

Lökéshullám (Shockwave) terápia

A testen kívüli lökéshullám terápia (ESWT=Extracorporeal Shockwave Therapy) rendkívül ígéretes alternatívát jelent a különböző traumás eredetű izom-, ín-, illetve szalagsérülések, nem vagy nehezen gyógyuló sebek, izom és ízületi fájdalmak kezelésére.

A kezelés során a megfelelő energiaszint és fókusz távolság megválasztásával számos gyógyító folyamat indul el a lökéshullám hatására:

1. Mechanotranszdukció (sejt-mátrix stimulálás)
2. Őssejtek stimulálása (pl. sejtburjánzás, sejtek áteresztő képességének javítása, osztódásuk serkentése)
3. Növekedési faktorok stimulálása (VEGF)
4. Antibakteriális és gyulladáscsökkentő hatás
5. Vérkeringés, véráramlás (mikrocirkuláció) serkentése, angiogenetikus hatás
6. Tenocyták proliferációjának és kollagén termelésének fokozása

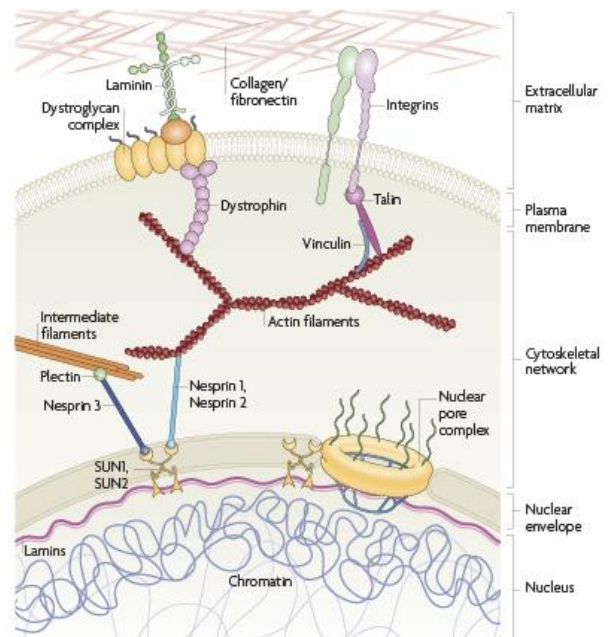
A felsorolt biológiai hatások részletes leírása az alábbiakban olvasható:

1. Mechanotranszdukció:

A sejtten kívüli tér (ECM=extracelluláris mátrix) és a sejtmag közötti kommunikációt a citoskeletális hálózat teszi lehetővé (1. ábra). Ezáltal a sejtekre ható külső mechanikai ingerek továbbíthatók a sejt magja felé, melynek hatására bizonyos belső folyamatok indulhatnak el (pl.: sejtosztódás, -migráció, -differentiálódás, programozott elhalás).

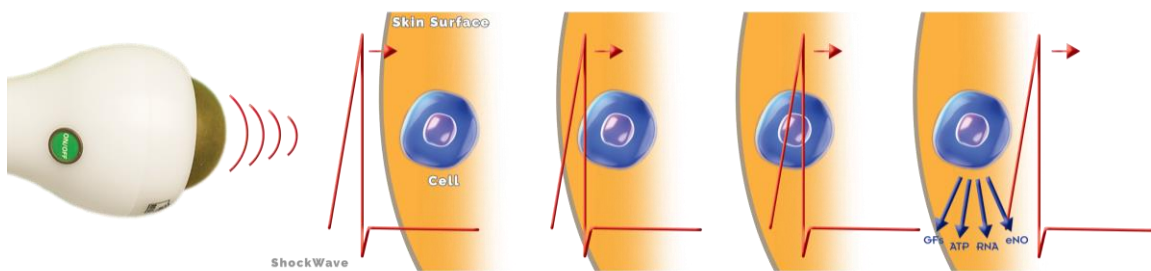
Jaalouk D.E. és Lammerding J. „Mechanotransduction gone awry” című értekezésében több tanulmány eredményét is

1. ábra: Citoskeletális hálózat



összefoglalva igazolják, hogy még az olyan enyhe erők, mint például a vér áramlása is hatással vannak a sejtek működésére. [1] Fizikai jellemzőinek köszönhetően a lökeshullámok összenyomó, nyújtó, vongáló erőhatásoknak teszik ki a sejteket (2. ábra). Így a lökeshullám terápiás készülék által keltett hanghullámok képesek proliferációra (osztódásra), illetve differenciálódásra (specializálódásra) készíteni az őssejteket. Ezen oknál fogva érdemes az őssejtkezelést shockwave terápiával kiegészíteni, a még hatékonyabb szövetgyógyulás, regeneráció elérése érdekében.

