου δίσκου κατά τον επανέλεγχο ένα έτος μετά τη θεραπεία λόγω επιμονής της οσφυαλγίας, η οποία όμως δεν ήταν χειρότερη από ότι προ της θεραπείας.

Το 2002 ξεκίνησε μία προοπτική, τυχαιοποιημένη, πολυκεντρική ελεγχόμενη δοκιμή [83,84], για την σύγκριση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας μεταξύ της αυτόλογης μεταμόσχευσης χονδροκυττάρων του δίσκου

(autologous disc chondrocyte transplant, εμπορική ονομασία Chondrotransplant DISC) μαζί με δισκεκτομή και της δισκεκτομής χωρίς κυτταρική θεραπεία. Η χειρουργική αυτή αντιμετώπιση για την κήλη του μεσοσπονδυλίου δίσκου είναι μία από τις πιο αποτελεσματικές και ευρέως χρησιμοποιούμενες θεραπείες για την οσφυαλγία που σχετίζεται με την εκφυλιστική νόσο του ΜΔ. Η εκτομή της δισκοκήλης παρέχει σημαντική ανακούφιση από τον πόνο μετά από μία επιτυχημένη χειρουργική επέμβαση. Από την άλλη πλευρά όμως, η αφαίρεση ιστού από τον δίσκο διαταράσσει την ανατομία του και υποβαθμίζει τη δυνατότητα του να δέχεται φορτία, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη φόρτιση των δίσκων γειτονικών επιπέδων μακροπρόθεσμα. Ο στόχος της κλινικής μελέτης ήταν να εκτιμηθεί αν η εκνίνο καλλιέργεια των αυτόλογων χονδροκυττάρων και η διαδερμική χορήγησή τους στον χειρουργημένο δίσκο μπορεί να επηρεάσει θετικά τη λειτουργία του και πιθανώς να συμβάλλει σε μεγαλύτερη γενική σταθερότητα της σπονδυλικής στήλης του ασθενούς. Επιδιώχθηκε να συγκροτηθεί ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα ασθενών, ώστε να μελετηθεί ο τραυματικός, λιγότερο εκφυλισμένος δίσκος, όπως και να συμπεριληφθούν ασθενείς με επίμονα συμπτώματα όπου έχει τεθεί η ένδειξη χειρουργικής αντιμετώπισης. Για την μελέτη επιλέχθηκαν ασθενείς με ένα μεσοσπονδύλιο επίπεδο με ένδειξη χειρουργικής αντιμετώπισης. Από τους 28 συνολικά ασθενείς που συμμετείχαν στην έρευνα, 12 έλαβαν κυτταρική θεραπεία μετά από δισκεκτομή και 16 υποβλήθηκαν μόνο σε δισκεκτομή. Μια μοναδική χορήγηση με βελόνη της ελάχιστης δυνατής για τη θεραπεία διαμέτρου επιλέχθηκε, για την μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια στη χορήγηση και την ελαχιστοποίηση πιθανότητας τραυματισμού του ινώδους δακτυλίου. Η μεταμόσχευση των κυττάρων έγινε 12 εβδομάδες μετά την επέμβαση, προκειμένου να επιτευχθεί επαρκής επούλωση του ινώδους δακτυλίου. Επανεκτίμηση και ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε μετά από δύο έτη. Αξιοποιήθηκαν η οπτική αναλογική κλίμακα για την εκτίμηση του άλγους, η κλίμακα Oswestry και η κλίμακα Quebec (Queben Back Pain Disability Scale - QBPD) για την εκτίμηση της οσφυαλγίας και της λειτουργικότητας, όπως και η κλίμακα Prolo για την μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών, οι οποίοι εκτιμήθηκαν στους 3, 6, 12 και 24 μήνες μετά τη θεραπεία. Παρατηρήθηκαν διαφορές στα αρχικά ευρήματα μεταξύ της ομάδας ελέγχου και τους ασθενείς που έλαβαν

κυτταρική θεραπεία. Η χειρουργική επέμβαση, όπως άλλωστε αναμενόταν, βελτίωσε σημαντικά την λειτουργικότητα και το άλγος των ασθενών. Η τάση για βελτίωση της κλινικής εικόνας όμως συνεχίστηκε στους ασθενείς που έλαβαν κυτταρική θεραπεία, ενώ η ομάδα ελέγχου δεν εμφάνισε συνεχιζόμενη βελτίωση. Η περιγραφική ανάλυση της μέσης συνολικής τιμής για το QBPD πριν την επέμβαση, πριν την κυτταρική θεραπεία και τρεις μήνες μετά την κυτταρική θεραπεία αναδεικνύει πτώση (βελτίωση) τόσο της μέσης, όσο και της διάμεσης τιμής και για τις δύο υποομάδες ασθενών. Αν και υπήρξε βελτίωση της μέσης και της διάμεσης τιμής και μεταξύ του πρώτου και του δεύτερου έτους, τα αποτελέσματα ήταν σημαντικά καλύτερα για την ομάδα θεραπείας. Στον επανέλεγχο μετά από δύο έτη, τα ευρήματα στην κλίμακα Oswestry ήταν επίσης σαφώς βελτιωμένα στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, δείχνοντας μία μακρόχρονη θεραπευτική δυναμική του συνδυασμού κυτταρικής θεραπείας- δισκεκτομής. Το ύψος του δίσκου εκτιμήθηκε με MRI. Η σύγκριση της μέσης τιμής για το ύψος του ΜΔ δεν ανέδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ασθενών. Η ανάλυση της ενυδάτωσης όμως του μεσοσπονδυλίου δίσκου ανέδειξε πολύ μεγαλύτερη τάση στην ομάδα θεραπείας για φυσιολογικές τιμές: το 41% εκείνων των ασθενών παρουσίαζε φυσιολογική περιεκτικότητα του μεσοσπονδυλίου δίσκου σε νερό, ενώ για την ομάδα ελέγχου το αντίστοιχο ποσοστό ήταν μόλις 25% κατά τον επανέλεγχο μετά από δύο έτη. Ίσως το εντυπωσιακότερο, όμως, εύρημα της μελέτης αναδείχθηκε με την απεικόνιση των γειτονικών ενός ή δύο μεσοσπονδύλιων επιπέδων με τον χειρουργημένο δίσκων. Τα επίπεδα υγρού των δίσκων στα επίπεδα αυτά ανέδειξαν σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό φυσιολογικής περιεκτικότητας σε νερό μετά από την κυτταρική θεραπεία, παρά την απόστασή τους από την περιοχή της χειρουργικής επέμβασης.

