

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Νεύρωση του ώμου: Προσδιορισμός των λεπτών νευρικών δομών του τενόντιου πετάλου των στροφέων με μεθόδους ανοσοφθορισμού και ανοσοϊστοχημείας και ερμηνεία της ανάπτυξης κλινικών συμπτωμάτων.

Καλλιόπη Αλπαντάκη

I
Ιούνιος 2007

Στην Έλενα και τον Robert

Ευχαριστίες

Πρωταρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια μου κα Δόμνα Καραγωγέως, στο εργαστήριο της οποίας εκπονήθηκε η παρούσα διατριβή, για τις ευκαιρίες που μου έδωσε, την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές της.

Ευχαριστώ επίσης τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς μου επιτροπής, τον καθηγητή κ. Αλέξανδρο Χατζηπαύλου και τον επίκουρο καθηγητή και επιβλέποντα κ. Γεώργιο Κοντάκη για τις χρήσιμες συμβουλές και το πραγματικό τους ενδιαφέρον για την πρόοδο αυτής της προσπάθειας. Ένα μεγάλο ευχαριστώ χρωστάω και στα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής κ. Ε Κουμαντάκη, κ Ν Καρκαβίτσα, κ Χ Τσατσάνη και κ Π Κατώνη για τις διορθώσεις και τα εύστοχα σχόλια τους. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ Α Πλαϊτάκη και τον επίκουρο καθηγητή κ Π Θεοδωρόπουλο για τις συμβουλές τους και τη βοήθεια που πήρα από αυτούς κατά τη διάρκεια της διατριβής μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά όλα τα μέλη του εργαστηρίου της κ. Καραγωγέως, που μου συμπαραστάθηκαν και με βοήθησαν όλα αυτά τα χρόνια, τον Κώστα Θεοδωράκη, τον Dave McLaughlin, την Μαρία Σαββάκη και την Μαρία Μπέσσα. Επίσης ευχαριστώ την Μαρίνα, την Μαρκέλλα, την Λιάνα, την Ελένη, την Λήδα, τον Αλέξανδρο και την Αγγελική. Ένα μεγάλο ακόμα ευχαριστώ στα παιδιά από τα διπλανά εργαστήρια, την Χαρά, την Τόνια, την Μελίνα την Νίκη και τον Μιχάλη για τις πολύτιμες συμβουλές αλλά προπάντων για τη φιλία τους.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου και την οικογένεια μου για στήριξη και την υπομονή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	8
ABSTRACT.....	12
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	15
<u>Ανατομικά στοιχεία</u>	16
<u>Τένοντες : Στοιχεία δομής και λειτουργίας</u>	21
Δομή & Λειτουργία.....	21
<u>Παράγοντες που επηρεάζουν τις δομικές και λειτουργικές ιδιότητες των τενόντων</u>	27
Ανατομική Θέση.....	27
Φυσική Άσκηση.....	28
Γήρανση- Εκφύλιση.....	29
Φλουροκινολόνες.....	30
Μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) και οι ιστικοί τους αναστολείς (TIMPs).....	30
Ο ρόλος των αυξητικών παραγόντων	32
<u>Μοντέλα τραυματισμού και επούλωσης</u>	33
Διαδικασία επούλωσης.....	34
Σύνδρομα υπέρχρησης	34
Προδιαθεσικοί παράγοντες.....	36
Tendinosis: Η βλάβη που προηγείται της ρήξης.....	38
Σύνδρομα υπέρχρησης και φλεγμονή.....	39
Σύνδρομα υπέρχρησης: αγγείωση, ιστική αιματική ροή και οξυγόνωση.....	40
Ο ρόλος της απόπτωσης.....	42
Χρόνια τενοντοπάθεια και πόνος	43

Τένοντες με ιδιαίτερες "ευαισθησίες"	44
<u>Μόρια κυτταρικής συνάφειας</u>	46
<u>Ρήξεις του στροφικού πετάλου–Κλινική οντότητα</u>	49
Μηχανισμοί ρήξης	50
Κατάταξη, φυσική πορεία και εξέλιξη των ρήξεων.....	50
Κλινική εκτίμηση	51
Απεικονιστικός έλεγχος.....	53
Αντιμετώπιση.....	55
Μη χειρουργική θεραπεία.....	55
Χειρουργική Θεραπεία.....	56
Ο τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.....	56
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	61
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	62
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	63
Ασθενείς και τρόπος λήψης των ιστών.....	63
Ανοσοϊστοχημεία σε τομές παραφίνης.....	63
Ανοσοφθορισμός σε κρυτοτομές.....	64
Χρώση Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης	65
Ανοσοαποτύπωση (Western Blots).....	65
DNA laddering assays.....	68
Μικροσκοπία.....	69
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	70
Ανίχνευση των NF, SP, CGRP και TH στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου.....	71
Έκφραση της πρωτεΐνης L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.....	76

Western Blots.....	76
Ανοσοφθορισμός σε κρυτομές.....	77
Απόπτωση στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.....	79
Western Blots.....	79
DNA laddering assays.....	80
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	82
Γενικά.....	83
Ο LHB περιέχει ένα πλούσιο νευρικό δίκτυο αισθητικών ,συμπαθητικών ινών.....	84
Ανίχνευση της έκφρασης της πρωτεΐνης L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.....	88
Απόπτωση στον LHB.....	91
Συνοψίζοντας.....	97
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	98
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ.....	125

Περίληψη

Το πέταλο των στροφέων του ώμου είναι μία απονεύρωση από κοινούς καταφυτικούς τένοντες, που καλύπτει την κορυφή του θυλάκου της άρθρωσης του ώμου και καταφύεται στο μείζον βραχιόνιο όγκωμα. Σχηματίζεται από τον τένοντα του υποπλατίου, του υπακανθίου, του υπερακανθίου, του ελάσσονος στρογγύλου και της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου μυός.

Οι ρήξεις του πετάλου των στροφέων στην άρθρωση του ώμου αποτελούν ένα εξαιρετικά συχνό φαινόμενο και υπολογίζεται ότι σε πτωματικές μελέτες ανευρίσκονται σε ποσοστό 20-35%. Επί του συνόλου των ρήξεων το 30% είναι πλήρεις ενώ το υπόλοιπο αναφέρεται σε μερικές ρήξεις.

Οι ρήξεις του πετάλου των στροφέων καθώς και η προηγηθείσα της ρήξης χρόνια εκφυλιστική βλάβη, αποτελούν την συχνότερη αιτία νοσηρότητας και πόνου στον ώμο σε άτομα άνω των 40 ετών. Ασθενείς με εκφυλιστικής αρχής ρήξη του στροφικού πετάλου εμφανίζουν πόνο όταν συνυπάρχει τενοντίτιδα του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου (LHB). Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι αυτόματη ρήξη ή τενοτομή του τένοντα της LHB προκαλεί ύφεση του πόνου. Με βάση τις παραπάνω παρατηρήσεις θα μπορούσε κάποιος να υποθέσει ότι τα συμπτώματα αποδίδονται σε συμμετοχή του τένοντα της LHB (ενδοαρθρικά) και όχι στη ρήξη του στροφικού πετάλου καθ' αυτήν. Μια πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι το γεγονός ότι ο τένοντας της LHB υπόκειται σε διαρκή ερεθισμό λόγω της ενδοαρθρικής πορείας του, σε αντίθεση με το τενόντιο πέταλο, το οποίο αν και δεν επουλώνεται μετά τη ρήξη, εντούτοις δεν υποβάλλεται σε συνεχή μηχανικό ερεθισμό. Μια άλλη εξήγηση θα ήταν

η ύπαρξη συγκεκριμένων νευρικών δομών που συμμετέχουν στην δημιουργία του κλινικού συνδρόμου .