2. ábra: A lökeshullám sejtre kifejtett erőhatásai



2. Őssejtek stimulálása:

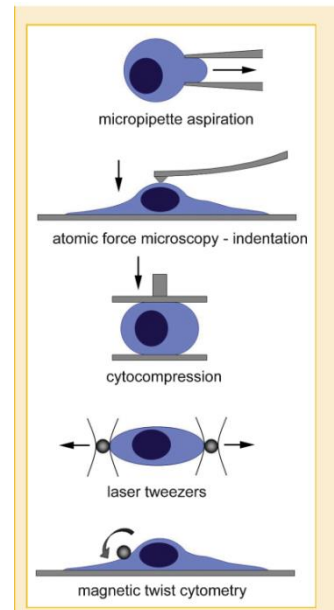
Lee D. A. és munkatársai az "Őssejt mechanobiológia" („Stem Cell Mechanobiology”) című tanulmányában a mechanikai paraméterek őssejtekre gyakorolt hatását elemzik. [2] A lökeshullám-sejt interakció fiziológiai alapja:

- Az őssejtek képesek a környezetükben bekövetkező változásokat észlelni és reagálni rájuk
- A mechanikus erők alkalmazása az őssejtekre differenciálódási folyamatot indíthat el és hajthat végre
- A differenciálódási folyamat befolyásolja a sejtek mechanikai tulajdonságait és a specifikus szubcelluláris komponenseket.

3. ábra: Különböző mechanostimulálási módszerek

Ahogy a 3. ábrán is látható, a fizikai erők széles skáláját alkalmazták az őssejtekénél, hogy a mechanoszenzitivitásukat, azaz a mechanikai hatásokra való érzékenységüket és reagáló-, illetve alkalmazkodó képességüket vizsgálják.

Minden sejt életének fontos tényezői a mechanoszenzitivitás, a mechanikai kontaktus és ezen tényezők változásokból adódó stressz. Elmondhatjuk, hogy az eddig jól ismert funkcióin túl maga a plazmamembrán kiemelkedő szerepet játszik a sejtek mechanikai stressz toleranciájában és ezáltal a mindennapi funkciójuk biztosításában.



Néhány figyelemre méltó kutatás a lökéshullám terápia őssejtekre gyakorolt hatásáról röviden:

- Egy 2002-ben publikált in vitro (laboratóriumi körülmények között végzett) tanulmányban a szerzők megerősítették azt a feltevést, miszerint az ESWT szerepet játszik a mesenchymális progenitor sejtek aktiválásában. A kezelést követően az őssejtek aktivációt és a differenciálódást mutatnak az oszteogén (csontképző) vonal felé. A vizsgálat során a csontvelő-stromális sejtek kolóniaképző egységei jelentős növekedést mutattak. A kolóniák igazoltan osteoblastos eredetűek, és 21 nap után csontcsomókba fejlődtek. A kutatók következtetése az, hogy az ESWT nem csak elősegítheti a csont javítását, hanem egy nem invazív módszert is biztosít a mesenchymális őssejtek ex vivo (élő szervezeten kívüli) kiterjesztésére. [3]
- A sebészeti úton előidézett diaphysealis törésekből származó in vivo (élő szervezetben végzett) állatmodell további bizonyítékot szolgáltatott arra vonatkozóan, hogy az ESWT elősegíti a mesenchymális őssejtek toborzását, proliferációját, valamint a kondrogén (porcképző) és oszteogén differenciálódását. A TGF- β 1 és a VEGF növekedési faktorok expressziója szintén növekedett. [4]
- Egy másik a tanulmányban az ESWT hatását vizsgálták a lovak mesenchymális őssejteinek proliferációjára és differenciálódására. A lökéshullám kezelésnek kitett zsírszövet eredetű őssejtek proliferációja jelentősen növekedett, míg a sejtek öregedésén nem észlelhető változás. A kezelt sejtek mindhárom minta esetében jobb