Τα αποτελέσματα της μεταμόσχευσης αυτόλογων χονδροκυττάρων του δίσκου μελετήθηκαν επίσης σε μία προοπτική τυχαιοποιημένη πολυκεντρική κλινική μελέτη φάσης I/II, τα αποτελέσματα σχετικά με την ασφάλεια από τη φάση I της οποίας δημοσιεύθηκαν το 2017 από τους Tshugg et al [85]. Η μελέτη “NDisc” είναι μία πολυκεντρική τυχαιοποιημένη μελέτη με δοκιμή φάσης I εντός της συνδυασμένης μελέτης φάσης I/II, με στενή

παρακολούθηση της ασφάλειας και της ανοχής των ασθενών στη θεραπεία. Είκοσι τέσσερις (24) ενήλικες ασθενείς με κήλη μεσοσπονδυλίου δίσκου σε μεμονωμένο μεσοσπονδύλιο επίπεδο κατανεμήθηκαν σε τυχαιοποιημένη βάση και έλαβαν το πειραματικό φαρμακευτικό προϊόν με εμπορική ονομασία Ndisc plus ή μόνο με το υλικό του κυτταρικού φορέα. Το πιο συχνά προσβεβλημένο μεσοσπονδύλιο επίπεδο ήταν το O5-I1 και στις δύο ομάδες ασθενών. Το “NDisc plus” είναι μία γέλη, η οποία μπορεί να χορηγηθεί σε ενέσιμη μορφή και υπόκειται σε πολυμερισμό *in situ*, ενώ αποτελείται από δύο συστατικά. Το συστατικό A είναι ένα υγρό που αποτελείται από τροποποιημένη αλβουμίνη, υαλουρονικό οξύ και το υλικό κυτταρικής καλλιέργειας που περιέχει αυτόλογα κύτταρα του μεσοσπονδυλίου δίσκου μαζί με ανθρώπινο ορό, θειϊκή χονδροϊτίνη, ινσουλίνη, BMP-2 και ασκορβικό οξύ . Το συστατικό B είναι ένα διάλυμα που περιέχει bis-θειοπολυαιθυλενική γλυκόλη. Το μείγμα “NDisc basic” χρησιμοποιείται στην ομάδα ελέγχου της μελέτης, και εκεί το συστατικό A είναι τροποποιημένο ώστε να μην περιέχει χονδροκύτταρα. Μεταξύ των κριτηρίων για τη συμμετοχή των ασθενών στη μελέτη είναι η απουσία όχι μόνο πρότερης χειρουργικής επέμβασης στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης, αλλά και νοσημάτων της ΟΜΣΣ όπως σπονδυλική στένωση, σπονδυλολίσθηση ή ιστορικό κατάγματος. Αν παρατηρούταν σημαντική βλάβη του ινώδους δακτυλίου διεγχειρητικά, ικανή να αυξήσει τον κίνδυνο υποτροπής ή εκροής του σκευάσματος εκτός του δίσκου, τότε οι ασθενείς εξαιρούνταν από τη μελέτη. Η χορήγηση των κυττάρων έγινε 90 μέρες μετά από δισκεκτομή. Σε περίπτωση εκφύλισης μεσοσπονδυλίου δίσκου σε γειτονικό επίπεδο, η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και σε εκείνο το επίπεδο. Είκοσι από τους 24 ασθενείς έλαβαν αγωγή, δώδεκα με το φαρμακευτικό σκεύασμα NDisc plus και οκτώ με το σκεύασμα ελέγχου NDisc basic. Σε δύο περιστατικά παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες που κρίθηκαν από την ερευνητική ομάδα ως σχετιζόμενες με την φαρμακευτική αγωγή ή γενικότερα με τις παρεμβάσεις στο πλαίσιο της μελέτης. Τα συμπτώματα ενός ασθενή από την ομάδα “NDisc basic” με σπονδυλικό άλγος 21 ημέρες μετά την θεραπεία (μη σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια) εκτιμήθηκε ότι σχετίζονται τόσο με την χειρουργική επέμβαση, όσο και με την υπό μελέτη θεραπεία. Ένας ασθενής από την ομάδα “NDisc plus” εμφάνισε πρόπτωση μεσοσπονδυλίου δίσκου που

θεωρήθηκε ότι επίσης σχετίζεται με την χειρουργική επέμβαση όπως και με την κυτταρική θεραπεία. Ο συγκεκριμένος ασθενής υποβλήθηκε σε νέα επέμβαση. Παράλληλα, εκτιμήθηκαν εργαστηριακοί δείκτες όπως η τιμή της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) στον ορό των ασθενών. Οι τιμές και των δύο αυξήθηκαν και στις δύο ομάδες ασθενών στις 36 ώρες μετεγχειρητικά, ενώ στη συνέχεια επέστρεψαν σε φυσιολογικά επίπεδα. Η CRP δεν είχε μεταβολή μετά την κυτταρική μεταμόσχευση, ενώ η IL-6 παρουσίασε μικρή αύξηση με μέγιστη τιμή στις 42 ώρες μετά την χορήγηση των κυτάρων. Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα σχετικά αποτελέσματα μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών. Στην μαγνητική τομογραφία, συγκέντρωση υγρού εκτός του δίσκου παρατηρήθηκε σε τρεις ασθενείς (δύο από τους δώδεκα στην ομάδα NDisc plus και ένας στους οκτώ στην ομάδα NDisc basic) μετά την χορήγηση, χωρίς όμως πειστικά φαινόμενα ή λοιπές επιπλοκές. Ένας από τους ασθενείς εμφάνισε υποτροπή της δισκοκήλης, για την οποία απαιτήθηκε νέα επέμβαση (επτά μήνες μετεγχειρητικά). Η χειρουργική επέμβαση (εκλεκτική δισκεκτομή) στον ενδεδειγμένο πληθυσμό ασθενών εκτιμάται ότι σχετίζεται με ανεπιθύμητες ενέργειες όπως η υποτροπιάζουσα δισκοκήλη και η συνεχιζόμενη ή υποτροπιάζουσα οσφυαλγία ή ισχιαλγία σε ποσοστό ασθενών έως 25% εντός δύο ετών. Συμπτωματικές υποτροπές της δισκοκήλης παρατηρούνται σε περίπου 10% των ασθενών με υψηλότερο κίνδυνο τους πρώτους έξι μήνες. Συνολικά, τα ποσοστά των υποτροπών, με βάση τόσο τα απεικονιστικά ευρήματα όσο και την κλινική εικόνα, είναι συγκρίσιμα με τα αναμενόμενα μετά από τέτοιες επεμβάσεις στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο. Δεν παρουσιάστηκε καμία ένδειξη ή κλινική υπόνοια βλαβερής διαρροής υλικού ή ανοσολογικών αντιδράσεων μετά την μελετούμενη θεραπεία.