Ο όρος *tendinosis* έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει αυτού του είδους τις εκφυλιστικές μεταβολές που συμβαίνουν όταν ο τένοντας υφίσταται μηχανικό στρες που υπερβαίνει τη φυσική του αντοχή και αδυνατεί να αναπτύξει ικανοποιητικούς επουλωτικούς μηχανισμούς. Οι χρόνιες βλάβες (*tendinosis*) δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως. Αν και πολύ συχνά χρησιμοποιείται ο όρος *τενοντίτιδα* για τις περιγράφει οι ιστοπαθολογικές μελέτες απέτυχαν να αποκαλύψουν την ύπαρξη κανού αριθμού φλεγμονωδών κυττάρων που θα τις κατέτασσε στις οξείες φλεγμονές. Επομένως θα μπορούσε κάποιος να πει ότι πρόκειται για μια εκφυλιστική διαδικασία που χαρακτηρίζεται από την παρουσία αυξημένου αριθμού ινοβλαστών, αποδιοργανωμένης εξωκυττάριας ουσίας και αγγειακής υπερπλασίας.

Προσπαθώντας να κατανοήσουμε την παθοφυσιολογία αυτής της οντότητας εστίασαμε στη διερεύνηση δύο κυρίως σημείων: 1) Γιατί οι καταστάσεις αυτές είναι επώδυνες (αφού στερούνται φλεγμονωδών κυττάρων); και 2) γιατί ο τένοντας αποτυγχάνει να επουλωθεί. Για να απαντήσουμε στα ερωτήματα αυτά διερευνήσαμε τον πιθανό ρόλο του νευρικού συστήματος μέσω δράσης συγκεκριμένων πρωτεϊνών και τον ρόλο της απόπτωσης στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.

Το νευρικό σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της καλούμενης ‘‘νευρογενούς φλεγμονής’’. Νευροπεπτίδια όπως substance P (SP) και calcitonin gene-related peptide (CGRP), που ανευρίσκονται στις αισθητικές ίνες εκτός από την μεταβίβαση του πόνου συμμετέχουν στην ρύθμιση της αιματικής ροής σε τοπικό επίπεδο καθώς και στην απελευθέρωση κυττοκινών. Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις ότι οι συμπαθητικές νευρικές ίνες αποτελούν μέρος του ρυθμιστικού συστήματος. Ανισορροπία ανάμεσα σε αγγειοσυσπαστικούς (Tyrosine hydroxylase-TH) και αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες όπως substance P (SP) και calcitonin gene-related peptide (CGRP), μπορεί να οδηγήσουν σε τοπική ισχαιμία και κατ’ επέκταση σε εκφύλιση του τένοντα.

Το νευρικό σύστημα θα μπορούσε να εμπλέκεται στην παθογένεια της *tendinosis* στον LHB μέσω της δράσης των πρωτεϊνών κυτταρικής συνάφειας. Τα μόρια αυτά έχουν εξαιρετική σημασία στη διατήρηση της αρχιτεκτονικής του νευρικού

συστήματος. Επιπλέον, πρόσφατη μελέτη αποδίδει σε εκπροσώπους της οικογένειας των πρωτεϊνών αυτών (L1 CAM) συμμετοχή στους μηχανισμούς ανάπτυξης του νευροπαθητικού πόνου.

Όσον αφορά στην αδυναμία επούλωσης του τένοντα, πολλοί ερευνητές έχουν δείξει τα τελευταία χρόνια ότι τόσο το οξειδωτικό στρες όσο και η απόπτωση εμπλέκονται στη εκφύλιση και ρήξη.

Η απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι μια φυσιολογική διαδικασία εξαιρετικής σπουδαιότητας τόσο κατά τη διάρκεια της οργανογένεσης όσο και κατά την ενήλικη ζωή μέσω του ελέγχου που ασκεί στον πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των κυττάρων. Χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένους βιοχημικές οδούς των οποίων η ενεργοποίηση οδηγεί σε κυτταρικές μορφολογικές μεταβολές (αλλαγές στα μιτοχόνδρια, την κυτταρική μεμβράνη, διάσπαση του πυρήνα) και τελικά σε ρίκνωση και λύση του κυττάρου.

Χρησιμοποιώντας τεχνικές ανοσοϊστοχημείας (σε τομές παραφίνης και κρυοτομές) καθώς και ανοσοαποτύπωσης (Western Blots) ερευνήθηκε η αισθητική και συμπαθητική νεύρωση του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου, η έκφραση του μορίου κυτταρικής συνάφειας L1 CAM και τέλος αξιολογήθηκε ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος. Τα αντισώματα που χρησιμοποιήσαμε ήταν έναντι των πρωτινών substance P (SP) και calcitonin gene-related peptide (CGRP) για την αισθητική νεύρωση, tyrosine hydroxylase (TH) για την συμπαθητική νεύρωση, neurofilament (NF) ως γενικός δείκτης, Bad, Bax και Bcl2 για την αξιολόγηση της απόπτωσης και L1 CAM για την ανίχνευση της έκφρασης της συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκε υλικό (τένοντας της LHB) από πτωματικούς δότες αλλά και από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε τενοτομή του LHB.

Η εφαρμογή των αντισωμάτων (SP), (CGRP) για την αισθητική νεύρωση, (TH) για την συμπαθητική νεύρωση και NF αποκάλυψε την ύπαρξη ενός πλούσιου νευρικού δικτύου το οποίο εμφάνισε άνιση κατανομή κατά μήκος του τένοντα με συχνότερη την ανεύρεση του στο κεντρικό τμήμα του τένοντα.

Η εφαρμογή του αντισώματος αντι- L1 CAM αποκάλυψε για πρώτη φορά την έκφραση της πρωτεΐνης αυτής στο συγκεκριμένο ιστό.

Η εφαρμογή των αντισωμάτων Bad, Bax και Bcl2 για την αξιολόγηση του κυτταρικού θανάτου στον τένοντα της LHB δεν μπόρεσε να αποδείξει αύξηση της απόπτωσης στους τένοντες με εκφύλιση στο στροφικό πέταλου σε σύγκριση με το υλικό που ελήφθη από την ομάδα ελέγχου.

Τα ευρήματα από την παραπάνω μελέτη συνοψίζονται ως εξής:

- 1) Ο τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου περιέχει ένα εκτεταμένο δίκτυο αισθητικών και συμπαθητικών νευρικών ινών, που δεν σχετίζεται με τα αιμοφόρα αγγεία.
- 2) Η κατανομή αυτού του δικτύου είναι ετερογενής με το κεντρικό τμήμα του τένοντα να εμφανίζει πλουσιότερη νεύρωση.
- 3) Για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία ανιχνεύθηκε η έκφραση του μορίου κυτταρικής συνάφειας L1 CAM σε τενόντιο ιστό.
- 4) Η αποτυχία εντοπισμού διαφορών στον κυτταρικό θάνατο και εξαγωγής συμπερασμάτων σ' αυτή τη φάση της μελέτης πιθανά να οφείλεται σε παράγοντες που σχετίζονται με την επιλογή των ασθενών που συμμετείχαν στην έρευνα.(π.χ. μεγάλη ηλικία των ασθενών)

Συμπέρασμα: Τα παραπάνω ευρήματα δίνουν μια πιθανή απάντηση για τον ρόλο του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου στο χρόνιο πόνο στον ώμο όταν συνυπάρχει ρήξη του πετάλου των στροφέων.

Abstract

The rotator cuff is the dynamic stabilizer of the glunohumeral joint. It is a complex of tendons, which covers the shoulder joint and it is inserted at the humerus. The supraspinatus, the infraspinatus, the teres minor, the subscapularis and the long head of biceps tendon construct the rotator cuff.

Rotator cuff tears are extremely common. Cadaver studies in the elderly estimate the prevalence of rotator cuff tears to be from 20-35%. The prevalence of full thickness tears is 30% and the rest 70% represent partial tears.

Rotator cuff tears, as well as, the preceding degenerative disorder are the most frequently causes of dysfunction and pain in the shoulder in patients above 40 years old. Rotator cuff tears commonly accompanies with pain when they are associated with long head of biceps (LHB) lesions. It is also known that spontaneously or surgical resection of the LHB leads to pain relief. Based on these observations we could easily assume that the LHB is responsible for the pain in these patients rather than the rotator cuff tear itself. Some authors believe that a possible explanation could be a repeatedly tendon injury due to an ongoing subacromial impingement of the LHB. Others suggest that the nervous system contributes to the development of the clinical picture.