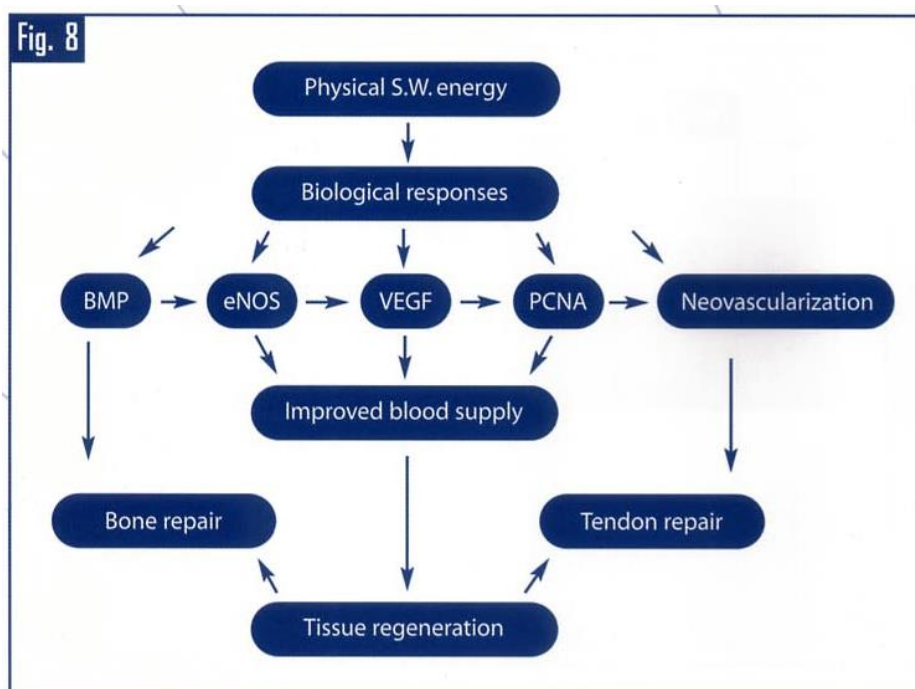
differentiálódási potenciált mutattak a kontrollcsoporthoz képest, így a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a fokozott proliferációs és differenciálódási potenciál kihasználása érdekében a shockwave kezelés alkalmazható az őssejtek ex-vivo előkezelésére az injekció beadása előtt. [5]

3. Növekedési faktorok és jelzőmolekulák felszabadítása:

Wang és munkatársai számos állatkísérletet végzett, hogy tanulmányozzák az ESWT hatásait az ín, csont és ín-csont felületeire. [6]

Az alábbi ábra azt szemlélteti, hogy a fizikai erő (jelen esetben a lökéshullám) alkalmazása hogyan vezet a csont- és az ínszövet javulásához (4. ábra).

4. ábra: Lökéshullám indukálta szövetregeneráció



Az in vivo (élő szervezeten belüli) adatok, azt mutatják, hogy a lökéshullám mechanikai ingere számos, a mechanotranszdució koncepciójával összhangban lévő biológiai hatáshoz vezet:

- A csont-ín határon a lökéshullámmal való érintkezés a vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (Vascular Endothelial Growth Faktor=VEGF), az endotheliális

nitrogén-oxid-szintetáz (endothelial Nitrogen-Oxid Synthase=eNOS) és a proliferáló sejtmag antigén (Proliferating Cell Nuclear Antigen=PCNA) jelentős emelkedéséhez vezet