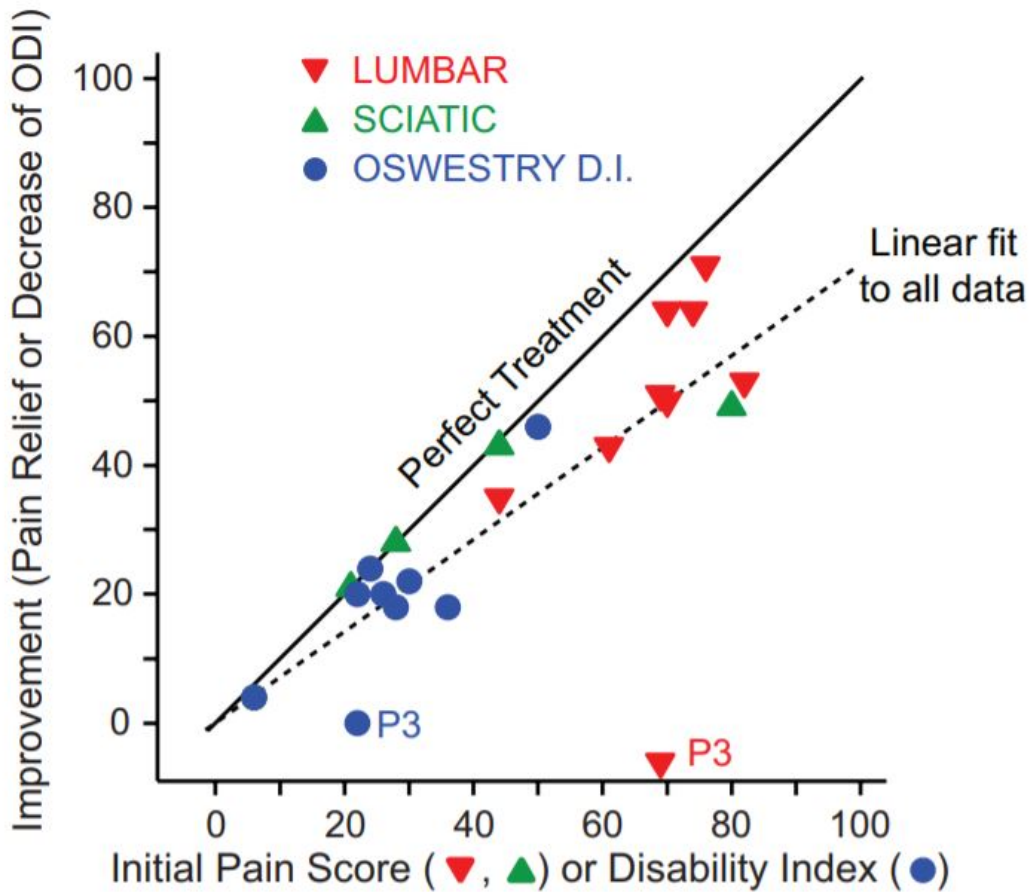
Σε μία έρευνα που δημοσιεύθηκε από τους Comella et al[86] το 2017, μελετήθηκε η ενδοδισκική χορήγηση ενός μίγματος ολικού αριθμού στρωματικών κυττάρων (Stromal Vascular Fraction - SVF) και πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (platelet rich plasma – PRP). Ο ολικός αριθμός στρωματικών κυττάρων μπορεί να απομονωθεί εύκολα από τον λιπώδη ιστό εντός περίπου 30–90 λεπτών σε κλινικό περιβάλλον με τη χρήση τεχνικής μινι-λιποαναρρόφησης και φυγοκέντρωσης. Το μείγμα αυτό περιέχει κύτταρα,

συμπεριλαμβανομένων των προερχόμενων από τον λιπώδη ιστό βλαστοκυττάρων και παραγόντων ανάπτυξης, αλλά έχει διαχωριστεί από τον πληθυσμό των λιποκυττάρων. Το πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα είναι ένα μείγμα παραγόντων ανάπτυξης και ινικής που προέρχεται από το αυτόλογο περιφερικό αίμα του ασθενούς. Με το συνδυασμό των παραπάνω, μπορεί να συγκεντρωθεί αυξημένη ποσότητα παραγόντων ανάπτυξης και πρωτεϊνών για να ενισχύσουν το αναγεννητικό δυναμικό των ιστών. Δεκαπέντε ασθενείς υποβλήθηκαν σε μία μικροεπέμβαση τοπικής λιποαναρρόφησης, όπου απομονώθηκαν 60 ml περίπου λιπώδους ιστού. Ο λιπώδης ιστός υποβλήθηκε σε επεξεργασία για να απομονωθεί ο SVF. Στη συνέχεια, το μείγμα που προαναφέρθηκε χορηγήθηκε στον πυρήνα του δίσκου των ασθενών με εκφυλιστική νόσο. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη είχαν διαγνωσθεί με εκφυλιστική νόσο σε ένα, δύο ή τρεις μεσοσπονδυλίους δίσκους και ανέφεραν άλγος κυρίως στην οσφυϊκή περιοχή παρά την συντηρητική θεραπεία (φαρμακευτική και φυσικοθεραπεία) για πάνω από έξι μήνες. Ο ινώδης δακτύλιος έπρεπε να απεικονίζεται από την μαγνητική τομογραφία ως ακέραιος και επαρκής να αποτρέψει διαρροή των χορηγούμενων κυττάρων εκτός του δίσκου. Κάθε δόση της αγωγής αποτελούνταν από περίπου 1 ml του μίγματος SVF και PRP. Αν πάνω από ένας δίσκοι ήταν προσβεβλημένοι σε κάποιοι ασθενή, τότε η διαθέσιμη ποσότητα του SVF μοιραζόταν ισομερώς και αναμειγνυόταν με περίπου 1 ml από PRP. Κλινική εκτίμηση των ασθενών προγραμματίστηκε προ της θεραπείας και στους δύο και έξι μήνες μετά τη θεραπεία. Οι ασθενείς εκτιμήθηκαν για πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες, το εύρος κίνησης, την ένταση του άλγους βάσει της οπτικής αναλογικής κλίμακας VAS, της κλίμακας present pain intensity (PPI) και του ερωτηματολογίου Dallas Pain Questionnaire, την λειτουργικότητα με το Oswestry Disability Index (ODI), την ψυχολογική κατάσταση με το ερωτηματολόγιο Beck Depression Inventory (BDI), και την ποιότητα ζωής με το ερωτηματολόγιο Short Form (SF)-12. Οι ασθενείς παρακολουθήθηκαν για ζητήματα σχετικά με την ασφάλεια τους για 12 μήνες. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική βελτίωση σε αρκετές παραμέτρους όπως το εύρος κάμψης, τις τιμές για την ένταση του άλγους σε VAS και PPI και τα αποτελέσματα του ερωτηματολογίου SF-12. Αν και δεν αποτυπώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα αποτελέσματα των ODI και BDI, λόγω και

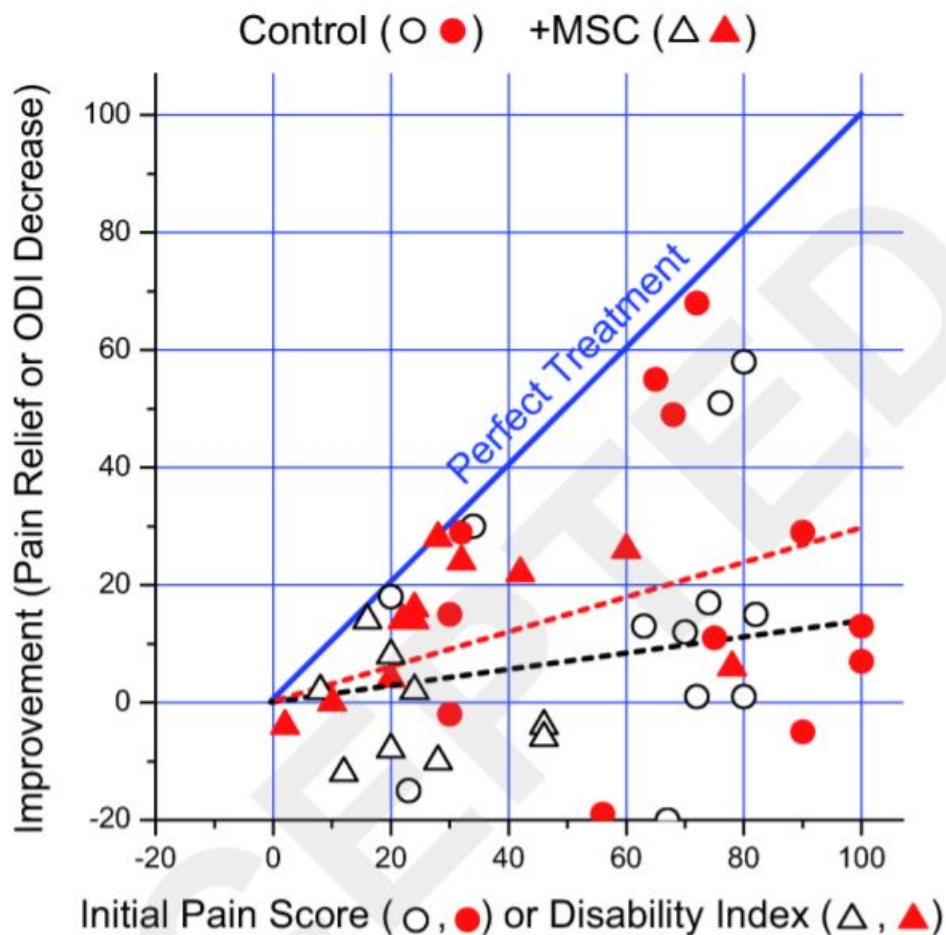
του μικρού μεγέθους του δείγματος, η τάση που αποτυπώθηκε ήταν και εκεί θετική. Επίσης, η πλειοψηφία των ασθενών κατέγραψε βελτίωση στα αποτελέσματα του Dallas Pain Questionnaire. Ανεπιθύμητες ενέργειες, πέρα από ευαισθησία στην κοιλιακή χώρα μετά τη διαδικασία μικρολιποαναρρόφησης ή στη ράχη μετά από τις ενέσεις στη μεσοσπονδύλια περιοχή, η οποία επιλύθηκε εντός 7-10 ημερών, δεν καταγράφηκαν.

