

Thomas Hügler¹, Martin Majewski², Victor Valderrabano¹

¹ Orthopädische Universitätsklinik Basel, Universitätsspital Basel, 4031 Basel, Schweiz

² Orthopädische Universitätsklinik Basel - Standort Samedan, Spital Oberengadin, Samedan, Schweiz

Zell- und molekularbiologische Abläufe bei der Heilung von Sehnenverletzungen

Zusammenfassung

Sehnenverletzungen sind häufig und trotz adäquater chirurgischer Behandlung oft langwierig. Aus molekularbiologischer Sicht ist der Heilungsprozess von Sehnen komplex. Die Infiltration von Entzündungszellen und die Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren ist zeitlich genau gesteuert. Der entzündlichen Phase folgt eine proliferative und schliesslich die remodulierende Phase. Basierend auf diesem Wissen beinhalten neue Behandlungsstrategien die zeitlich gesteuerte Zytokin- oder Wachstumshormonfreisetzung z.B. von Kollagenen sowie zell- und gentherapeutische Ansätze.

Schweizerische Zeitschrift für «Sportmedizin und Sporttraumatologie» 60 (2), 49–51, 2012

Abstract

Tendon injuries are a common clinical feature in sports medicine. Despite adequate surgical repair, the healing process of tendons is prolonged. From a molecular point of view, this healing process is highly complicated. Both cell infiltration and the release of growth factors within the tendon are well orchestrated. An initial inflammatory phase is followed by a proliferative and finally a remodelling phase. New treatment options are currently investigated including the asynchronous release of growth factors from collagen matrices, as well as cellular and genetic therapy based approaches.

Einleitung

Sehnenverletzungen stellen ein häufiges klinisches Bild in der Sportmedizin dar. Diese können als akute Verletzung oder im Rahmen einer dauerhaften Überlastungsreaktion wie z.B. beim Laufsport auftreten [1]. Der Heilungsverlauf bei Sehnenverletzungen auf zellulärer und molekularer Ebene ist komplex und langwierig, und viele Einzelheiten der Sehnenheilung sind noch nicht geklärt. Sicher ist, dass es sich um einen zeitlich abgestimmten, exakt orchestrierten Ablauf mit fester Abfolge von Zellinfiltration, Zytokin- und Wachstumshormonfreisetzung sowie Matrixdeposition handelt. Diese Abläufe sowie darauf beruhende Therapieoptionen werden im folgenden Artikel beschrieben.

Aufbau der Sehne

Die molekularen Hauptelemente einer Sehne sind die parallel angeordneten Typ-1 Kollagen-Fasern sowie verschiedene Glykoproteine. Innerhalb der Sehne sind verschiedene Zelltypen zu finden, allen voran die Tenozyten, welche sich aus Tenoblasten differenzieren (*Abb. 1A*) [2]. An den Insertionsstellen der Sehne am Knochen werden auch Fibrochondrozyten beschrieben, die ähnlich wie Knorpelzellen in Säulen angeordnet sind. Im Endotenon und Epitenon sind ähnlich wie im Gelenk Synovialzellen zu finden; von dort erfolgt auch die vaskuläre Versorgung der Sehne. Proteoglykane in der Sehne sind als stark negativ geladene Moleküle osmotisch wirksam und für den Wassergehalt der Sehne verantwortlich. Es wird postuliert, dass Letzteres die Gleiteigenschaft von Sehnen verbessert [3]. Insgesamt ist durch den hohen Matrixanteil und die geringe Durchblutung der metabolische Umsatz im Vergleich zu anderen anatomischen Strukturen deutlich geringer, was den langen Heilungsverlauf bei Sehnenverletzungen erklärt.