Recently, the term *tendinosis* has been introduced in order to describe the degenerative changes, which happen in the tendon when the mechanical stress exceeds the normal tolerance of the tissue. In that case the tendon fails to develop the appropriate healing process. The chronic tendon disorders (tendinosis) have not been fully understood. The term tendonitis has been used to describe them. However, histopathological studies did not succeed to reveal the presence of inflammatory cells, which illustrate the acute inflammatory conditions. Therefore, tendinosis appears to be a degenerative process that is characterized by the presence of dense populations of fibroblasts, disorganized extracellular matrix and vascular hyperplasia.

In order to investigate the pathogenesis of tendinosis we divided our research into two directions: 1) We have tried to clarify why tendinosis is painful given the absence of acute inflammatory cells; 2) and to examine the causes which prevent tendon healing. For this purpose we studied the potential role of the nervous system as well as the role of apoptosis in the long head of the biceps tendon.

The nervous system plays a major role in the pathogenesis of the so-called ‘‘ Neurogenic Inflammation’’. Neuropeptides such as substance P (SP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP), besides transmitting the pain they participate in vasodilation, plasma extravasation and cytokines release. Furthermore there is evidence that sympathetic fibers contribute to the above regulatory system. Imbalances between vasoconstrictor (TH) and vasodilator (SP, CGRP) mediators may lead to abnormal perfusion, nutritional deficiency, ischemia and hypoxic degeneration

The nervous system could be involved in the pathophysiology of LHB tendinosis as a result of the action of the cell adhesion molecules. The cell adhesion molecules are extremely important to maintain the architecture of the nervous system. Additionally, a recent study report that cell adhesion molecule L1 CAM is involved in the mechanisms of neuropathic pain.

Regarding the impaired healing capacity, which characterizes tendinosis, many authors believe that apoptosis represents the heart of the problem. Apoptosis, or programmed cell death is an extremely significant physiological process. It is an important component of embryogenesis and organogenesis. It is also vital in the maintenance of homeostasis in many adult tissues through the control of cell population. Apoptosis is highly regulated by biochemical pathways, which consequence to intracellular events (mitochondria alterations, nuclear fragmentation) eventually leading to cell death.

Using immunohistochemical techniques in paraffin and frozen sections as well as Western Blots techniques we investigated the sensory and sympathetic innervation and the expression of the L1 CAM in LHB. Finally we tried to evaluate the involvement of apoptosis in LHB tendinosis. We used neurofilament (NF) antibody as a general marker, calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P (SP), for the sensory fibers and tyrosine hydroxylase (TH) to detect the sympathetic nerve

fibers. Bad, Bax and Bcl2 antibodies were used to assess the apoptosis. L1 CAM antibody was used to detect the expression of this specific protein. We used tissue (LHB) harvested from cadavers as well as from patients undergoing LHB tenotomy.

Neurofilament, SP, CGRP and TH antibodies revealed a rich innervation, which was more common at the proximal insertion to the bone than at the distal tendomuscular junction. The staining patterns with all antibodies appeared identical showing a thin interconnected network of nerve fibers.

Using L1 CAM antibody we revealed the expression of L1 CAM in human tendons. To our knowledge this is the first report of L1 CAM expression in human tendons.

We also investigated apoptosis in LHB by using Bad, Bax and Bcl2 antibodies. Unfortunately we were not able to detect excessive apoptosis in degenerative LHB tissue compared with the control group.

In summary, the findings of this study are:

- 1) The LHB contains a large network of sensory sympathetic nerve fibers, which is not associated with blood vessels, as it has been described in previous studies.
- 2) The distribution of this innervation is heterogeneous, since it is present rather in the bone insertion side of the tendon.
- 3) The L1 CAM protein is expressed in the human tendons.
- 4) We failed to reveal that excessive apoptosis is present in LHB disorders. These results may be attributed to factors, which may play a certain role such as patients' age.

In conclusion: Our findings may give a possible explanation for the role of LHB in the pathogenesis of shoulder pain in patients with concomitant impingement syndrome or rotator cuff tear.

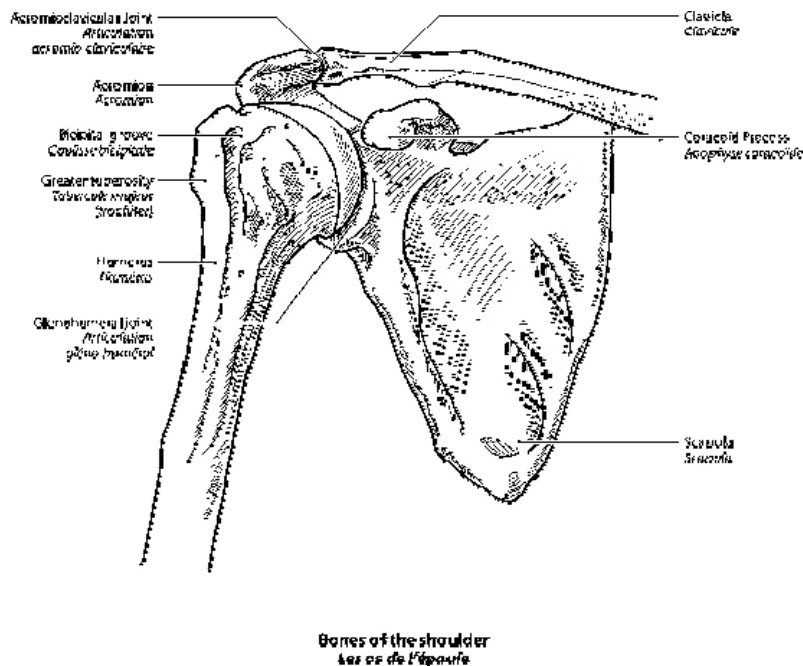
Γενικό Μέρος

Ανατομικά στοιχεία

Είναι πολύ σημαντικό να κατανοήσει κανείς την πολυπλοκότητα της άρθρωσης του ώμου αφού η φυσιολογική της λειτουργία είναι άμεσα συνδεδεμένη με τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα οστικά στοιχεία και τα μαλακά μέρη.

Από λειτουργικής άποψης ο ώμος αποτελείται από την γληνοβραχιόνια, την στερνοκλειδική και την ακρωμιοκλειδική άρθρωση. Ο σκελετός της ωμικής ζώνης αποτελείται από την ωμοπλάτη, την κλείδα και το βραχιόνιο οστό. Στο εγγύς άκρο του βραχιονίου υπάρχει η κεφαλή η οποία σχηματίζει με το σώμα γωνία περίπου 130° και αρθρώνεται με την ωμογλήνη. Προς τα έξω φέρεται το μείζον βραχιόνιο όγκωμα ενώ προς τα έσω εκφύεται το έλασσον βραχιόνιο όγκωμα. Από τα δύο ογκώματα πορεύονται προς το σώμα του βραχιονίου η ακρολοφία του μείζονος και η ακρολοφία του ελάσσονος βραχιονίου ογκώματος, ορίζοντας τη δικεφαλική αύλακα στην οποία πορεύεται ο τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.

Η ωμογλήνη είναι τρεις με τέσσερις φορές μικρότερη από την επιφάνεια της κεφαλής του βραχιονίου και μεγεθύνεται από τον επιχείλιο χόνδρο (labrum) που στερεώνεται στο χείλος της ωμογλήνης. Η διαφορά μεγέθους ανάμεσα στην κεφαλή και την ωμογλήνη προσδίδει στην άρθρωση εξαιρετική κινητικότητα αλλά παράλληλα αυξάνει τον κίνδυνο αστάθειας και κατ' επέκταση εξάρθημάτων στην άρθρωση του ώμου. Για το λόγο αυτό τα μαλακά μέρη παίζουν ένα εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της σταθερότητας της άρθρωσης.



Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση του σκελετού της ωμικής ζώνης.

Πολλοί συγγραφείς έχουν ασχοληθεί με τη σπουδαιότητα τόσο του labrum όσο και των συνδέσμων στη σταθερότητα της άρθρωσης του ώμου (Moseley HF, and Overgaard B 1962, Cooper DE, et al 1992). Ο Bankart αναφέρει ότι η αποκόλληση του labrum από το πρόσθιο χείλος της ωμογλήνης αποτελεί βασική αιτία στα καθ' έξιν πρόσθια εξάρθραματα του ώμου (Bankart ASB 1923). Το labrum φαίνεται να παίζει διττό ρόλο :αποτελεί σημείο πρόσφυσης των συνδέσμων και αυξάνει τόσο το μέγεθος όσο και την καμπυλότητα της ωμογλήνης (McLaughlin HL 1960).