Μία εναλλακτική επιλογή για την κυτταρική θεραπεία της εκφυλιστικής νόσου του μεσοσπονδυλίου δίσκου θα μπορούσε να είναι η ενδοδισκική έγχυση αυτόλογου παραγώγου αναρρόφησης από τον μυελό των οστών (bone marrow concentrate - BMC). Σε μία προοπτική, μη τυχαιοποιημένη, μη τυφλή μελέτη μίας ομάδας (single-arm) που δημοσιεύθηκε από τους Pettine et al [9], είκοσι έξι ασθενείς έλαβαν τέτοια αγωγή και στη συνέχεια παρακολούθηθηκαν για τρία έτη. Όλοι ήταν υποψήφιοι για χειρουργική αντιμετώπιση και είχαν αναζητήσει εκτίμηση από τον συγγραφέα της έρευνας, είχαν χρόνια οσφυαλγία ανθεκτική στην συντηρητική θεραπεία και εκφυλιστική νόσο μεσοσπονδυλίου δίσκου σταδίου 4 έως 7 με την τροποποιημένη κατάταξη Pfirrmann, επιβεβαιωμένη με μαγνητική τομογραφία. Έλαβαν 2 ml της θεραπείας σε ενέσιμη μορφή διαδερμικά στον πηκτοειδή πυρήνα του μεσοσπονδυλίου δίσκου. Δεκατρείς ασθενείς υποβλήθηκαν σε ενδοδισκική έγχυση του αυτόλογου BMC σε έναν συμπτωματικό οσφυϊκό μεσοσπονδύλιο δίσκο και δεκατρείς ασθενείς έλαβαν θεραπεία σε δύο γειτονικά μεσοσπονδύλια επίπεδα. Δείγμα του υλικού προς έγχυση εξετάστηκε με χρήση κυτταρομετρίας ροής και εκτιμήθηκε ο αριθμός των μονάδων γένεσης αποικίας ινοβλαστών (colony forming units-fibroblast, CFU-F), συνώνυμων των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών, ώστε να ελεγχθεί η περιεκτικότητα σε προγονικά κύτταρα. Παρατηρήθηκε βελτίωση στα αποτελέσματα για την εκτίμηση του πόνου (VAS) και της λειτουργικότητας (ερωτηματολόγιο ODI) ήδη από τον πρώτο επανέλεγχο μετά τη θεραπεία (τρεις μήνες), και αυτή η βελτίωση σε γενικές γραμμές διατηρήθηκε για το σύνολο της περιόδου των τριών ετών μετά τη θεραπεία για τους ασθενείς που δεν υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση εκείνη την περίοδο (20 από τους 26 συνολικά ασθενείς). Υπήρχε μία βελτίωση της τάξης του 71% στα αποτελέσματα του ODI και του 70% στα

αποτελέσματα του VAS για τους ασθενείς τα δύο πρώτα χρόνια από την έγχυση, ενώ στην περίοδο μεταξύ της συμπλήρωσης δύο και τριών ετών από τη θεραπεία τα αντίστοιχα αποτελέσματα είχαν μία ελαφριά αρνητική μεταβολή. Η κυτταρική ανάλυση αναδεικνύει ότι οι ασθενείς με μεγαλύτερη συγκέντρωση προγονικών κυττάρων (τόσο CFU-F, όσο και κυττάρων της γραμμής CD34+) στο υλικό έγχυσης εμφάνισαν ταχύτερη και μεγαλύτερη βελτίωση του άλγους. Η απεικόνιση με μαγνητική τομογραφία ανέδειξε ότι οκτώ από τους είκοσι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε MRI είχαν βελτίωση της απεικονιστικής εικόνας με “κέρδος” ένα τουλάχιστον στάδιο στην τροποποιημένη κλίμακα Pfirrmann, ένα έτος μετά τη θεραπεία. Μάλιστα, δεν καταγράφηκε καμία περίπτωση ασθενούς με χειρότερη απεικονιστική εικόνα στην MRI, στο ίδιο χρονικό σημείο. Οι ασθενείς που έλαβαν μεγαλύτερη συγκέντρωση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (που υπολογίστηκε ως CFU-F/ml) παρουσίασαν την τάση για συνολικά καλύτερα αποτελέσματα. Πέρα από την επιλογή για έξι ασθενείς να προχωρήσουν σε χειρουργική θεραπεία, δεν καταγράφηκαν σημαντικές επιπλοκές ή ανεπιθύμητες ενέργειες σχετιζόμενες με τη μελέτη. Η νοσηρότητα και το οικονομικό κόστος της διαδερμικής αυτής θεραπείας είναι σημαντικά μικρότερα συγκριτικά με την εναλλακτική επιλογή της χειρουργικής θεραπείας, ενώ τα κλινικά αποτελέσματα φαίνονται -από τη συγκεκριμένη μελέτη- να είναι αντίστοιχα ή ακόμα και καλύτερα της χειρουργικής αντιμετώπισης της δισκογενούς χρόνιας οσφυαλγίας.



Πίνακας 3-1: Κατανομή των αποτελεσμάτων για την βελτίωση του άλγους (στην κλίμακα VAS) και της λειτουργικότητας των ασθενών (ερωτηματολόγιο ODI). Τα αντεστραμμένα τρίγωνα (κόκκινο χρώμα) αναπαριστούν τα αποτελέσματα για τον οσφυϊκό πόνο, τα τρίγωνα (πράσινο χρώμα) εκείνα για την ισχιαλγία και οι κουκκίδες (γαλάζιο χρώμα) εκείνα για τη λειτουργικότητα. Η συνεχής γραμμή αναπαριστά την ιδανική θεραπεία και η διακεκομμένη εκείνη που αντιπροσωπεύει (best fit) το σύνολο των ασθενών της έρευνας. **(Orozco et al⁷⁸)**



Πίνακας 3-2: Κατανομή των αποτελεσμάτων για την βελτίωση του άλγους (κουκκίδες) και της λειτουργικότητας (τρίγωνα). Τα κόκκινα σύμβολα αναπαριστούν τους ασθενείς της ομάδας θεραπείας, ενώ τα λευκά εκείνους της ομάδας ελέγχου. Η συνεχής γραμμή αναπαριστά την ιδανική-πλήρη θεραπεία, η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή αντιπροσωπεύει το σύνολο της ομάδας θεραπείας και η μαύρη διακεκομμένη γραμμή το σύνολο της ομάδας ελέγχου (Noriega et al⁶³)