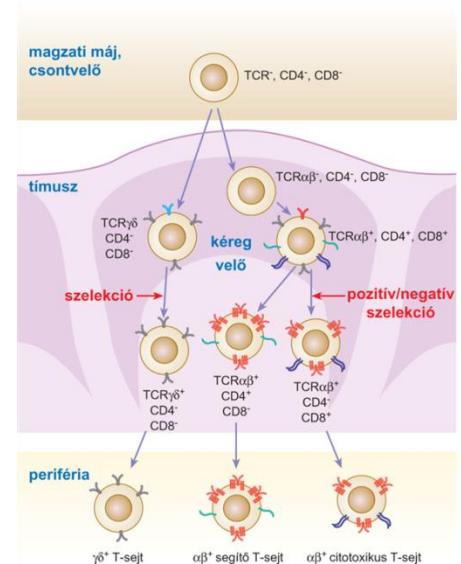
- Fontos tudni, hogy ezek a hatások 4-8 héten át tartanak
- A csont állományában hasonló eredményeket figyeltek meg a kezelés hatására, például emelkedett csontnövekedési faktor szinteket (Bone Morphogenic Protein=BMP) és emellett új vérér/véredény-növekedést
- Érdekes módon ezek a hatások dóziszfüggőnek bizonyultak, továbbá a magasabb energiaszint alkalmazása magasabb biológiai válaszhoz vezetett.

4. Antibakteriális és gyulladáscsökkentő hatás

A Harvard Orvosi Egyetem kutatóival együttműködve Yu T. és munkatársai több antibakteriális és gyulladáscsökkentő molekula részvételét tanulmányozták a már korábban ismertetett jelátviteli útvonalon, melyek szintén nagyban hozzájárulnak az adott szövet gyógyulásához. Elsőként mutatták be, hogy a lökéshullám terápia ATP (adenozin-trifoszfát) felszabadulást eredményez az extracelluláris térben, mely egy fő energiaszállító molekula a sejtekben. Ezen kívül az ATP stimulálja a P2X7 purinerg receptorokat, amelyek indukálják a p38 MAPK és FAK (Fokális Adhéziós Kináz) aktiválódását, ami viszont nagyobb T-sejt proliferációt (osztódást) és interleukin-2 (IL-2) kibocsátást eredményez. A szövetregeneráció szempontjából a legutóbb említett két tényező a legfontosabb. [7]

A T-sejtek az immunreakciók nélkülözhetetlen résztvevői, a sejtes immunválaszért felelősek. A vörös csontvelőben termelődnek, majd a csecsemőmirigyben egy érési folyamaton mennek keresztül, mely során különböző feladatok ellátására specializálódnak: killer- (citotoxikus, ölősejt), helper- (segítő sejt), szupresszor- (gátló sejt), memóriasejt (antigéntalálkozásra emlékező sejt). A killer sejtek az antigének (pl. baktériumok, vírusok, stb.)

5. ábra: T-sejtek érési folyamata



elpusztításában fontosak; a helperek pedig segítik a komplexképzést és a többi immunsejt működését (5. ábra).

Az interleukinek, vagy más néven citokinek, az immunrendszer működését szabályozó mediátorok. Az IL-2 egyik legfontosabb biológiai hatása, hogy T-sejtek stimulációját követően kifejeződik, nagy affinitású receptorokon keresztül nemcsak ezen sejtek osztódását indítja el, hanem egyúttal érzékenyíti azokat az aktivált sejthalál elindítására. Továbbá a citokincsalád egyik, a közelmúltban azonosított tagja gyulladáscsökkentő hatású is.

5. Vérkeringés, véráramlás stimulálása, anyagcsere felgyorsítása:

Holfield J. és munkatársai 2016-ban publikált kutatásuk során felismerték, hogy egy bizonyos receptor (TLR3=Toll-like receptor 3) aktiválása során új vérerek képződése, sarjadzása indul meg, mely kulcsszerepet játszik a szövetek regenerálódásának megindulásában. [8] Ez a bizonyos receptor a veleszületett immunitás részeként van jelen a szervezetben, melyet duplaszálú RNS molekulák képesek aktiválni. Mivel az új vérerek képződése, tehát az angiogenesis egy kezdeti gyulladással válasz függvénye, így a csoport feltételezte a TLR3 érintettségét. A pontos folyamat még nem ismert, de a kutatócsoport felvetése alapján a shockwave kezelés során, a lökéshullámok hatására bizonyos fehérvérsejtek citoplazmájából (a sejtek károsodása nélkül) kijutnak az ott jelen lévő RNS molekulák. Tehát ez a folyamat eredményezi a receptorok aktiválódását, melynek következménye a lokális gyulladás kialakulása és az új véredények képződése.

