

Wirkungsmechanismus der extrakorporalen Stoßwellentherapie

Stoßwellentherapie hat einen Einfluss auf multiple zelluläre, subzelluläre und molekulare Systeme, vermittelt über den Mechanismus der Mechanotransduktion. Hierbei können die Proliferation, Migration und Differenzierung verschiedenster Effektorzelltypen positiv beeinflusst werden. Durch die Stoßwellen werden unter anderem Angio-/Vaskulogenese und Lymphogenese angeregt, die Knochen- und Wundheilung gefördert und die Gewebeeinflammation moduliert.



R. Mittermayr, Wien

Lange Zeit herrschte die Hypothese der Mikroläsion und der damit initiierten Gewebereparatur bei der extrakorporalen Stoßwellentherapie (ESWT) als zentraler Wirkmechanismus vor. Rezente Forschungsergebnisse legen allerdings die Mechanotransduktion und die damit verbundene Aktivierung der endogenen Regenerationspotenziale nahe.

Es konnte bereits in zahlreichen Studien gezeigt werden, dass eine Vielzahl an verschiedenen Wachstumsfaktoren und Zy-

tokinen als Antwort auf die ESWT verstärkt exprimiert wird. Diese fungieren als Stimulus für die im Zusammenhang mit der Stoßwellentherapie beobachteten Effekte wie Angiogenese, (Stamm-) Zellaktivierung und Modulation der Inflammation. Mittlerweile konnte eine Reihe an Wirkungsmechanismen und Signaltransduktionswegen aufgeklärt werden. Diese Erkenntnisse tragen entscheidend zum Verständnis der schonenden und nicht invasiven ESWT als effektive

Therapiemöglichkeit bei einer Vielzahl von Pathologien bei.

Keine Gewebsschädigungen bei sachgerechter Anwendung

Die biologische Interaktion von Stoßwellen mit dem im Applikationsfeld liegenden Gewebe wurde erstmals durch Haupt (deutscher Urologe, 1990) bei Röntgenkontrolluntersuchungen nach Lithotripsie von Ureterkonkrementen beobachtet.¹ In deren Rahmen kam ein deutlicher Knochenzuwachs (Hypertrophie) im Bereich des Os ileum zum Vorschein. In der Folge wiesen vereinzelte Studien bei den verwendeten hohen Energieflussdichten, wie sie für die Lithotripsie zur Anwendung kommen, ossäre Mikroläsionen nach, die hauptverantwortlich für die beobachtete Osteogenese gemacht wurden. Diese mechanistische, großteils desintegrative Wirkung der ESWT blieb lange Zeit (stellenweise bis dato) als Hypothese des Wirkungsmechanismus der ESWT bei nicht urologischen Indikationen (z.B. Pseudarthrose, Tendinopathien mit oder ohne Kalkeinlagerung) erhalten. Die Forschungen der letzten Dekade konnten allerdings klar widerlegen, dass es bei sachgerechter Anwendung der ESWT zu Gewebsschädigungen kommt (selbst bei Pseudarthrosenbehandlung oder Kalkdepot), sodass heutzutage vielmehr ein biologisches Wirkungsmodell favorisiert