Sehnenheilung

Bei einem Riss oder Anriss einer Sehne im Rahmen einer Sportverletzung kommt es zuerst zu einer lokalen Blutung. Dabei lagern sich Thrombozyten und Fibrin an die innerlichen Wundränder (*Abb. 1B*) [4]. Thrombozyten enthalten verschiedene Wachstumsfaktoren wie platelet derived growth factor (PDGF) oder transforming growth factor (TGF) beta [5]. Durch den Kontakt mit dem Gewebe werden die Gerinnungskaskade und das Komplementsystem aktiviert. Dies führt zur Einwanderung von Entzündungszellen, typischerweise Neutrophile Granulozyten und Monozyten oder Makrophagen (*Abb. 1C*) [6, 7]. Neben der Phagozytose von Zellschutt bewirkt die nun gestartete Entzündungskaskade die Freisetzung von entzündlichen Zytokinen wie Interleukin (IL)-1 oder Tumor Necrosis Factor (TNF) [8].

Auch die hochnegativ geladenen Proteoglykane spielen bei dieser Phase eine Rolle, indem sie z.B. Entzündungszellen anziehen, speziell wenn die Sehne bereits degenerativ verändert war [9]. Im Anschluss an die Aktivierung der Zellen des inerten Immunsystems (Monozyten und Makrophagen) kommt es im Verlauf zur Einwanderung von Lymphozyten als Zellen des adaptiven Immunsystems [10]. Somit wird sichergestellt, dass eventuell vorhandene Antigene unter Mithilfe von Antigen-präsentierenden Zellen eine dauerhafte Immunantwort auslösen. Ausserdem produzieren Lymphozyten das antientzündliche IL-10 und TNF-Rezeptor 2 (welcher TNF neutralisiert) und leiten damit die Abheilung der Entzündungsreaktion ein [8].

Als zweite wichtige Phase kommt es im Anschluss zur Proliferationsphase (*Abb. 1D*). Dies geschieht teilweise unter Bewegung, da die Sehne sonst der Gefahr der Adhäsierung unterliegt. Stromale Zellen mesenchymalen Ursprungs wandern aus dem Epitenon und Endotenon zum Gewebedefekt und differenzieren sich in Tenoblasten und schliesslich Tenozyten. Myofibroblasten produzieren

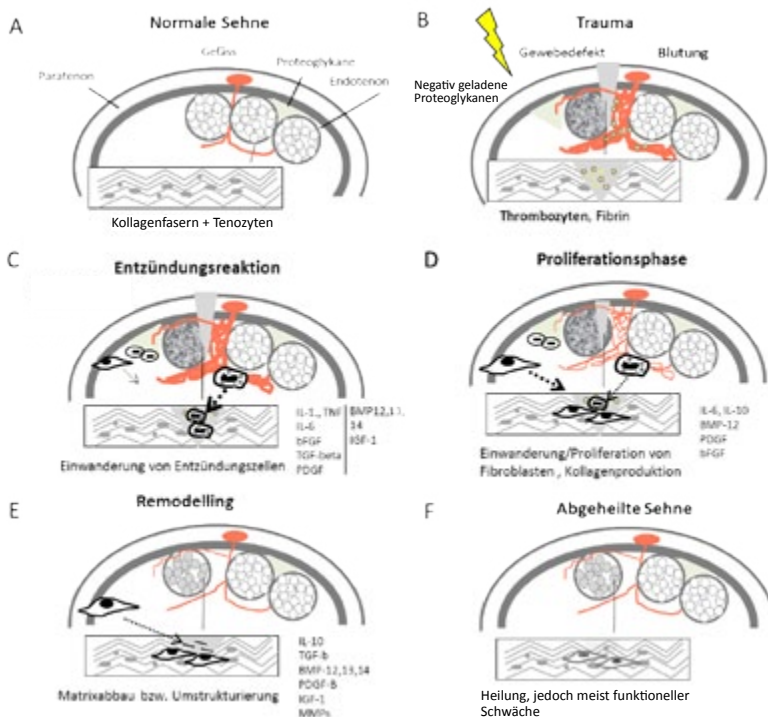


Abbildung 1: Ablauf der verschiedenen Phasen bei der Sehnenheilung mit festgelegtem Ablauf bezüglich Zellinfiltration, Zytokin- und Wachstumsfaktorexpression sowie Matrixstrukturierung.

kontraktile Elemente wie z.B. alpha-smooth muscle actin (SMA). Letzteres kann dabei helfen, die Wundränder zusammenzuziehen.