Az angiogenetikus hatás bizonyítása céljából az alábbi kísérletet végezték el:

Egerek 2 csoportján vizsgálták a lökéshullám terápia hatását:

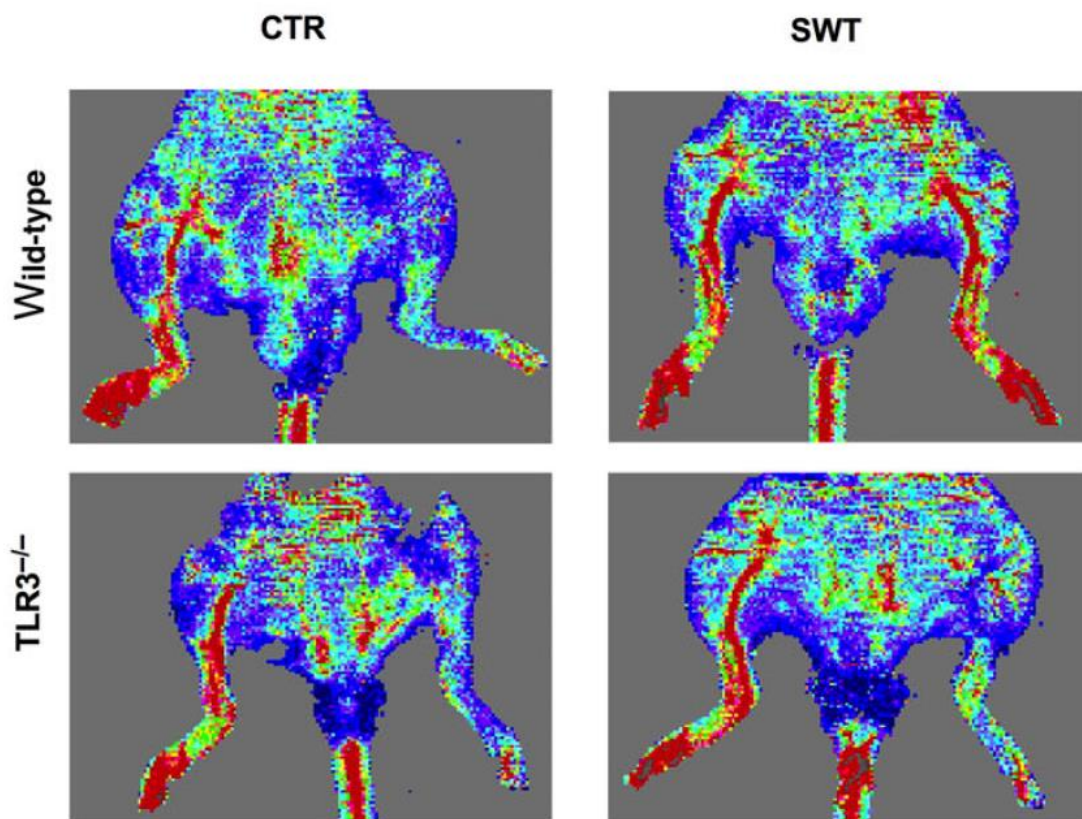
1. csoport: Vad típusú egerek
2. csoport: TLR3 receptorral nem rendelkező egerek

Minden állat egyik hátulsó lábán elkötötték a fő eret, az arteria femoralis-t. Az egyedeket random osztották további 2 csoportba, melyek közül az egyik lökéshullám terápia (SWT) kezelést kapott a lekötés után azonnal, a másik csoport kezelés nélkül maradt (kontroll=CTR).