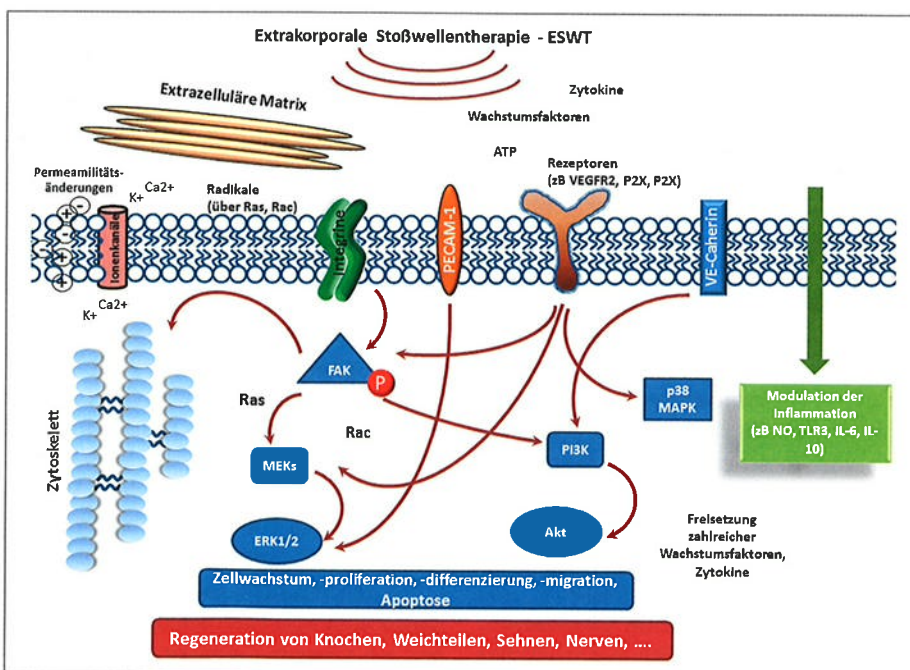


Abb. 1: Wirkmechanismus (Mechanotransduktion) und ausgewählte Signaltransduktionswege, über welche die extrakorporale Stoßwellentherapie wirkt

wird, welches zunehmend durch valide experimentelle und klinische Daten bestätigt wird. In dieser Arbeit soll ein Überblick über die bis dato wichtigsten Wirkmechanismen bei der extrakorporalen Stoßwellentherapie gegeben werden.

Mechanotransduktion und die biologische Antwort auf einen Stoßwellenimpuls

Unter Mechanotransduktion versteht man die Übertragung eines mechanischen Impulses auf ein Gewebe und dessen Umwandlung in eine biologische Reaktion. Zunächst kommt es durch mechanosensitive Elemente zur Mechanorezeption, welche wiederum ein sogenanntes „biochemical coupling“ initiiert (Transformation in ein biochemisches Signal) und damit die intrazelluläre Signaltransduktion aktiviert, an deren Ende letztlich die zelluläre Antwort steht (Review²).

Mechanorezeption und intrazelluläre Signaltransduktion

Zahlreiche Strukturen realisieren das Prinzip der Mechanosensitivität. Dazu zählen unter anderem die extrazelluläre Matrix, Ionenkanäle, die Glycokalix, Zell-Zell-Adhäsionskomplexe, Zell-Matrix-Fokal-Adhäsionskomplexe und das Zytoskelett. An verschiedenen Zelltypen und In-vivo-Experimenten konnte bereits gezeigt werden, dass einige dieser Strukturen (Integrine, „focal adhesion kinase“ – FAK, Zytoskelett, Ca- und K-Ionenkanäle) bei der Übertragung der akustischen Energie von extrakorporalen Stoßwellen involviert sind.

Integrine sind Zelloberflächenrezeptoren, bestehend aus transmembranären Heterodimeren, die in erster Linie die Zelladhäsion und -migration vermitteln, aber auch an der Zellproliferation, -differenzierung und -apoptose beteiligt sind. In Osteoblasten konnte nachgewiesen werden, dass es als Reaktion auf die Stoßwellenbehandlung unmittelbar zu einer erhöhten Expression von $\alpha 5\beta 1$ -Integrin an der Zelloberfläche kommt (klassischer Fibronectinrezeptor). Dies führt wiederum zur Phosphorylierung (Aktivierung) der Integrin-abhängigen „focal adhesion kinase“ (FAK), die Signale von der extrazellulären Matrix in das Zytoplasma vermittelt. Als intrazellulärer Signaltrans-

duktionsweg fungiert ERK1/2 (aktiviert über MEK1/2), das zu einer vermehrten Osteoblastenadhäsion, -verteilung und -migration führt und über diesen Weg die Frakturheilung stimulieren soll.³

Der „Mitogen-activated protein“ (MAP)-Kinase-Signaltransduktionweg ist eine mehrstufige Kaskade hintereinander geschalteter Kinasen, die unter anderem die Zelldifferenzierung, das Zellwachstum und die Apoptose regulieren. Es können prinzipiell drei unterschiedliche MAP-Kinase-Signalwege unterschieden werden:

- 1) Mitogene oder Wachstumsfaktoren aktivieren die Kaskade RAF \rightarrow MEK1/2 \rightarrow ERK1/2; beeinflusst Zellwachstum, Zellproliferation und Differenzierung.
- 2) Zytokine aktivieren die Kaskade MLKs/TAK/ASK1 \rightarrow MKK 3/6 \rightarrow p38/MAPK- $\alpha\beta$; beeinflusst Entzündung, Apoptose, Wachstum oder Differenzierung.
- 3) Stress, UV-Licht, Hitzeschock oder osmotischer Schock aktiviert die Kaskade MLKs/ASK-1/MEKK-1/4 \rightarrow MKK-4/7 \rightarrow SAPK/JNK-1/2/3; beeinflusst Entzündung, Apoptose, Wachstum oder Differenzierung.