Ο αρθρικός θύλακος που περιβάλλει την άρθρωση του ώμου προσφύεται προς τα έσω στο χείλος της ωμογλήνης και προς τα έξω στον ανατομικό αυχένα του βραχιονίου οστού. Ο θύλακος είναι αρκετά λεπτός και χαλαρός επιτρέποντας μεγάλο εύρος κινήσεων. Ενισχύεται από ίνες που προέρχονται από τους τένοντες του υπερακανθίου, του υποπλατίου και του ελάσσονος στρογγύλου μυός. Σημαντικοί για την ενίσχυση του θυλάκου είναι επίσης οι σύνδεσμοι. Οι γληνοβραχιόνιοι σύνδεσμοι ενισχύουν την πρόσθια επιφάνεια του αρθρικού θυλάκου ενώ ο εγκάρσιος βραχιόνιος γεφυρώνει το χάσμα ανάμεσα στο μείζον και έλασσον βραχιόνιο όγκωμα. Ο κορακοβραχιόνιος σύνδεσμος ενισχύει την άνω μοίρα του θυλάκου και εκτείνεται από τη ρίζα της κορακοειδούς απόφυσης ως το μείζον βραχιόνιο όγκωμα. Τέλος ,ο ακρωμιοκορακοειδής σύνδεσμος εκτείνεται από την κορακοειδή απόφυση ως το ακρώμιο (Ovesen J, and Nielsen S 1985, O'Connell et al 1990).

Το πέταλο των στροφέων του ώμου είναι μία απονεύρωση από κοινούς καταφυτικούς τένοντες, που καλύπτει την κορυφή του θυλάκου της άρθρωσης του ώμου και καταφύεται στο μείζον βραχιόνιο όγκωμα. Σχηματίζεται από τον τένοντα του υποπλάτιου, του υπακανθίου, του υπερακανθίου, του ελάσσονος στρογγύλου και της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου μυός.

Ο υπερακάνθιος (*supraspinatus*) εκφύεται από τον υπερακάνθιο βόθρο της ωμοπλάτης και καταφύεται στην πρόσθια επιφάνεια του μείζονος βραχιονίου ογκώματος αφού πρώτα ο τένοντας του περάσει κάτω από το ακρώμιο και δώσει ίνες στο θύλακο. Δέχεται νεύρωση από το υπερπλάτιο νεύρο.

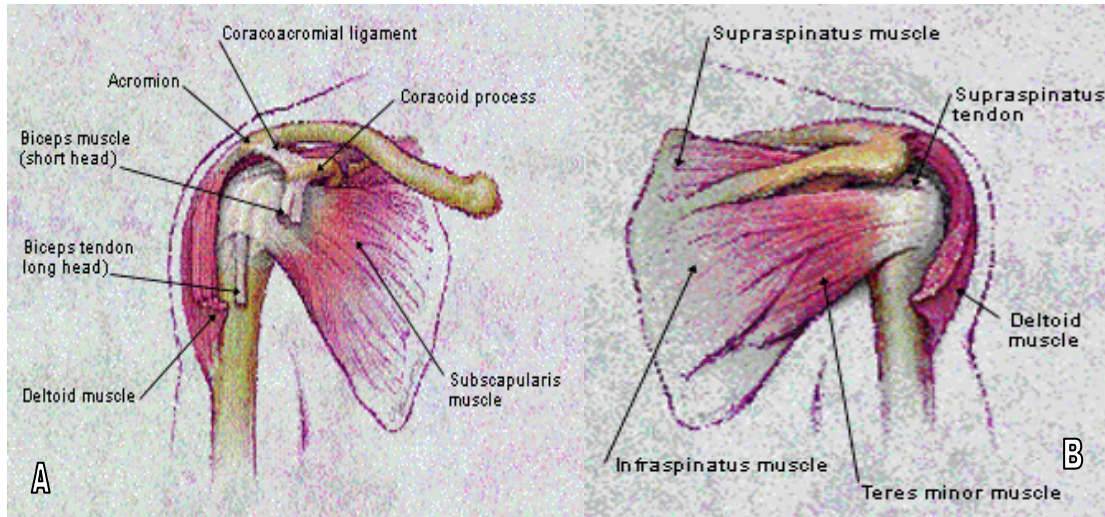
Ο υπακάνθιος μυς (*infraspinatus*) εκφύεται από τον υπακάνθιο βόθρο και καταφύεται στο μείζον βραχιόνιο όγκωμα. Ίνες του υπακανθίου ενισχύουν τον αρθρικό θύλακο. Νευρώνεται από το υπερπλάτιο νεύρο.

Ο ελάσσων στρογγύλος (*teres minor*) εκφύεται από το πλάγιο χείλος της ωμοπλάτης και καταλήγει στην οπίσθια επιφάνεια του μείζονος βραχιονίου ογκώματος. Νευρώνεται από το μασχαλιαίο νεύρο.

Ο υποπλάτιος (*subscapularis*) εκφύεται από τον υποπλάτιο βόθρο και καταλήγει στο έλασσον βραχιόνιο όγκωμα. Συμμετέχει με ίνες του στην ενίσχυση του αρθρικού θυλάκου.

Η μακρά κεφαλή του δικέφαλου βραχιονίου μυός (*long head of biceps tendon- LHB*) εκφύεται από το υπεργληνοειδές φύμα και πορεύεται στην αύλακα του δικέφαλου του βραχιονίου οστού. Στο μέσο του βραχίονα συνενώνεται με τη βραχεία κεφαλή που εκφύεται από την κορακοειδή απόφυση της ωμοπλάτης και ο κοινός τους καταφυτικός τένοντας καταλήγει στο κερκιδικό όγκωμα. Δέχεται νεύρωση από το μυοδερματικό νεύρο.

Η αγγειακή άρδευση του στροφικού πετάλου εξασφαλίζεται από κλάδους της πρόσθιας και οπίσθιας περισπωμένης βραχιόνιας αρτηρίας. Στην αιμάτωση συμμετέχουν επίσης κλάδοι της υπερπλάτιας και υποπλάτιας αρτηρίας (Determe D, et al 1996).



Εικόνα 2: Σχηματική παράσταση των μυών του τενόντιου πετάλου της άρθρωσης του ώμου. (A): Πρόσθια άποψη: Διακρίνεται ο υποπλάτιος (subscapularis) και η μακρά κεφαλή του δικέφαλου βραχιόνιου (long head of biceps tendon). (B): Οπίσθια άποψη: Διακρίνεται ο υπερακάνθιος (supraspinatus) ο υπακάνθιος (infraspinatus) και ο ελάσσων στρογγύλος (teres minor) .

Ιστολογικές μελέτες σε πτωματικούς ώμους έχουν αποκαλύψει μια πολύπλοκη μικρο-ανατομική κατασκευή που αποτελείται από πέντε στρώματα. Πιθανολογείται ότι αυτή η αρχιτεκτονική όχι μόνο είναι σημαντική για τη φυσιολογική λειτουργία αλλά παίζει σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της ρήξης και της επούλωσης αυτών των τενόντων (Mandy Harryman DT 2nd 1992). Σε πτωματικές μελέτες φάνηκε επίσης ότι υπάρχει μια περιοχή με ελαττωμένη αγγείωση στον υπερακάνθιο η οποία θεωρείται ότι εμπλέκεται στη διαδικασία εκφύλισης του τένοντα. Επιπλέον έχει βρεθεί ότι η συγκεκριμένη περιοχή εμφανίζει νέο-αγγείωση σε συμπτωματικούς ασθενείς με σύνδρομο πρόσκρουσης ενισχύοντας την παραπάνω θέση (Iannotti JP, and Chansky HA 1991).