Wachstumsfaktoren spielen während des gesamten Heilungsverlaufs eine grosse Rolle [11]. Dabei ist die zeitliche Abfolge deren Expression wichtig. Initial steht TGF-beta, bone morphogenic protein (BMP)12, 13 und 14 sowie PDGF im Vordergrund. PDGF ist ein «master switch» und verstärkt die Bildung von anderen Wachstumsfaktoren wie Insulin-like growth factor (IGF)-1. Ausserdem lockt PDGF verschiedene Zellen an und ist am Umbau der Kollagenstruktur beteiligt. TGF-beta reguliert die Kollagenproduktion bei mechanischer Belastung, zumindest unter physiologischen Bedingungen. Nach dem Trauma ist TGF-beta verantwortlich für die frühe Narbenbildung, reguliert aber auch im Verlauf die endgültige Narbenbildung [12]. IGF-1 stimuliert die Migration von stromalen Zellen aus dem Epitenon und ist am remodelling der Sehne beteiligt. Weitere bei der Sehnenheilung beteiligte Wachstumsfaktoren sind basic fibroblast growth factor (bFGF) und BMP [13].

Inwieweit die mechanische Belastung den Ablauf der Wachstumsfaktoren oder Zytokine während der Sehnenheilung beeinflusst, ist bis dato nicht geklärt. Gleichwohl scheint der mechanische Stimulus speziell bei der Proliferation und Remodellingphase eine wichtige Rolle zu spielen, wenn klinisch die Schmerzen zurückgehen und der Patient anfängt sich zu bewegen. So konnte analog im Gelenk gezeigt werden, dass das stark antientzündliche Interleukin-10 bei Bewegung freigesetzt wird und a priori hilft, von der Entzündungsreaktion in die Proliferations- bzw. Remodellingphase überzutreten [14].

Neue therapeutische Ansätze

Die Wundheilung bei der Sehne ist komplex und somit auch ihre Therapie. Insbesondere, da der Heilungsprozess ab einem gewissen Zeitpunkt unter Bewegung abläuft. Trotz optimaler chirurgischer Versorgung dauert die biologische Heilung mehrere Wochen. Verschiedene neue Therapieansätze versuchen diesen Prozess zu verkürzen. Platelet rich plasma (PRP) wird durch einfache Zentrifugierung von Blut hergestellt und enthält natürliche Wachstumsfaktoren und antientzündliche Mediatoren. Einzelne kontrollierte

Studien suggerieren hierbei einen positiven Effekt, wie z.B. bei der Rotatorenmanschetten-Ruptur. Neuere Ansätze haben Wachstumsfaktoren entweder einzeln oder als Cocktail in Form von PRP bei der Sehnenheilung verglichen [15]. Hier konnte nachgewiesen werden, dass die Mischung verschiedener Wachstumsfaktoren in Serum zwar schneller vorantreibt, mechanisch aber bessere Ergebnisse erzielt werden, wenn nur mit BMP-12 und TGF-beta behandelt wird. Dies zeigt, dass Wachstumsfaktoren gezielt und zum richtigen Zeitpunkt eingesetzt werden sollten. Neue Konzepte beschäftigen sich deshalb damit, Matrices einzusetzen, die Wachstumsfaktoren sequentiell freisetzen und dadurch der natürliche Heilungsvorgang nachgeahmt wird. Im Tierversuch werden bereits gentechnologische Ansätze erprobt, bei denen z.B. Muskelgewebstücke gentechnisch TGF-beta überproduzieren und dieses dann zur Sehnennaht verwendet wird [16]. Ein weiterer Ansatzpunkt sind Stamm- oder Vorläuferzellen, welche z.B. aus dem Fettgewebe entnommen werden und sich nach der Implantation in die Sehne in Tenozyten differenzieren bzw. Wachstumsfaktoren sezernieren sollen. In Tierversuchen hat sich hier bereits ein positiver Effekt dieser Vorläuferzellen herausgestellt [17]. In der Tat ist die Fibroblast growth factor (FGF) und Kollagen-Expression nach einer Stammzellbehandlung in der Sehne erhöht, was sich im Tierversuch in einer besseren mechanischen Funktion widerspiegelt. Allerdings ist die Zelltherapie für Sehnenverletzungen beim Menschen bezüglich Wirksamkeit und Sicherheit noch nicht eingehend untersucht worden und bleibt durch den hohen regulatorischen Aufwand und die entstehenden Kosten zunächst einzelnen Zentren vorbehalten.