An einem Knochendefektmodell konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass die Aktivierung von ERK und p38/MAPK einen entscheidenden Einfluss auf die Knochenheilung hat, indem sie die mitogene Aktivität für die Chondro- und Osteogenese stimuliert.⁴ Die gleiche Gruppe wies Radikale (Superoxide) als Stoßwellengenerierte Stimuli für eine ERK-Phosphorylierung in Osteoblasten nach (über Aktivierung von RAS- und RAC1-Protein), was in weiterer Folge zu einer verstärkten Expression von HIF-1 α (auf mRNA und Proteinebene) und VEGF führte. Als Konsequenz konnte eine gesteigerte Angiogenese gezeigt werden.⁵ Ebenfalls über den gleichen Mechanismus (Radikalbildung – ERK-Aktivierung) konnte eine vermehrte Proliferation und Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen in Osteoprogenitorzellen durch den osteogenen Transkriptionsfaktor CBFA1 gezeigt werden, die wiederum in einer vermehrten Osteogenese münden.⁶

In endothelialen Zellen (in vitro und in vivo) wurde ein mechanosensorischer Komplex, bestehend aus VEGFR-2, VE-Cadherin und PECAM-1 gefunden, der

durch niedrigenergetische Stoßwellentherapie stimuliert wird und ebenfalls zu einer Phosphorylierung von ERK1/2 führt. Neben dieser Aktivierung kommt es auch zur weiteren Stimulierung des PI3-AKT-eNOS-Signaltransduktionswegs. Konsequenterweise werden proangiogene Proteine hochreguliert, was zu einer vermehrten Endothelzellmigration und Angiogenese führt. Bereits in zahlreichen früheren Arbeiten wurde die Stimulierung von proangiogenen Wachstumsfaktoren (z.B. VEGF, Ang) als Reaktion auf die Stoßwellentherapie nachgewiesen.⁷ Neuere Studien zeigen nicht nur die Blutgefäß-neubildende Wirkung, sondern auch einen positiven Effekt auf die Lymphgefäße (verstärkte Expression der lymphogenen Marker VEGF-C, VEGFR-3 und Podoplanin).⁸

Permeabilitätsänderungen an der Zellmembran konnten ebenfalls in Zusammenhang mit der Wirkung der Stoßwelle auf Osteoblasten gebracht werden. Die Behandlung hatte eine Erhöhung der transmembranären Stromflusses sowie der Spannungsabhängigkeit von Ca-aktivierten Kanälen und K-Kanälen, die diese Ströme vermitteln, zur Folge. Diese Modifikation der Ionenkanalaktivität hatte wiederum einen positiven Einfluss auf die Zellproliferation der Osteoblasten.⁹

Ein weiterer interessanter Aspekt im Zusammenhang mit dem Wirkmechanismus der Stoßwelle ist die Freisetzung von zellulärem ATP. Es konnte anhand von mesenchymalen Stammzellen gezeigt werden, dass das freigesetzte ATP über einen autokrinen/parakrinen Mechanismus den purinergen Rezeptor P2X7-Rezeptor (ATP-kontrollierter, nichtselektiver Ionenkanal) aktiviert, die Transkription von c-jun und c-fos mRNA stimuliert und über die Aktivierung von p38/MAPK zu einer osteogenen Differenzierung der Stammzellen führt.¹⁰ In T-Zellen wurden neben der Freisetzung von ATP und der Aktivierung des P2X7-Rezeptors sowie der p38/MAPK auch eine Phosphorylierung der FAK und die Expression von IL-2 beobachtet, was zu einer Modulation der Immunfunktion der T-Zellen führt.¹¹ In drei unterschiedlichen Zellen konnten diese Ergebnisse von unserer Gruppe bestätigt werden. Auf die Freisetzung von ATP kam es zu einer verstärkten Aktivierung von ERK1/2

und p38/MAPK, die zu einer vermehrten Proliferation dieser drei Zelltypen führte. Dies konnte auch in vivo in einem Wundheilungsversuch bestätigt werden.¹²