Végezetül így 4 csoport alakult ki, minden csoportba 6-6 állat került:

1. Vad típusú, kontroll (Wild-type, CTR)
2. Vad típusú, kezelt (Wild-type, SWT)
3. TLR3 receptorral nem rendelkező, kontroll (TLR3^{-/-}, CTR)
4. TLR3 receptorral nem rendelkező, kezelt (TLR3^{-/-}, SWT)

Az eredményt jól szemléltetik az alábbi lézer doppler készülék által készített felvételek, melyek az adott végtag perfúzióját, vérellátását mutatják az egyes csoportok esetén:

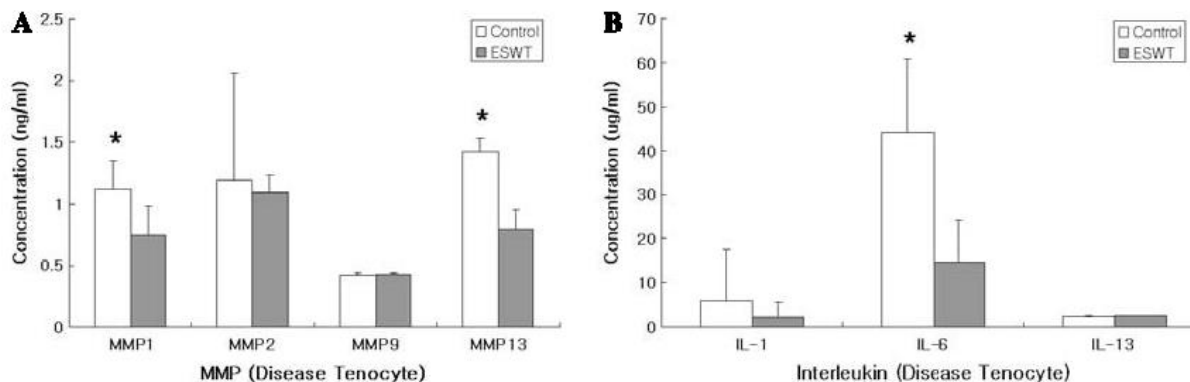


Jól látható, hogy a vad típusú, kezelt csoport esetén (Wild-type, SWT) szinte teljes mértékben helyreállt a lekötött végtag vérellátása a shockwave terápiának köszönhetően. Ez a hatás elmaradt azon egyedek csoportjánál, melyek nem rendelkeznek a TLR3 receptorral, tehát ez bizonyítja, hogy szükség van a receptor jelenlétére az angiogenezis megindulásához.

6. Tenocyták proliferációjának és kollagén termelésének fokozása:

Han S.H. és munkatársai sérült humán tendocytákon (insejteken) vizsgálták a lökéshullám terápia hatásait, és az eredményeket egészséges szövetek értékeivel hasonították össze. [9] Az inak sérülése során, azaz tendinopátia esetén különböző biokémiai változások következnek be az adott területen, melyek magukban foglalják a gyulladással közvetítőket megemelkedését, például a mátrix metalloproteineket (MMP) és különböző citokineket. Az MMP molekulák károsítják az ínszövet mátrixában a kollagén rostokat, melyek a sérült ín gyógyulását csak tovább nehezítik. Kezdetben a sérült szövetben az említett gyulladással mediátorok jelentős növekedése volt látható. Ezután lökéshullám kezelést alkalmaztak a sérült szöveten, melynek hatására jelentősen csökkent mind az MMP-k, mind az interleukinek szintje (6. ábra).