Οι μυοτενόντιες δομές του πετάλου των στροφέων φαίνεται ότι εξυπηρετούν τόσο την κινητικότητα όσο και την εξασφάλιση δυναμικής σταθερότητας στην άρθρωση του ώμου. Το πέταλο των στροφέων συμπιέζει την κεφαλή στην ωμογλήνη εμποδίζοντας την προς τα άνω μετανάστευση της, προσφέροντας έτσι ένα σταθερό πλαίσιο στο οποίο εφαρμόζεται η δράση των στροφέων. Σε ακτινολογική μελέτη όπου διερευνήθηκε η γληνοβραχιόνια κίνηση σε τρεις ομάδες πληθυσμού , άτομα με ασυμπτωματικές ρήξεις του πετάλου, άτομα με ρήξη και συνοδά συμπτώματα και τέλος φυσιολογικά άτομα, φάνηκε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά την προς τα άνω μετακίνηση της κεφαλής ,ανάμεσα στα άτομα με ακέραιο το

στροφικό πέταλο και εκείνα με ρήξη (Yamaguchi K, et al 2000). Έχει αποδειχθεί με ηλεκτρομυογραφικές μελέτες ότι οι μύες του στροφικού πετάλου βρίσκονται σε συνεχή “εγρήγορση” κατά τη διάρκεια απαγωγής και κάμψης και παίζουν ένα εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στην επικέντρωση της βραχιόνιας κεφαλής στην ωμογλήνη (Inman VT, et al 1994). Ο υπερακάνθιος λειτουργεί ουσιαστικά σαν υπομόχλιο επιτρέποντας στον δελτοειδή να ανυψώνει το βραχιόνιο. Επίσης παίζει σημαντικό ρόλο στην έναρξη της απαγωγής του βραχίονα ενώ η δράση του αυξάνεται προοδευτικά καθώς αυξάνεται η απαγωγή. Σε συνεργασία με τον υποπλάτιο και τον υπακάνθιο συγκρατούν την βραχιόνια κεφαλή μέσα στην άρθρωση. Ο υποπλάτιος λειτουργεί ως έσω στροφέας και προσαγωγός του βραχίονα και επιπλέον αντιτίθεται σε οποιαδήποτε δύναμη παρεκτοπίζει την κεφαλή. Τόσο ο υπακάνθιος όσο και ο ελάσσων στρογγύλος δρουν ως σταθεροποιητές της κεφαλής, με τον υπακάνθιο να συμμετέχει στην έναρξη της έσω στροφής του βραχιονίου.

Το οπίσθιο τμήμα του πετάλου μειώνει την τάση στις πρόσθιες δομές της άρθρωσης πιέζοντας την κεφαλή προς τα πίσω κατά τη διάρκεια της έξω στροφής, ενώ φαίνεται ότι υπάρχουν λειτουργικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στους μύες του στροφικού πετάλου και τους συνδέσμους της άρθρωσης (Cain PR, et al 1987; Clark J, et al 1990).

Ο ρόλος του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικεφάλου εξακολουθεί να αποτελεί σημείο διχογνωμίας. Ορισμένοι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση της βραχιόνιας κεφαλής ενώ άλλοι πιστεύουν ότι η σπουδαιότητα της δομής αυτής έγκειται στο γεγονός ότι αποτελεί σημαντική πηγή πόνου στον ώμο ανεξάρτητα από την παθολογία των υπολοίπων τενόντων του στροφικού πετάλου (Kido T, et al: 2000; Curtis AS and Snyder SJ 1993).

Όπως συζητήθηκε ήδη, οι μύες του στροφικού πετάλου λειτουργούν ως δυναμικοί σταθεροποιητές της γληνοβραχιόνιας άρθρωσης. Οι τένοντες τους προτού καταλήξουν στην βραχιόνια κεφαλή περνούν κάτω από το σχετικά αφιλόξενο περιβάλλον του κορακοακρωμιακού τόξου, που αποτελείται από το ακρώμιο, την ακρωμιοκλειδική άρθρωση, τον κορακοακρωμιακό σύνδεσμο, και την κορακοειδή απόφυση. Παρά το γεγονός ότι η υπακρωμιακή bursa που παρεμβάλλεται ομαλοποιεί

την κίνηση, βλάβες του πετάλου όπως τενοντίτιδες ή ακόμα και ρήξεις είναι αρκετά συχνές διαταραχές στον ώμο. Οι υποκείμενες αιτίες της παθολογίας των τενόντων των στροφέων είναι πολύπλοκες και αφορούν στην αλληλεπίδραση ανάμεσα σε ενδογενείς, δομικούς παράγοντες και σε εξωγενείς παράγοντες όπως ανατομικά στοιχεία, ή επαναλαμβανόμενες δραστηριότητες που προκαλούν τραυματισμό στην περιοχή.

Τένοντες : Στοιχεία δομής και λειτουργίας

Τα τελευταία χρόνια πολλοί ερευνητές έχουν εστιάσει στη διερεύνηση και κατανόηση των ιστολογικών, βιοχημικών και εμβιομηχανικών ιδιοτήτων των τενόντων.

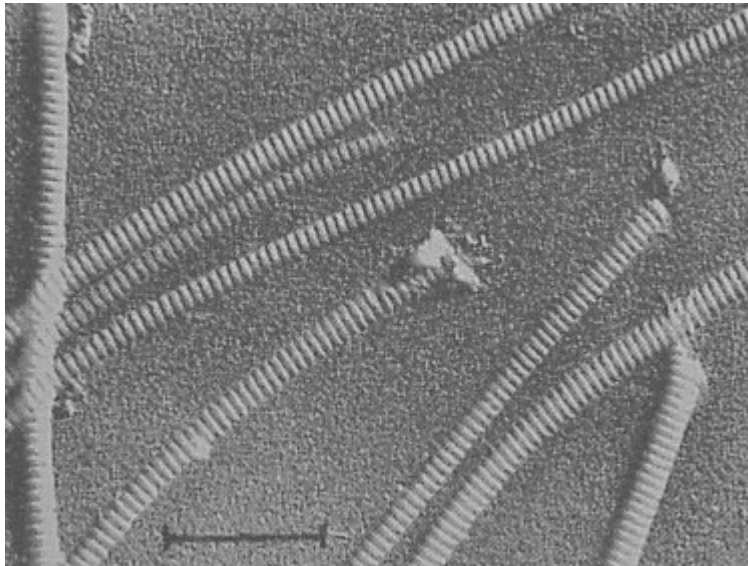
Δομή & Λειτουργία

Οι τένοντες αποτελούν εξειδικευμένες δομές που έχουν ως βασική λειτουργία τη μεταφορά φορτίων από τους μύες στα οστά. Η λειτουργία αυτή προϋποθέτει ότι οι τένοντες είναι κατασκευασμένοι από πυκνό συνδετικό ιστό οργανωμένο με τέτοιο τρόπο ώστε να αντιστέκεται στις μεγάλες δυνάμεις που δημιουργούνται. Μακροσκοπικά αποτελούνται από παράλληλα διατεταγμένες κολλαγόνες ίνες, πρωτεογλυκάνες, νερό και σχετικά μικρό αριθμό κυττάρων (Elliott DH, 1965 ; Riley GP et al,1994).

Ο επικρατέστερος τύπος κυττάρου δεν είναι άλλος από τους ινοβλάστες οι οποίοι διατάσσονται σε παράλληλους στοίχους στα διαστήματα ανάμεσα στις ίνες του κολλαγόνου. Οι ινοβλάστες έχουν αναλάβει την υποχρέωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών του συνδετικού ιστού, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεογλυκανών και του κολλαγόνου (Gelberman R, et al 1988). Επιπλέον, συναντάμε επιθηλιακά κύτταρα και μαστοκύτταρα. Οι ινοβλάστες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους μέσω *gap junctions* σχηματίζοντας ένα τρισδιάστατο δίκτυο που περιβάλλει τις κολλαγόνες ίνες και παρέχει το υπόβαθρο για επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων. In vitro, οι ινοβλάστες αυξάνουν την παραγωγή κολλαγόνου και τις *gap junctions* όταν υπόκεινται σε κυκλικό μηχανικό στρες (Banes A et al, 1999). Σε συνθήκες φόρτισης

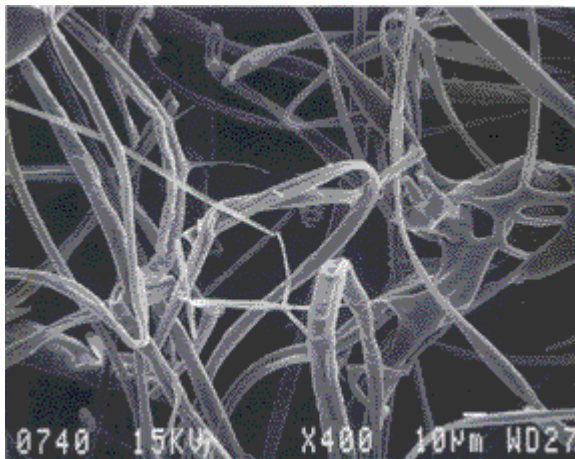
φαίνεται ότι οι *gap junctions* είναι σε θέση να υπομείνουν μεγάλες δυνάμεις καθώς επίσης να αλληλεπιδρούν με την ακτίνη του κυτταροσκελετού (Lee AA et al, 1999; Wu Z et al, 1999).