Συζήτηση - Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της πλειοψηφίας των κλινικών δοκιμών που μελετώνται εδώ είναι ενθαρρυντικά. Με εξαίρεση τη μελέτη που αφορά στη χρήση αιμοποιητικών πρόδρομων βλαστοκυττάρων από τους Haufe et al [82], όλες οι μελέτες έδειξαν θετικά αποτελέσματα αναφορικά με την εκτίμηση του άλγους και της λειτουργικότητας. Ακόμα περισσότερη αισιοδοξία γεννά το γεγονός, ότι η βελτίωση σχετικά με τον πόνο και τη λειτουργικότητα έδειξε σαφή τάση διατήρησης κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης των ασθενών, όπως αναδείχθηκε από τις μελέτες με περίοδο παρακολούθησης από τρία έως και έξι έτη [9,79,80]. Αν και αυτή η τάση χρειάζεται να επιβεβαιωθεί από μελέτες με ακόμα μεγαλύτερες περιόδους παρακολούθησης των ασθενών, η ομοιογένεια των αποτελεσμάτων αποτιμάται θετικά. Τα ευρήματα από τον απεικονιστικό έλεγχο με ακτινογραφίες και μαγνητική τομογραφία είναι επίσης ενθαρρυντικά. Ένα κοινό θετικό εύρημα σε αρκετές μελέτες ήταν το γεγονός ότι η περιεκτικότητα των δίσκων υπό θεραπεία σε νερό ήταν μεγαλύτερη μετά από ένα έτος. Παράλληλα, οι δίσκοι έτειναν να διατηρούν σταθερό ύψος στον απεικονιστικό έλεγχο μετά τη θεραπεία. Ακόμα πιο θετικά αποτιμάται το εύρημα -αν και δεν ήταν τόσο συχνό, όσο όσα προαναφέρθηκαν- ότι σε ορισμένες μελέτες παρατηρήθηκε μία συνολική βελτίωση της απεικόνισης των μεσοσπονδυλίων δίσκων στην μαγνητική τομογραφία, που οδήγησε σε βελτίωση της σπειροποίησης τους κατά Pfirrmann (τροποποιημένης ή μη). Τα αποτελέσματα των Noriega et al [63] και Pettine et al [9], είναι τα πιο χαρακτηριστικά. Παράλληλα, στις μελέτες των Centeno [79] και Elabd [80] et al βρέθηκε ότι στην πλειοψηφία των ασθενών με πρόπτωση μεσοσπονδυλίου δίσκου απεικονίστηκε μείωσή της μετά την κυτταρική θεραπεία. Όλα αυτά τα απεικονιστικά ευρήματα υποδεικνύουν ότι η εκφυλιστική διαδικασία είναι πιθανό όχι μόνο να καθυστερήσει, αλλά σε περιπτώσεις ακόμα και να αναστραφεί με την κυτταρική θεραπεία. Επίσης, δεν καταγράφηκαν σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες από τη θεραπεία (με την πιθανή εξαίρεση ενός ασθενή από τη μελέτη των Centeno et al [79]), ούτε η κυτταρική θεραπεία φάνηκε να αυξάνει τη νοσηρότητα ή την πιθανότητα μετεγχειρητικών επιπλοκών όταν συνδυάζεται με χειρουργική θεραπεία [83-85]. Ο συνδυασμός χειρουργικής και κυτταρικής θεραπείας είναι μία

ενδιαφέρουσα πιθανή θεραπευτική στρατηγική, η οποία ενδεχομένως συνδυάζει την αναγεννητική δυναμική μιας βιολογικής θεραπείας με την αναγκαιότητα δομικών παρεμβάσεων σε περιπτώσεις προχωρημένης εκφύλισης μεσοσπονδυλίου δίσκου ή/και άλλων στοιχείων παθολογίας της σπονδυλικής στήλης, αλλά σίγουρα απαιτείται περαιτέρω έρευνα σε αυτή την κατεύθυνση. Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι η κυτταρική θεραπεία είναι μία σχετικά ασφαλής θεραπευτική επιλογή. Είναι όμως απαραίτητο, να συνεχιστεί η έρευνα με μελέτες με κατάλληλο σχεδιασμό, ώστε να είναι προοπτικές, τυχαιοποιημένες, τυφλές και ελεγχόμενες και να αφορούν δείγμα ασθενών επαρκούς μεγέθους.

Υπάρχουν, όμως, ακόμα αρκετά ζητήματα που χρειάζεται να επιλυθούν, προκειμένου να μπορέσουν οι κυτταρικές θεραπείες για την αντιμετώπιση του επώδυνου μεσοσπονδυλίου δίσκου να “μεταπηδήσουν” από το στάδιο των κλινικών δοκιμών στην καθημερινή κλινική πράξη. Πρώτον, η κατάλληλη επιλογή ανάμεσα στους διαθέσιμους κυτταρικούς πληθυσμούς, όπως και μεταξύ της αυτόλογης και αλλογενούς μεταμόσχευσης κυτάρων απαιτεί συνέχεια της σχετικής έρευνας, καθώς οι κλινικές δοκιμές είναι ακόμα περιορισμένες τόσο σε αριθμό, όσο και σε συνολικό δείγμα ασθενών. Δεύτερον, η σωστή επιλογή των υποψηφίων ασθενών για κυτταρική θεραπεία είναι μεγάλης σημασίας και μπορεί να συνδέεται άμεσα με την επιτυχία ή μη της αγωγής. Δεδομένων των χαρακτηριστικών της εκφυλιστικής διαδικασίας για τον μεσοσπονδύλιο δίσκο [87], οι σύγχρονες προσεγγίσεις συνιστούν οι κυτταρικές θεραπείες να χορηγούνται σε περιπτώσεις εκφύλισης δίσκου ενός επιπέδου και ήπιας/πρώιμης μορφής, όπως αυτή αποτυπώνεται στα στάδια III ή IV κατά Pfirrmann στην απεικόνιση με μαγνητική τομογραφία. Ασθενείς με δίσκους σε στάδια I-II ή V κατά Pfirrmann θα είχαν πολύ ήπια ή πολύ προχωρημένη εκφύλιση δίσκου, αντίστοιχα, για να έχουν μετρήσιμο θεραπευτικό αποτέλεσμα [32]. Τα ευρήματα από μία έρευνα *in vitro* από τους Peroglio et al [88] είναι ενδιαφέροντα, καθώς αναδείχθηκε ότι η χορήγηση ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων σε μεσοσπονδύλιους δίσκους μεγάλων ζωικών μοντέλων που είχαν υποστεί εκπυρήνιση (nucleotomy) είχε αναγεννητικό αποτέλεσμα στους εκφυλισμένους δίσκους, αλλά καμία αξιοσημείωτη επίδραση στους υγιείς δίσκους. Τα ευρήματα αυτά