6. ábra: MMP-k és Interleukinek csökkenése ESWT hatására

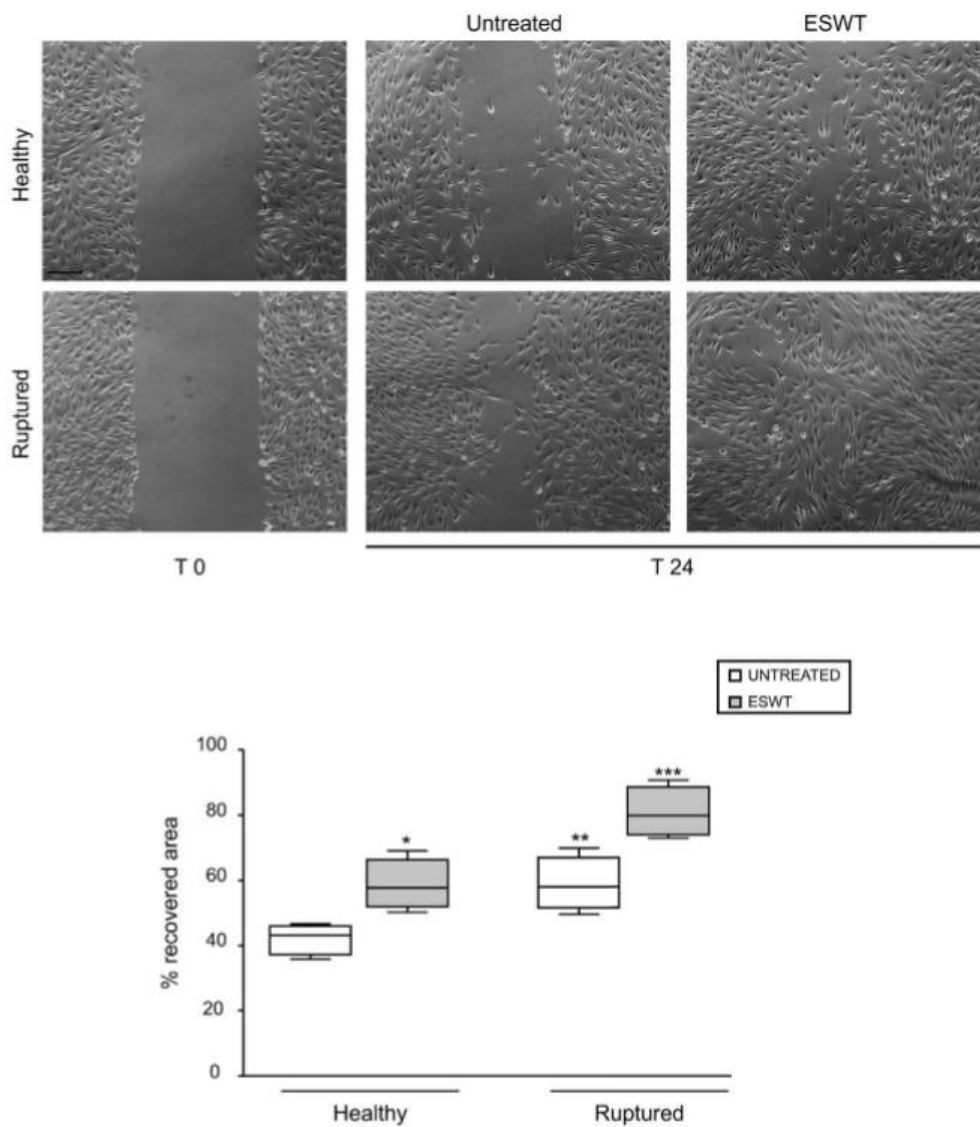


Vetrano M. és munkatársai kutatásaik során megfigyelték, hogy a shockwave kezelés hatására egyes sejtek dedifferenciálódása következett be, mely annyit jelent, hogy az adott sejt elveszti speciális funkcióját, a fejlődésében egy visszalépés történik, és újra őssejtként képes osztódni. Tehát a tenészetben a klasszikusan megnyújtott fibroblaszt-szerű sejtek egyre heterogén, tojásdad alakú tenoblaszt sejtekké alakultak át. Más szempontból szemlélve az ESWT gátolja a tenészettett tenocyták dedifferenciálódását vagy stabilizálódását. Ennek a klinikai jelentősége az lehet, hogy az egészséges, klasszikusan megnyújtott tenocyták olyan I. típusú

kollagén aktív termelői, amelyek nagy szakítószilárdsággal rendelkeznek - míg a sérült sejtek III. típusú kollagént termelnek, melyek kevésbé ideálisak az inak nagy terhelést viselő funkciója szempontjából. [10]

Laura Leone és munkatársai tanulmányukban arról számoltak be, hogy a lökéshullám hatására az egészséges és a sérült tenocyták proliferációja és migrációja is fokozódott, de a sérült sejteké nagyobb mértékben, mely szintén elősegíti a gyógyulási folyamatot. Emellett elvégeztek egy karcolási tesztet is, mely során sokkal gyorsabb és teljesebb szövetgyógyulás mutatkozott a shockwave terápia hatására, mint a nem kezelt kontroll ínszöveten (7. ábra). [11]