Το κολλαγόνο αποτελεί το βασικό δομικό στοιχείο των τενόντων. Αντιπροσωπεύει περίπου το 86% του ξηρού τους βάρους και περιέχει σε μεγάλο ποσοστό τα αμινοξέα γλυκίνη (33%), προλίνη (15%), και υδροξυπρολίνη (15%). Σχηματίζεται από την περιέλιξη τριών πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Το μόριο που προέρχεται από την περιέλιξη αυτή ονομάζεται προκολλαγόνο. Η σύνθεση του προκολλαγόνου ξεκινάει στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ινοβλαστών και παίρνει τη μορφή της τριπλής έλικας στη συσκευή Golgi. Το προκολλαγόνο μετατρέπεται σε τροποκολλαγόνο με την αποκοπή των “προεξοχόντων” πεπτιδίων από το αμινο – και καρβοξυ- τελικό άκρο της καθεμιάς από τις τρεις αλυσούς. Τα μόρια του τροποκολλαγόνου συνενώνονται για να σχηματίσουν τα κολλαγονικά μικροινίδια που με τη σειρά τους θα σχηματίσουν τα κολλαγονικά ινίδια. Οι κολλαγόνες ίνες θα σχηματιστούν από την συνένωση πολλών ινιδίων. Οι κολλαγόνες ίνες είναι κυματοειδείς , ώστε να αυξάνεται η αντοχή τους στις δυνάμεις κάμψης και έλξης (Berg RA and Prockop DJ, 1973; Eyre DR et al, 1984). Σημαντικές για τις εμβιομηχανικές ιδιότητες του κολλαγόνου και επομένως για τη λειτουργία του τένοντα είναι οι τροποποιήσεις (π.χ. υδροξυλίωση, ανάπτυξη crosslinks) που υφίσταται το μόριο του κολλαγόνου σε μετά-μεταφραστικό επίπεδο (Bailey AJ et al, 1974). Προς το παρόν έχουν αναγνωρισθεί 15 διαφορετικοί τύποι μορίων κολλαγόνου. Κάθε τύπος κολλαγόνου έχει μία μοναδική σύνθεση των τριών αλυσών. Η σχετική αναλογία κάθε τύπου κολλαγόνου είναι ειδική για κάθε ιστό. Το κολλαγόνο των τενόντων είναι τύπου I σε ποσοστό 60%- 95% και αποτελείται από δύο α1 και μία α2 αλυσίδα. Κολλαγόνο τύπου III αναφέρεται σε ποσοστό από 0-10%, τύπου IV 2% , ενώ υπάρχουν σε πολύ μικρότερη αναλογία κολλαγόνο τύπου V και VI (Jimenez S et al, 1978; Hanson AN and Bentley JP, 1983 ; Ahtikoski AM et al, 2003; Viidik A, 1967).



Εικόνα 3: Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία ινιδίων κολλαγόνου.

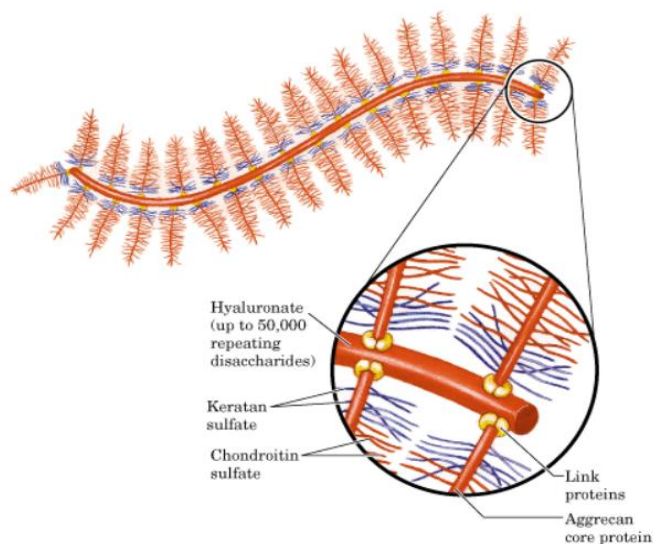
Η ελαστίνη ανευρίσκεται σε ποσοστό μικρότερο του 1%. Παράγεται από τους ινοβλάστες και είναι αυτή που επιτρέπει στους τένοντες να υπόκεινται σε μεγάλες μεταβολές στο μήκος τους χωρίς ωστόσο να υφίστανται δομικές αλλοιώσεις (Row R, 1985).



Εικόνα 4: Εικόνα της ελαστίνης από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Οι πρωτεογλυκάνες παρά το γεγονός ότι ανευρίσκονται σε χαμηλό ποσοστό παίζουν σημαντικό ρόλο στη δομή και λειτουργία των τενόντων. Οι πρωτεογλυκάνες είναι εξαιρετικά υδρόφιλα μόρια και αυτή τους η ιδιότητα επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό της βισκοελαστικές ιδιότητες των τενόντων (Banes A et al, 1988). Η decorin, μια μικρή πλούσια σε λευκίνη πρωτεΐνη, ανευρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία (Vogel KG and

Heinegard D,1985). Επιπλέον υπάρχουν και άλλες πλούσιες σε λευκίνη πρωτεογλυκάνες όπως η fibromodulin, η biglycan (έως και 0.5%), lumican, tenascin-C, fibronectin, integrin, versican, και aggrecan (Rees SG et al, 2000; Järvinen TAH et al, 1999).



Εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση μορίου πρωτεογλυκάνης.

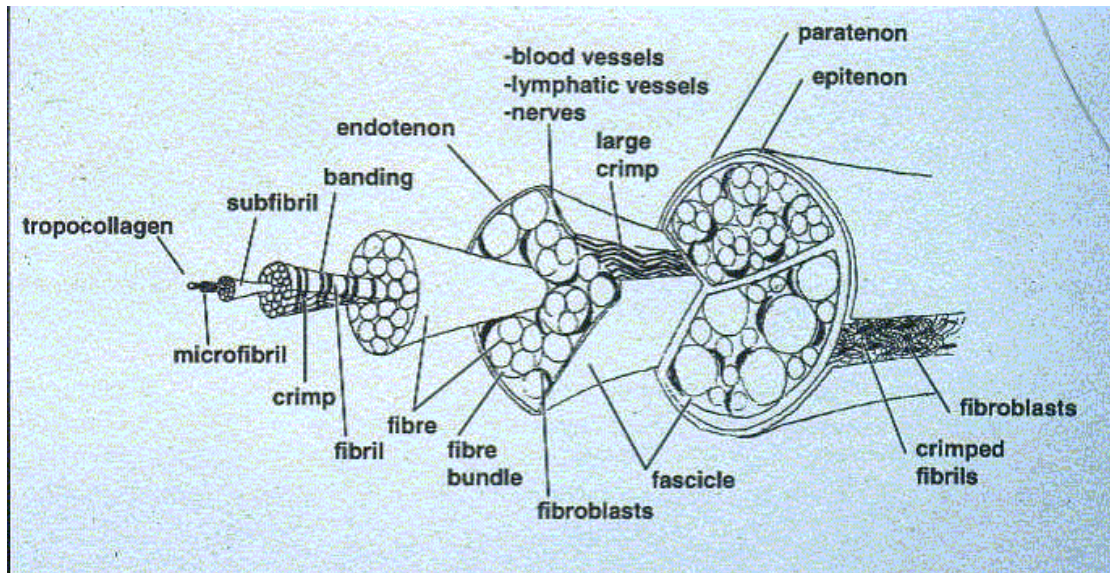
Οι πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας επηρεάζουν σε μέγιστο βαθμό τις μηχανικές ιδιότητες των τενόντων. Η decorin φαίνεται ότι συμμετέχει στο «πακετάρισμα» των μορίων του κολλαγόνου σε ινίδια και ως ένα βαθμό ελέγχει τη διάμετρο τους (Scott JE, 2001; Canty EG and Kadler KE, 2002). Έχει βρεθεί ότι αναστολή της decorin έχει ως αποτέλεσμα αύξηση της διαμέτρου των ινών κολλαγόνου και αύξηση των μηχανικών ιδιοτήτων συνδέσμων που βρίσκονται σε φάση επούλωσης (Nakagawa Y et al, 2000). Πρόσφατα σε μελέτη σε τένοντες από έμβρυα όρνιθας φάνηκε ότι μια πρωτεΐνη παρόμοια της decorin, αλληλεπιδρά με το κολλαγόνο πολύ νωρίτερα από ότι μέχρι τώρα πιστεύαμε (Graham HK et al ,2000). Η decorin φαίνεται ότι είναι “εξειδικευμένη” στις δυνάμεις τάσεως, ενώ η aggrecan που εμπλέκεται στη σύνθεση του κολλαγόνου τύπου II, αυξάνεται στις περιοχές του τένοντα που υπόκεινται σε δυνάμεις συμπίεσης (Robbins JR, et al, 1997; Benjamin M and Ralphs JR, 1998). Μεταλλάξεις στις integrins σε πειραματικό μοντέλο οδηγούν σε μυϊκή δυστροφία, ενώ μεταλλάξεις στο κολλαγόνο τύπου VI οδηγεί σε μυοπάθεια (Mayer U et al,