υποδεικνύουν ότι η κατάσταση του μικροπεριβάλλοντος του δίσκου και το στάδιο της εκφυλιστικής διαδικασίας είναι κρίσιμοι παράγοντες για μια επιτυχή θεραπεία. Δεν θα πρέπει βέβαια να ξεχνάμε, ότι στην πράξη η εκφυλιστική διαδικασία έχει αργή και σταδιακή πρόοδο και συχνά δεν υπάρχει άμεση αντιστοίχιση μεταξύ της έντασης της οσφυαλγίας και του βαθμού της εκφύλισης. Τρίτον, χρειάζεται να καθοριστούν τόσο η κατάλληλη θεραπευτική δοσολογία, όσο και ο “κυτταρικός φορέας” για συγχορήγηση με τα κύτταρα προς μεταμόσχευση. Η ανάπτυξη κυτταρικών φορέων που μπορούν να ενισχύσουν την αναγεννητική ικανότητα των κυττάρων που χορηγούνται, αλλά και να λειτουργούν ως “σκαλωσιές” (scaffolds) για να παρέχουν δομική υποστήριξη στον δίσκο πιθανώς θα προσφέρουν σημαντική ενίσχυση του θεραπευτικού αποτελέσματος. Αν και η μελέτη από τους Pettine et al [9] ανέδειξε μία σύνδεση μεταξύ του όγκου του χορηγούμενου κυτταρικού πληθυσμού και του κλινικού και απεικονιστικού αποτελέσματος, μία μόνο κλινική δοκιμή [81] από όσες μελετούμε εδώ διερεύνησε τη χορήγηση διαφορετικών σχημάτων δοσολογίας χωρίς να αναδειχθεί στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Η μελέτη από τους Peroglio et al [88] που αναφέρθηκε παραπάνω έδειξε ότι η χρήση ενός κυτταρικού φορέα ινικής είχε θετική επίδραση στο αναγεννητικό αποτέλεσμα, σε σύγκριση με την χορήγηση μεσεγχυματικών κυττάρων σε αλατούχο διάλυμα ύδατος. Η γέλη ινικής που χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα αυτή κατέλαβε τον “νεκρό” χώρο από την εκφυρήνιση του δίσκου, επέτρεψε την αποδιοργάνωση του περιβάλλοντος ιστού του ΜΔ, ενίσχυσε τη δυνατότητα επιβίωσης των παρεχόμενων κυττάρων και επέτρεψε την παρακρινική σηματοδότηση μεταξύ των ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων και των κυττάρων του δίσκου. Υπάρχει επίσης έλλειμμα στην ανάπτυξη αναγεννητικών στρατηγικών με στόχο την επιδιόρθωση του ινώδους δακτυλίου και της τελικής πλάκας του δίσκου [59]. Επιπρόσθετα, τα ερωτήματα σχετικά με την καλλιέργεια, την αποθήκευση και την επαρκή προμήθεια των κυττάρων για την κλινική εφαρμογή της θεραπείας παραμένουν ακόμα αναπάντητα. Για να επιβεβαιωθούν και να ενισχυθούν τα εν δυνάμει θετικά αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών, όπως και για να επιλυθούν τα ζητήματα που παραμένουν ανοικτά, περαιτέρω έρευνα με μεγαλύτερους πληθυσμούς

ασθενών και σύγκριση μεταξύ διαφορετικών θεραπευτικών επιλογών είναι απαραίτητη.

Βιβλιογραφία

1. Meucci RD, Fassa AG, Faria NMX. Prevalence of Chronic Low Back Pain: Systematic Review. *Rev Saude Publica* 2015;49:1.
2. Oehme D, Goldschlager T, Ghosh P, et al. Cell-Based Therapies Used to Treat Lumbar Degenerative Disc Disease: A Systematic Review of Animal Studies and Human Clinical Trials. *Stem Cells Int.* 2015; doi: 10.1155/2015/946031. Epub 2015 May 14.
3. Lafian AM, Torralba KD, Lumbar Spinal Stenosis in Older Adults. *Rheum Dis Clin North Am.* 2018 Aug;44(3):501-512.
4. Wong E, Altaf F, Oh LJ, et al. Adult Degenerative Lumbar Scoliosis. *Orthopedics* 2017 Nov 1;40(6):e930-e939.
5. Teraguchi M, Yoshimura N, Hashizume H, et al. Progression, incidence, and risk factors for intervertebral disc degeneration in a longitudinal population-based cohort: the Wakayama Spine Study. *Osteoarthritis Cartilage* 2017 Jul; 25(7):1122-1131
6. Raj PP, Intervertebral Disc: Anatomy-Physiology-Pathophysiology-Treatment. *Pain Pract.* Jan-Feb 2008; 8(1):18-44.
7. Eyre DR, Muir H. Quantitative analysis of types I and II collagens in the human intervertebral disc at various ages. *Biochimica Biophysica Acta.* 1977; 492:29-42.
8. Vergroesen PP, Kingma I, Emanuel KS et al. Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: a vicious cycle. *Osteoarthritis Cartilage* 2015 Jul; 23(7):1057-70.
9. Pettine K, Suzuki R, Sand T et al. Autologous bone marrow concentrate intradiscal injection for the treatment of degenerative disc disease with three-year follow-up. *Int Orthop* 2017 Oct; 41(10):2097-2103.

10. Masuda K. Biological repair of the degenerated intervertebral disc by the injection of growth factors. *Eur Spine J*. 2008 Dec; 17(Suppl 4): 441–451.
11. Richardson SM, Doyle P, Minogue BM, et al. Increased expression of matrix metalloproteinase-10, nerve growth factor and substance P in the painful degenerate intervertebral disc. *Arthritis Res Ther* 2009;11(4):R126. doi: 10.1186/ar2793. Epub 2009 Aug 20.
12. Purmessur D, Walter BA, Roughley PJ, et al. A role for TNF α in intervertebral disc degeneration: a non-recoverable catabolic shift. *Biochem Biophys Res Commun* 2013 Mar 29;433(1):151-6.
13. Le Maitre CL, Freemont AJ, Hoyland JA. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of human intervertebral disc degeneration. *Arthritis Res Ther* 2005;7(4):R732-45. doi: 10.1186/ar1732. Epub 2005 Apr 1
14. Weber KT, Satoh S, Alipui DO, et al. Exploratory study for identifying systemic biomarkers that correlate with pain response in patients with intervertebral disc disorders. *Immunol Res* 2015; 63:170–80
15. Weber KT, Alipui DO, Sison CP, et al. Serum levels of the proinflammatory cytokine interleukin-6 vary based on diagnoses in individuals with lumbar intervertebral disc diseases. *Arthritis Res Ther* 2016;18:3.
16. Johnson WE, Caterson B, Eisenstein SM, et al. Human intervertebral disc aggrecan inhibits nerve growth in vitro. *Arthritis Rheum* 2002 Oct; 46(10):2658-64.
17. Battie MC, Videman T, Kaprio J, Gibbons LE, Gill K, Manninen H, et al. The Twin Spine Study: contributions to a changing view of disc degeneration. *Spine J* 2009;9(1): 47e59.
18. Battie MC, Videman T. Lumbar disc degeneration: epidemiology and genetics. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88(Suppl 2): 3e9.
19. Rajasekaran S, Kanna RM, Senthil N, et al. Phenotype variations affect genetic association studies of degenerative disc disease: conclusions

- of analysis of genetic association of 58 single nucleotide polymorphisms with highly specific phenotypes for disc degeneration in 332 subjects. *Spine J* 2013;13(10): 1309e20.
20. Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, et al. The molecular basis of intervertebral disc degeneration. *Spine J* 2013;13(3):318e30.
 21. Yoshihara H, Yoneoka D. National trends in the surgical treatment for lumbar degenerative disc disease: United States, 2000 to 2009. *Spine J* 2015 Feb 1; 15(2):265-71.
 22. Meisel HJ, Agarwal N, Hsieh PC et al. Cell Therapy for Treatment of Intervertebral Disc Degeneration: A Systematic Review. *Global Spine J* 2019 May; 9(1 Suppl):39S-52S.
 23. Brox JI, Sorensen R, Friis A, et al. Randomized clinical trial of lumbar instrumented fusion and cognitive intervention and exercises in patients with chronic low back pain and disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 2003 Sep 1; 28(17):1913-21
 24. Brox JI, Reikera's O, Nygaard Ø, et al. Lumbar instrumented fusion compared with cognitive intervention and exercises in patients with chronic back pain after previous surgery for disc herniation: a prospective randomized controlled study. *Pain* 2006 May; 122(1-2):145-55.
 25. Errico TJ, Gatchel RJ, Schofferman J, et al. A fair and balanced view of spine fusion surgery. *Spine J Sep-Oct 2004; 4(5 Suppl):S129-38.*
 26. Kwon B, Katz JN, Kim DH, et al. A review of the 2001 Volvo Award winner in clinical studies: lumbar fusion versus nonsurgical treatment for chronic low back pain: a multicenter randomized controlled trial from the Swedish lumbar spine study group. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2006 Jan 15 ;31:245-249.
 27. Schol J, Sakai D. Cell therapy for intervertebral disc herniation and degenerative disc disease: clinical trials. *Int Orthop* 2019 Apr; 43(4):1011-1025.