7. ábra: Karcolási teszt



IRODALOMJEGYZÉK:

- [1] Jaalouk, Diana E., and Jan Lammerding. "Mechanotransduction Gone Awry." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 10.1 (2009): 63-73
- [2] Lee, David A., Martin M. Knight, Jonathan J. Campbell, and Dan L. Bader. "Stem Cell Mechanobiology." *Journal of Cellular Biochemistry* 112.1 (2010): 1-9
- [3] Wang, F.-S., C.-J. Wang, S.-M. Sheen-Chen, Y.-R. Kuo, R.-F. Chen, and K. D. Yang. "Superoxide Mediates Shock Wave Induction of ERK-dependent Osteogenic Transcription Factor (CBFA1) and Mesenchymal Cell Differentiation toward Osteoprogenitors." *Journal of Biological Chemistry* 277.13 (2002): 10931-0937.
- [4] Chen, Yeung-Jen, Tilmann Wurtz, Ching-Jen Wang, Yur-Ren Kuo, Kuender Yang, Hue-Chen Huang, and Feng-Sheng Wang. "Recruitment of Mesenchymal Stem Cells and Expression of TFG-B1 and VEGF in the Early Stage of Shock Wave Promoted Bone Regeneration of Segmental Defect in Rats." *Journal of Orthopaedic Research* 22 (2004): 526-534.
- [5] Raabe, O., K. Shell, A. Goessl, C. Crispens, Y. Delhasse, A. Eva, G. Scheiner-Bobis, S. Wenisch, and S. Arnhold. "Effect of Extracorporeal Shock Wave on Proliferation and Differentiation of Equine Adipose Tissue-derived Mesenchymal Stem Cells in Vitro." *American Journal of Stem Cells* 2.1 (2013): 62-73.
- [6] Wang, Ching-Jen, MD, Feng-Sheng Wang, PhD, and Kuender D. Yang, PhD. "Biological Mechanism of Musculoskeletal Shockwaves." *International Society for Musculoskeletal Shockwave Therapy - ISMST Newsletter* (2003)
- [7] Yu, T., W. G. Junger, C. Yuan, A. Jin, Y. Zhao, X. Zheng, Y. Zeng, and J. Liu. "Shockwaves Increase T-cell Proliferation and IL-2 Expression through ATP Release, P2X7 Receptors, and FAK Activation." *AJP: Cell Physiology* 298.3 (2009): n. pag. Web.
- [8] Holfeld, Johannes, Can Tepekoylu, Christin Reissig, Daniela Lobenwein, Bertram Scheller, Elke Kirchmair, Radoslaw Kozaryn, Karin Albrecht-Schgoer, Christoph Krapf, Karin Zins, Anja Urbschat, Kai Zacharowski, Michael Grimm, Rudolf Kirchmair, and Patrick Paulus. "Toll-like Receptor 3 Signaling Mediates Angiogenic Response upon Shock Wave Treatment of Ischaemic Muscle." *European Society of Cardiology - Cardiovascular Research* 109 (2016): 331-43. Print.
- [9] Han, Seung Hwan, Jin Woo Lee, Gregory P. Guyton, Brent G. Parks, Jean-Paul Courneya, and Lew C. Schon. "Effect of Extracorporeal Shock Wave Therapy on Cultured Tenocytes." *Foot & Ankle International* 30.02 (2009): 93-98.

[10] Vetrano, Mario, Federica D'Alessandro, Maria Rosaria Torrisi, Andrea Ferretti, Maria Chiara Vulpiani, and Vincenzo Visco. "Extracorporeal Shock Wave Therapy Promotes Cell Proliferation and Collagen Synthesis of Primary Cultured Human Tenocytes." *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 19.12 (2011): 2159-168.

[11] Leone, Laura, Mario Vetrano, Danilo Ranieri, Salvatore Raffa, Maria Chiara Vulpiani, Andrea Ferretti, Maria Rosaria Torrisi, and Vincenzo Visco. "Extracorporeal Shock Wave Treatment (ESWT) Improves In Vitro Functional Activities of Ruptured Human Tendon-Derived Tenocytes." *PLoS ONE* 7.11 (2012): n. pag.