1997; Jobsis GJ et al, 1996). Ποντίκια με γενετική έλλειψη στο κολλαγόνο τύπου X εμφανίζουν αχονδροπλασία, ενώ όταν η μετάλλαξη αφορά στο κολλαγόνο τύπου I εμφανίζουν σοβαρή ατελή οστεογένεση (Wallis GA et al, 1996; Chipman SD et al 1993). Τέλος, πειραματόζωα που στερούνται biglycan και fibromodulin θα εμφανίσουν πυρήνες έκτοπης οστεοποίησης μέσα στους τένοντες καθώς και ανωμαλίες στην κατασκευή των κολλαγόνων ινών (Ameye L et al, 2002; Svensson L et al, 1999).

Οι πρωτεογλυκάνες, οι γλυκοπρωτεΐνες και οι γλυκοζαμινογλυκάνες αλληλεπιδρούν με τις ίνες κολλαγόνου σχηματίζοντας δεσμίδες. Οι δεσμίδες αυτές με τη σειρά τους θα συνενωθούν και θα δώσουν μεγαλύτερες δεσμίδες που περιβάλλονται από χαλαρό συνδετικό ιστό, το *endotenon*. Το *endotenon* επιτρέπει την κατά μήκος κίνηση των ινών κολλαγόνου και στηρίζει τα αιμοφόρα αγγεία, τα λεμφαγγεία και τα νεύρα. Το *endotenon* συνέχεια με το περίοστεο στα σημεία επαφής τένοντα-οστού. Το *endotenon* περιβάλλεται από το *epitenon*. Σε ορισμένους τένοντες το *epitenon* καλύπτεται από το *paratenon* το οποίο λειτουργεί σαν ελαστικό περίβλημα που επιτρέπει την ομαλή κίνηση του τένοντα. Το *epitenon* μαζί με το *paratenon* σχηματίζουν το *peritenon*. Οι τένοντες διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, σ' αυτούς που μεταφέρουν δυνάμεις στην ευθεία, δεν περιβάλλονται από έλυτρο αλλά από χαλαρό συνδετικό ιστό (*paratenon*) (π.χ. Αχίλλειος τένοντας), και σ' αυτούς που το έλυτρο αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για τη λειτουργία τους (π.χ. καμπτήρες των δακτύλων – pulley). Η κίνηση σ' αυτήν την κατηγορία τενόντων υποβοηθείται από την παρουσία συνοβιακού υγρού που παράγεται από το *epitenon* (Elliott DH, 1965). Ανάμεσα στις δύο αυτές κατηγορίες παρατηρούνται επίσης διαφορές που αφορούν στην κατανομή των αγγείων. Στους τένοντες που περιβάλλονται από *paratenon* τα αγγεία εισέρχονται από την περιφέρεια και αναστομώνονται με ένα επίμηκες δίκτυο τριχοειδών. Αντίθετα, οι τένοντες που περιβάλλονται από έλυτρο περιέχουν το *mesotenon* το οποίο λειτουργεί ως αγγειακό κανάλι. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται περιοχές με χαμηλή αγγειακή άρδευση κατά μήκος του τένοντα (Edwards DAW, 1946). Οι τένοντες αυτοί βασίζονται σε μεγάλο βαθμό στην διάχυση θρεπτικών ουσιών από το συνοβιακό υγρό. Αμφότεροι οι τένοντες δέχονται επιπρόσθετη αγγείωση από το περιμύδιο και από τα σημεία πρόσφυσης στα οστά (Lundborg G and Rank F, 1978).

Στα άνω άκρα, όπου πολλοί τένοντες έχουν αρκετά μεγάλο μήκος δέχονται αιμάτωση από διαφορετικές πηγές στα διάφορα σημεία της διαδρομής τους. Επειδή αυτοί οι τένοντες διανύουν σχετικά μεγάλη διαδρομή μέσα στα έλυτρα, τα αγγεία τους θα πρέπει να έχουν τέτοια μορφολογία ώστε να διατείνονται και να συμπιέζονται χωρίς να παρακωλύεται η αιματική ροή καθώς οι τένοντες κινούνται (Hergentroeder PT et al, 1982; Zbrodowski A et al, 1982). Σε ορισμένες όμως περιοχές που είναι σχετικά ανάγγειες η αιματική ροή μπορεί να ελαττωθεί ακόμα περισσότερο σε συνθήκες τριβής, συμπίεσης ή έλξης. Στο άνω άκρο αυτό συμβαίνει στα δάκτυλα, τον καρπό και τον ώμο (Lundborg G et al, 1977; Rathbun JB and Macnab I, 1970). Οι περιοχές αυτές εμφανίζουν συχνότερα σημάδια φθοράς και κατ' επέκταση ρήξης συγκρινόμενες με περιοχές που διαθέτουν πλουσιότερη αιμάτωση λόγω ελαττωμένης επισκευαστικής ικανότητας που θα μπορούσε να σχετίζεται με την φτωχή αιματική ροή.

Αύξηση της αιματικής ροής παρατηρείται κατά τη φυσική άσκηση. Στο φαινόμενο αυτό συμμετέχουν αγγειοδραστικοί παράγοντες όπως η αδενοσίνη και η βραδυκινίνη. Η αύξηση της συγκέντρωσης της αδενοσίνης είναι ανάλογη της αύξησης της έντασης της άσκησης. Αντίθετα η βραδυκινίνη ασκεί τη βιολογική της δράση σε καταστάσεις ήπιας άσκησης (Langberg H et al, 2002). Αυτό επιτυγχάνεται είτε με απευθείας δράση στο ενδοθήλιο, είτε-όπως άλλοι ερευνητές προτείνουν- έμμεσα μέσω ουσιών όπως το οξειδίο του αζώτου, οι προσταγλανδίνες και ο endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) (Busse R and Fleming I, 1996; Barrow SE et al, 1986; O'Kane KP et al, 1994; Honing ML et al, 2000).



Εικόνα 6: Η δομή του τένοντα από το μόριο του τροποκολλαγόνου μέχρι τον ολοκληρωμένο τένοντα. (Kastelic et al, 1978)

Παράγοντες που επηρεάζουν τις δομικές και λειτουργικές ιδιότητες των τενόντων

Ανάμεσα στους παράγοντες που επηρεάζουν τις ιδιότητες των τενόντων θα μπορούσε κανείς να ξεχωρίσει την ανατομική θέση, την άσκηση, την ακινητοποίηση και φυσικά την εκφύλιση που προέρχεται από την γήρανση.