28. Sakai D, Grad S. Advancing the Cellular and Molecular Therapy for Intervertebral Disc Disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2015 Apr; 84:159-7
29. Watanabe T, Sakai D, Yamamoto Y, et al. Human Nucleus Pulposus Cells Significantly Enhanced Biological Properties in a Coculture System With Direct Cell-To-Cell Contact With Autologous Mesenchymal Stem Cells. *J Orthop Res* 2010 May; 28(5):623-30.
30. Tanaka M, Sakai D, Hiyama A, et al. Effect of Cryopreservation on Canine and Human Activated Nucleus Pulposus Cells: A Feasibility Study for Cell Therapy of the Intervertebral Disc. *Biores Open Access* 2013 Aug;2(4):273-82.
31. Vedicherla S, Buckley C. Cell-based Therapies for Intervertebral Disc and Cartilage Regeneration- Current Concepts, Parallels, and Perspectives. *J Orthop Res* 2017 Jan;35(1):8-22.
32. Coric D, Pettine K, Sumich A, et al. Prospective Study of Disc Repair With Allogeneic Chondrocytes Presented at the 2012 Joint Spine Section Meeting. *J Neurosurg Spine* 2013 Jan; 18(1):85-95.
33. Lee JW, Kim YH, Kim SH, et al. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and its clinical applications. *Yonsei Med J* 2004 45:41-47
34. Hoogendoorn RJ, Lu ZF, Kroeze RJ, et al. Adipose Stem Cells for Intervertebral Disc Regeneration: Current Status and Concepts for the Future. *J Cell Mol Med* 2008 Dec; 12(6A):2205-16.
35. Grad S, Alini M, Sakai D, et al. Cell Therapy for Nucleus Pulposus Regeneration In: Grad S, Alini M, Eglin D, et al. Cells and Biomaterials for Intervertebral Disc Regeneration Synthesis Lectures on Tissue Engineering. Morgan & Claypool Publishers, 2010, pp 13-23
36. Richardson SM, Hoyland JA, Mobasheri R, et al. Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Medicine: Opportunities and Challenges for Articular Cartilage and Intervertebral Disc Tissue Engineering. *J Cell Physiol* 2010 Jan;222(1):23-32.

37. Sakai D. Stem Cell Regeneration of the Intervertebral Disk. *Orthop Clin North Am* 2011 Oct;42(4):555-62, viii-ix.
38. Yang F, Leung VY, Luk KD, et al. Mesenchymal Stem Cells Arrest Intervertebral Disc Degeneration Through Chondrocytic Differentiation and Stimulation of Endogenous Cells, *Mol Ther* 2009 Nov; 17(11):1959-66.
39. Sakai D, Mochida J, Yamamoto Y, et al. Transplantation of Mesenchymal Stem Cells Embedded in Atelocollagen Gel to the Intervertebral Disc: A Potential Therapeutic Model for Disc Degeneration. *Biomaterials* 2003 Sep; 24(20):3531-41
40. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, et al. Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Transplanted to a Rabbit Degenerative Disc Model: Potential and Limitations for Stem Cell Therapy in Disc Regeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 2005 Nov 1; 30(21):2379-87.
41. Hiyama A, Mochida J, Iwashina T, et al. Transplantation of Mesenchymal Stem Cells in a Canine Disc Degeneration Model, *J Orthop Res* 2008 May; 26(5):589-600.
42. Henriksson HB, Svanvik T, Jonsson M, et al. Transplantation of Human Mesenchymal Stems Cells Into Intervertebral Discs in a Xenogeneic Porcine Model. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009 Jan 15;34(2):141-8.
43. Wei A, Tao H, Chung SA, et al. The Fate of Transplanted Xenogeneic Bone Marrow-Derived Stem Cells in Rat Intervertebral Discs. *J Orthop Res* 2009 Mar;27(3):374-9.
44. Beeravolu N, Brougham J, Khan I, et al. Human Umbilical Cord Derivatives Regenerate Intervertebral Disc. *J Tissue Eng Regen Med* 2018 Jan;12(1):e579-e591.
45. Fulco I, Miot S, Haug MD, et al. 2014. Engineered autologous cartilage tissue for nasal reconstruction after tumour resection: an observational first-in-human trial. *Lancet* 384:337–346.

46. Tsaryk R, Silva-Correia J, Oliveira JM, et al. 2014. Biological performance of cell-encapsulated methacrylated gellan gum-based hydrogels for nucleus pulposus regeneration. *J Tissue Eng Regen Med*. PMID 25370800.
47. Kafienah W, Jakob M, Demarteau O, et al. 2002. Threedimensional tissue engineering of hyaline cartilage: comparison of adult nasal and articular chondrocytes. *Tissue Eng* 8:817–826.
48. Bujia J. Effect of growth factors on cell proliferation and matrix synthesis in cultured human chondrocytes. *Laryngorhinootologie* 1995 74:444–449.
49. Richmon JD, Sage AB, Shelton E, et al. 2005. Effect of growth factors on cell proliferation, matrix deposition, and morphology of human nasal septal chondrocytes cultured in monolayer. *Laryngoscope* 115:1553–1560.
50. Rotter N, Bonassar LJ, Tobias G, et al. 2001. Age dependence of cellular properties of human septal cartilage: implications for tissue engineering. *Arc Otolaryngol Head Neck Surg* 127:1248–1252.
51. Rotter N, Bonassar LJ, Tobias G, et al. 2002. Age dependence of biochemical and biomechanical properties of tissue-engineered human septal cartilage. *Biomaterials* 23:3087–3094.
52. Tsaryk R, Gloria A, Russo T, et al. 2015. Collagen-low molecular weight hyaluronic acid semi-interpenetrating network loaded with gelatin microspheres for cell and growth factor delivery for nucleus pulposus regeneration. *Acta Biomater* 20:10–21.
53. van Osch GJ, van der Veen SW, Verwoerd-Verhoef HL. 2001. In vitro redifferentiation of culture-expanded rabbit and human auricular chondrocytes for cartilage reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 107:433–440.