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Dr. phil. Thomas Hügler, Leiter orthopädische Forschung, Orthopädische Klinik, Universitätsspital Basel, Spitalstrasse 21, 4031 Basel, Switzerland, Tel. +41 61 328 7823, Fax. +41 61 265 7829, E-Mail: THuegle@uhbs.ch

Literaturverzeichnis

- James SL, Bates BT, Osternig LR. Injuries to runners. *Am J Sports Med* 1978; 6(2):40–50.
- Amiel D, Frank C, Harwood F, Fronck J, Akeson W. Tendons and ligaments: a morphological and biochemical comparison. *J Orthop Res* 1984; 1(3):257–65.
- Kannus P. Structure of the tendon connective tissue. *Scand J Med Sci Sports* 2000; 10(6):312–20.
- Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Front Biosci* 2008; 13:3532–48.
- Oliva F, Gatti S, Porcellini G, Forsyth NR, Maffulli N. Growth factors and tendon healing. *Med Sport Sci* 2012; 57:53–64.
- Dakin SG, Werling D, Hibbert A, Abayasekara DR, Young NJ, Smith RK et al. Macrophage sub-populations and the lipoxin A4 receptor implicate active inflammation during equine tendon repair. *PLoS One* 2012; 7(2):e32333.
- Kawamura S, Ying L, Kim HJ, Dinybil C, Rodeo SA. Macrophages accumulate in the early phase of tendon-bone healing. *J Orthop Res* 2005; 23(6):1425–32.
- Schulze-Tanzil G, Al-Sadi O, Wiegand E, Ertel W, Busch C, Kohl B et al. The role of pro-inflammatory and immunoregulatory cytokines in tendon healing and rupture: new insights. *Scand J Med Sci Sports* 2011; 21(3):337–51.
- Parkinson J, Samiric T, Ilic MZ, Cook J, Handley CJ. Involvement of proteoglycans in tendinopathy. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2011; 11(2):86–93.
- Wojciak B, Crossan JF. The accumulation of inflammatory cells in synovial sheath and epitenon during adhesion formation in healing rat flexor tendons. *Clin Exp Immunol* 1993; 93(1):108–14.

- 11 James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra AB. Tendon: biology, biomechanics, repair, growth factors, and evolving treatment options. *J Hand Surg Am* 2008; 33(1):102–12.
- 12 Klein MB, Yalamanchi N, Pham H, Longaker MT, Chang J. Flexor tendon healing in vitro: effects of TGF-beta on tendon cell collagen production. *J Hand Surg Am* 2002; 27(4):615–20.
- 13 Mehta V. Bone morphogenetic proteins for tendon injuries: an orthopedic primer. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)* 2005; 34(9):451–4.
- 14 Helmark IC, Mikkelsen UR, Borglum J, Rothe A, Petersen MC, Andersen O et al. Exercise increases interleukin-10 levels both intraarticularly and peri-synovially in patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Arthritis Res Ther* 2010; 12(4):R126.
- 15 Heisterbach PE, Todorov A, Fluckiger R, Evans CH, Majewski M. Effect of BMP-12, TGF-beta1 and autologous conditioned serum on growth factor expression in Achilles tendon healing. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2011.
- 16 Majewski M, Porter RM, Betz OB, Betz VM, Clahsen H, Fluckiger R et al. Improvement of tendon repair using muscle grafts transduced with TGF-beta1 cDNA. *Eur Cell Mater* 2012; 23:94–101.
- 17 Uysal CA, Tobita M, Hyakusoku H, Mizuno H. Adipose-derived stem cells enhance primary tendon repair: Biomechanical and immunohistochemical evaluation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2012.