Die Behandlung von Fettstammzellen („adipose derived stem cells“) mit Stoßwellen zeigte ebenfalls über die Aktivierung von ERK1/2 eine erhöhte Proliferations- und Differenzierungskapazität im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.¹³

Zudem konnte auch ein Einfluss auf die Zellkommunikation (Veränderung an „Gap junction“-Proteinen) nachgewiesen werden. Weiters führten repetitive Stoßwellenbehandlungen in vitro bei Fettstammzellen nicht nur zu einer erhöhten Expression bzw. Persistenz von mesenchymalen Markern, sondern resultierten in einer erhöhten Kapazität zur Differenzierung in osteogene und adipogene Zelllinien sowie in Schwann-Zell-ähnliche Zellen, was ein Hinweis auf den Erhalt der Multipotenz der Fettstammzellen ist.¹⁴

Stammzellen werden nicht nur in ihrer Proliferation und dem Differenzierungsverhalten durch die Stoßwellen positiv beeinflusst, sondern es kommt auch zu einer vermehrten Mobilisierung und Chemotaxis z.B. von endothelialen Progenitorzellen an den Wirkort. Verantwortlich hierfür wird unter anderem die erhöhte Expression von SDF-1 gemacht, einem starken Chemoattraktant für diese Stammzellen.^{15,16}

Der Einfluss von Stoßwellen auf die Inflammation im Sinne der Hemmung proinflammatorischer Stimuli konnte ebenfalls bereits in mehreren Studien nachgewiesen werden. Eine Rolle hierbei konnte unter anderem der NO-Homöostase zugeordnet werden.¹⁷ Auch konnte gezeigt werden, dass es über die Stoßwellen-induzierte Expression des Toll-like-Rezeptor 3 zu einer Modulation der Inflammation kommt, wobei die initial IL-6-getriggerte proinflammatorische Phase in einer mittleren Phase supprimiert wird, welche von der antiinflammatorischen Wirkung von IL-10 gefolgt wird.¹⁸

Unabhängig von diesen Erkenntnissen zur Übermittlung der akustischen Stoßwellenenergie über Mechanorezeptoren, über intrazelluläre Signaltransduktionswege hin zu biologischen Wirkungen, wurde bereits in verschiedenen Geweben

und Pathologien eine Reihe unterschiedlicher Faktoren nachgewiesen, die durch die Stoßwellentherapie positiv beeinflusst werden. Exemplarisch hierfür sind die vermehrte Produktion von BMPs bei Knochenheilungsstörungen und die erhöhte Genexpression von Kollagen I, III und TGF- β 1 bei Tendinopathien zu nennen.

Zusammenfassung

Studien der letzten Jahre haben einen entscheidenden Beitrag zum Verständnis des Wirkungsmechanismus der extrakorporalen Stoßwellentherapie geleistet. Diese klinisch bereits erfolgreich eingesetzte nicht invasive, schonende und kostengünstige Therapieform hat einen Einfluss auf multiple zelluläre, subzelluläre und molekulare Systeme, vermittelt über den Mechanismus der Mechanotransduktion. Hierbei können die Proliferation, Migration und Differenzierung verschiedenster Effektorzelltypen (u.a. Stammzellen, mesenchymale Zellen, Immunzellen) positiv beeinflusst werden. Durch die Stoßwellen werden unter anderem die Angio-/Vaskulogenese und Lymphogenese angeregt, die Knochenheilung sowie die Wundheilung gefördert und die Gewebeinflammation moduliert. Basierend auf dem heutigen Kenntnisstand scheint die Stoßwellentherapie die endogenen zellulären Regenerationskräfte zu aktivieren und damit verschiedenste Gewebe und deren pathologische Zustandsbilder positiv zu beeinflussen. ■

Ausgewählte Literatur (vollständige Liste beim Verfasser):