54. Quatela VC, Sherris DA, Rosier RN. 1993. The human auricular chondrocyte. Responses to growth factors. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 119:32–37.
55. Tay AG, Farhadi J, Suetterlin R, et al. 2004. Cell yield, proliferation, and postexpansion differentiation capacity of human ear, nasal, and rib chondrocytes. *Tissue Eng* 10:762–770.
56. Isogai N, Kusuhara H, Ikada Y, et al. 2006. Comparison of different chondrocytes for use in tissue engineering of cartilage model structures. *Tissue Eng* 12:691–703.
57. Scotti C, Osmokrovic A, Wolf F, et al. 2012. Response of human engineered cartilage based on articular or nasal chondrocytes to interleukin-1beta and low oxygen. *Tissue Eng Part A* 18:362–372.
58. Ciapetti G, Granchi D, Devescovi V, et al. 2012. Ex vivo observation of human intervertebral disc tissue and cells isolated from degenerated intervertebral discs. *Eur Spine J* 21:S10–S19.
59. Sakai D, Andersson GB. Stem Cell Therapy for Intervertebral Disc Regeneration: Obstacles and Solutions. *Nat Rev Rheumatol* 2015 Apr; 11(4):243-56.
60. Wang F, Shi R, Cai F, et al. Stem Cell Approaches to Intervertebral Disc Regeneration: Obstacles From the Disc Microenvironment. *Stem Cells Dev* 2015 Nov 1;24(21):2479-95.
61. Bibby SR, Jones DA, Ripley RM, et al. 2005. Metabolism of the intervertebral disc: effects of low levels of oxygen, glucose, and pH on rates of energy metabolism of bovine nucleus pulposus cells. *Spine* 30:487–496.
62. Tong W, Lu Z, Qin L, et al. Cell therapy for the degenerating intervertebral disc. *Transl Res* 2017 Mar;181:49-58.

63. Noriega D, Ardura F, Hernández-Ramajo R, et al. Intervertebral Disc Repair by Allogeneic Mesenchymal Bone Marrow Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation* 2017 Aug; 101(8):1945-1951.
64. Gullbrand SE, Malhotra NR, Schaer TP, et al. A Large Animal Model That Recapitulates the Spectrum of Human Intervertebral Disc Degeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 2017 Jan;25(1):146-156.
65. Vadala G, Sowa G, Hubert M, et al. Mesenchymal Stem Cells Injection in Degenerated Intervertebral Disc: Cell Leakage May Induce Osteophyte Formation. *J Tissue Eng Regen Med* 2012 May; 6(5):348-55.
66. Tong W, Lu Z, Qin L, et al. Cell therapy for the degenerating intervertebral disc. *Transl Res* 2017 March;181:49-58
67. Bertram H, Kroeber M, Wang H, et al. Matrix-assisted cell transfer for intervertebral disc cell therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;331:1185–92.
68. Li YY, Diao HJ, Chik TK, et al. Delivering mesenchymal stem cells in collagen microsphere carriers to rabbit degenerative disc: reduced risk of osteophyte formation. *Tissue Eng Part A* 2014;20:1379–91.
69. Bian L, Guvendiren M, Mauck RL, et al. Hydrogels that mimic developmentally relevant matrix and N-cadherin interactions enhance MSC chondrogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013 Jun 18;110(25):10117-22 .
70. Bian L, Zhai DY, Tous E, et al. Enhanced MSC chondrogenesis following delivery of TGF- β 3 from alginate microspheres within hyaluronic acid hydrogels in vitro and in vivo. *Biomaterials* 2011 Sep;32(27):6425-34.
71. Erickson IE, Kestle SR, Zellars KH, et al. High mesenchymal stem cell seeding densities in hyaluronic acid hydrogels produce engineered cartilage with native tissue properties. *Acta Biomater* 2012 Aug;8(8):3027-34.

72. Erickson IE, Kestle SR, Zellars KH, et al. Improved cartilage repair via in vitro prematuration of MSC-seeded hyaluronic acid hydrogels. *Biomed Mater* 2012 Apr;7(2):024110.
73. Kim DH, Martin JT, Elliott DM, et al. Phenotypic stability, matrix elaboration and functional maturation of nucleus pulposus cells encapsulated in photocrosslinkable hyaluronic acid hydrogels. *Acta Biomater* 2015 Jan;12:21-29.
74. Smith LJ, Gorth DJ, Showalter BL, et al. In vitro characterization of a stem-cell-seeded triple-interpenetrating-network hydrogel for functional regeneration of the nucleus pulposus. *Tissue Eng Part A* 2014 Jul;20(13-14):1841-9.
75. D' Este M, Eglin D, Alini M. Lessons to Be Learned and Future Directions for Intervertebral Disc Biomaterials. *Acta Biomater* 2018 Sep 15;78:13-22.
76. Smith LJ, Silverman L, Sakai D, et al. Advancing Cell Therapies for Intervertebral Disc Regeneration From the Lab to the Clinic: Recommendations of the ORS Spine Section. *JOR Spine* 2018 Dec; 1(4):e1036.
77. Yoshikawa T, Ueda Y, Miyazaki K, et al. Disc Regeneration Therapy Using Marrow Mesenchymal Cell Transplantation: A Report of Two Case Studies. *Spine (Phila Pa 1976)* 2010 May 15; 35(11):E475-80.
78. Orozco L, Morera C, Alberca M, et al. Intervertebral Disc Repair by Autologous Mesenchymal Bone Marrow Cells: A Pilot Study. *Transplantation* 2011 Oct 15;92(7):822-8.
79. Centeno C, Markle J, Dodson E, et al. Treatment of Lumbar Degenerative Disc Disease-Associated Radicular Pain With Culture-Expanded Autologous Mesenchymal Stem Cells: A Pilot Study on Safety and Efficacy. *J Transl Med* 2017 Sep 22;15(1):197.
80. Elabd C, Centeno C, Schultz J et al. Intra-discal Injection of Autologous, Hypoxic Cultured Bone Marrow-Derived Mesenchymal

- Stem Cells in Five Patients With Chronic Lower Back Pain: A Long-Term Safety and Feasibility Study. *J Transl Med* 2016 Sep 1;14(1):253.
81. Kumar H, Ha DH, Lee EJ, et al. Safety and Tolerability of Intradiscal Implantation of Combined Autologous Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronic Acid in Patients With Chronic Discogenic Low Back Pain: 1-year Follow-Up of a Phase I Study. *Stem Cell Res Ther* 2017 Nov 15; 8(1):262.
 82. Haufe SM, Mork AR. Intradiscal Injection of Hematopoietic Stem Cells in an Attempt to Rejuvenate the Intervertebral Discs. *Stem Cells Dev* 2006 Feb; 15(1):136-7.
 83. Meisel HJ, Ganey T, Hutton WC, et al. Clinical Experience in Cell-Based Therapeutics: Intervention and Outcome. *Eur Spine J* 2006 Aug; 15 Suppl 3(Suppl 3):S397-405.
 84. Meisel HJ, Siodla V, Ganey T, et al. Clinical Experience in Cell-Based Therapeutics: Disc Chondrocyte Transplantation A Treatment for Degenerated or Damaged Intervertebral Disc. *Biomol Eng* 2007 Feb; 24(1):5-21.
 85. Tschugg A, Diepers M, Simone S, et al. A Prospective Randomized Multicenter Phase I/II Clinical Trial to Evaluate Safety and Efficacy of NOVOCART Disk Plus Autologous Disk Chondrocyte Transplantation in the Treatment of Nucleotomized and Degenerative Lumbar Disks to Avoid Secondary Disease: Safety Results of Phase I-a Short Report. *Neurosurg Rev* 2017 Jan; 40(1):155-162.
 86. Comella K, Silbert R, Parlo M. Effects of the Intradiscal Implantation of Stromal Vascular Fraction Plus Platelet Rich Plasma in Patients With Degenerative Disc Disease. *J Transl Med* 2017 Jan 13; 15(1):12.
 87. Sakai D. Future perspectives of cell-based therapy for intervertebral disc disease. *Eur Spine J* 2008 Dec;17 Suppl 4(Suppl 4):452-8.

88. Peroglio M, Douma LS, Caprez TS, et al. Intervertebral disc response to stem cell treatment is conditioned by disc state and cell carrier: an ex vivo study. *J Orthop Translat* 2017 Mar 31;9:43-51.