- ¹ Haupt G: Enhancement of fracture healing with extracorporeal shock waves. New Orleans: 1990
- ² Huang C et al: Mechanotherapy: revisiting physical therapy and recruiting mechanobiology for a new era in medicine. *Trends Mol Med* 2013; 19 (9): 555-64
- ³ Xu JK et al: Optimal intensity shock wave promotes the adhesion and migration of rat osteoblasts via integrin beta1-mediated expression of phosphorylated focal adhesion kinase. *J Biol Chem* 2012; 287 (31): 26200-12
- ⁴ Chen YJ et al: Activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and p38 kinase in shock wave-promoted bone formation of segmental defect in rats. *Bone* 2004; 34(3): 466-77
- ⁵ Wang FS et al: Ras induction of superoxide activates ERK-dependent angiogenic transcription factor HIF-1alpha and VEGF-A expression in shock wave-stimulated osteoblasts. *J Biol Chem* 2004; 279(11): 10331-7
- ⁶ Wang FS et al: Superoxide mediates shock wave induction of ERK-dependent osteogenic transcription factor

(CBFA1) and mesenchymal cell differentiation toward osteoprogenitors. *J Biol Chem* 2002; 277(13): 10931-7

⁷ Ha CH et al: Extracorporeal shock wave stimulates expression of the angiogenic genes via mechanosensory complex in endothelial cells: mimetic effect of fluid shear stress in endothelial cells. *Int J Cardiol* 2013; 168(4): 4168-77

⁸ Rohringer S et al: Molecular and cellular effects of in vitro shockwave treatment on lymphatic endothelial cells. *PLoS One* 2014; 9(12): e114806

⁹ Martini L et al: Shock wave therapy as an innovative technology in skeletal disorders: study on transmembrane current in stimulated osteoblast-like cells. *Int J Artif Organs* 2005; 28(8): 841-7

¹⁰ Sun D et al: Shockwaves induce osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells through ATP release and activation of P2X7 receptors. *Stem Cells* 2013; 31(6): 1170-80

¹¹ Yu T et al: Shockwaves increase T-cell proliferation and IL-2 expression through ATP release, P2X7 receptors, and FAK activation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2010; 298(3): C457-C464

¹² Weihs AM et al: Shock wave treatment enhances cell proliferation and improves wound healing by ATP release-coupled extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation. *J Biol Chem* 2014; 289(39): 27090-104

¹³ Raabe O et al: Effect of extracorporeal shock wave on proliferation and differentiation of equine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Am J Stem Cells* 2013; 2(1): 62-73

¹⁴ Schuh CM et al: In vitro extracorporeal shock wave treatment enhances stemness and preserves multipotency of rat and human adipose-derived stem cells. *Cytotherapy* 2014; 16(12): 1666-78

¹⁵ Aicher A et al: Low-energy shock wave for enhancing recruitment of endothelial progenitor cells: a new modality to increase efficacy of cell therapy in chronic hind limb ischemia. *Circulation* 2006; 114(25): 2823-30

¹⁶ Tepekoylu C et al: Shock wave treatment induces angiogenesis and mobilizes endogenous CD31/CD34-positive endothelial cells in a hindlimb ischemia model: implications for angiogenesis and vasculogenesis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2013; 146(4): 971-8

¹⁷ Mariotto S et al: Extracorporeal shock waves: from lithotripsy to anti-inflammatory action by NO production. *Nitric Oxide* 2005; 12(2): 89-96

¹⁸ Holfeld J et al: Shockwave therapy differentially stimulates endothelial cells: implications on the control of inflammation via toll-like receptor 3. *Inflammation* 2014; 37(1): 65-70

Autoren: Rainer Mittermayr^{1,2},
Nicolas Haffner^{2,3}, Wolfgang Schaden^{1,2}

¹ AUVA-Unfallkrankenhaus Meidling, Wien
² Ludwig-Boltzmann-Institut für experimentelle und klinische Traumatologie, AUVA-Forschungszentrum, Austrian Cluster for Tissue Regeneration, Wien
³ Orthopädisches Spital Gersthof, Wien

Korrespondierender Autor:
Priv.-Doz. Dr. Rainer Mittermayr
Ludwig-Boltzmann-Institut für experimentelle und klinische Traumatologie, Wien
E-Mail: rainer.mittermayr@trauma.lbg.ac.at

■1404