Ανατομική Θέση

Η ανατομική θέση αντανακλά στη μηχανική και βιοχημική συμπεριφορά του τένοντα. Για παράδειγμα, έχει βρεθεί ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους καμπτήρες και τους εκτεινόντες. Σε μια μελέτη σε χοιρίδια φάνηκε ότι το συνολικό φορτίο που απαιτείται για να υποστούν ρήξη οι καμπτήρες των δακτύλων ήταν διπλάσιο σε σχέση με τους εκτεινόντες. Διαφορές υπάρχουν επίσης στην κολλαγονική σύσταση μεταξύ αυτών των τενόντων (Woo S-Y et al, 1981). Σε μελέτη που χρησιμοποιήθηκαν τα επίπεδα υδροξυλυσιλπυριδολίνης (HP) ως δείκτης μηχανικής αντοχής φάνηκε ότι οι καμπτήρες περιέχουν HP σε υψηλότερη συγκέντρωση. Επίσης ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι διαφορετικές περιοχές του ίδιου τένοντα

περιέχουν ΗΡ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αντανακλώντας πιθανά τις διαφορετικές λειτουργικές απαιτήσεις της κάθε περιοχής (Vogel KG,1989). Τα παραπάνω έρχονται σε αρμονία με έρευνα όπου μελετήθηκαν οι διαφορές ανάμεσα στον τένοντα του υπερακανθίου και της βραχείας κεφαλής του δικέφαλου και βρέθηκε ότι ο πρώτος περιέχει ΗΡ σε πολύ μεγαλύτερα ποσοστά. Οι διαφορές αυτές είναι αναμενόμενες όταν γνωρίζεις κανείς ότι ο υπερακάνθιος υφίσταται σημαντικές συμπιεστικές και διατμητικές δυνάμεις πράγμα που δεν συμβαίνει με τον δικέφαλο βραχιόνιο (Bank RA et al, 1999).

Φυσική Άσκηση

Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η άσκηση αυξάνει την σύνθεση και την ανθεκτικότητα των κολλαγόνων ινών ενώ αντίθετα η παρατεταμένη ακινητοποίηση οδηγεί σε αποδιοργάνωση της δομής των τενόντων και κατ' επέκταση ελάττωση της αντοχής τους (Savolainen J et al, 1988; Mortensen NHM, 1999; Woo S-Y et al, 1982). Πάντως, φαίνεται ότι η άσκηση έχει διαφορετική επίδραση σε διαφορετικούς τένοντες, υποδηλώνοντας έτσι ότι ορισμένοι έχουν το περιθώριο να μεταβάλλουν τη συμπεριφορά τους ενώ άλλοι που λειτουργούν στο μέγιστο της απόδοσης τους, αδυνατούν να βελτιώσουν τις δομικές τους ιδιότητες. Σε πειράματα που έγιναν σε Αχίλλειο τένοντα κουνελιών δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στην καμπύλη δύναμης-παραμόρφωσης μετά από 40 εβδομάδες έντονης φυσικής δραστηριότητας γεγονός που σημαίνει ότι η δομή του τένοντα παρέμεινε ανεπηρέαστη από την άσκηση. Οι ίδιοι όμως ερευνητές σε παρόμοια μελέτη στον τένοντα του οπίσθιου κνημιαίου έδειξαν ότι η καμπύλη δύναμης-παραμόρφωσης υπέστη σημαντικές μεταβολές παρά το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στη μάζα και τον όγκο του τένοντα (Viidik A, 1967 ; Viidik A, 1969).

Όταν μελετήθηκε ο μεταβολισμός του κολλαγόνου με τη μέθοδο της μικροδιάλυσης στον Αχίλλειο τένοντα δρομέων πριν, αμέσως και 72 ώρες μετά από τρέξιμο 36 χλμ., φάνηκε ότι η άσκηση πυροδοτεί μεταβολές τόσο στη μεταβολική όσο και στη φλεγμονώδη δραστηριότητα στην εν λόγω περιοχή. Επίσης βρέθηκε ότι αυξήθηκε η παραγωγή κολλαγόνων ινών τύπου I (Langberg H et al,1999). Φαίνεται λοιπόν ότι η φυσική δραστηριότητα πυροδοτεί τόσο τα καταβολικά όσο και τα αναβολικά

μονοπάτια της σύνθεσης του κολλαγόνου με το αναβολικό σκέλος να υπερτερεί του καταβολικού. Σε άλλη παρόμοια μελέτη όπου μετρήθηκε η σύνθεση και η αποδόμηση του κολλαγόνου τύπου I στην περιτενόντια περιοχή του Αχίλλειου, πριν και μετά από 4 και 11 εβδομάδες έντονης φυσικής δραστηριότητας, διαπιστώθηκαν σημαντικές μεταβολές σχετιζόμενες με την φυσική άσκηση. Συγκεκριμένα, οι μεταβολές αφορούσαν σε δείκτες σύνθεσης όπως το COOH- τελικό προπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου I (PICP) το οποίο αυξήθηκε σημαντικά και παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα σε όλη την περίοδο που διήρκεσε η άσκηση. Το COOH- τελικό τελοπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου I (ICTP) –που χρησιμοποιείται ως δείκτης αποδόμησης- αυξήθηκε επίσης κατά τη διάρκεια της άσκησης αλλά πολύ γρήγορα επέστρεψε στα προ της άσκησης επίπεδα (Langberg H et al, 2001). Η αύξηση αυτή της πρωτεϊνοσύνθεσης του κολλαγόνου μεταφράζεται σε αύξηση του μεγέθους των τενόντων. Αυτό έχει αποδειχθεί τόσο σε πειραματικό μοντέλο όσο και όταν χρησιμοποιήθηκε μαγνητική τομογραφία για να συγκριθούν τένοντες σε δρομείς και μη δρομείς (Sommer HM, 1987; Rosager S et al, 2002). Παρ' όλα αυτά, δεν υπάρχει γραμμική σχέση ανάμεσα στο είδος-ένταση της άσκησης και την αύξηση της πρωτεϊνοσύνθεσης του κολλαγόνου, αφού βρέθηκε ότι τένοντες που υπόκεινται σε επαναλαμβανόμενη, χαμηλής έντασης άσκηση παρουσιάζουν μεγαλύτερη αύξηση στη σύνθεση του κολλαγόνου από τένοντες που υπόκεινται σε υψηλής έντασης άσκηση. Φαίνεται λοιπόν ότι τα μεσοδιαστήματα ανάπαυσης παίζουν σημαντικό ρόλο (Parry DA et al, 1978).

Γήρανση- Εκφύλιση

Είναι γνωστό ότι με την πάροδο του χρόνου τόσο η αγγειοβρίθεια όσο και ο κυτταρικός πληθυσμός των τενόντων μειώνεται. Υπάρχουν τένοντες όπως εκείνοι του πετάλου των στροφών στον ώμο όπου η μειωμένη αιματική ροή οδηγεί σε ελάττωση της διάχυσης θρεπτικών ουσιών και κατ' επέκταση σε κυτταρική δυσλειτουργία και εκφύλιση. Μεταβολές στην κυτταρική λειτουργία, και την σύσταση της εξωκυττάριας ουσίας που συμβαίνουν ανεξάρτητα από τις διαταραχές της αιμάτωσης συμβάλλουν στην ιστική αποδιοργάνωση Η μέση διάμετρος των κολλαγόνων ινών καθώς και ο ρυθμός σύνθεσης του κολλαγόνου ελαττώνεται γεγονός που έχει αρνητικό αντίκτυπο στις μηχανικές ιδιότητες των τενόντων (Vogel H, 1978). Οι ινοβλάστες με την

πάροδο του χρόνου αποπλατώνονται και επιμηκώνονται . Το ενδοπλασματικό δίκτυο μειώνεται ενώ υπάρχουν απώλειες και στο όργανο του Golgi. Έχει επίσης βρεθεί ότι ενώ νεαρά άτομα εμφανίζουν υψηλά επίπεδα αερόβιας γλυκόλυσης, αυτή μειώνεται σημαντικά σε ηλικιωμένα άτομα. Η σύνθεση του κολλαγόνου ελαττώνεται Όλες οι παραπάνω αλλαγές σχετίζονται πιθανότατα με τη μείωση της βιοσυνθετικής διαδικασίας και της ικανότητας των ιστών αυτών να διατηρήσουν ένα ικανοποιητικό βαθμό σταθερότητας. Η απάντηση σε πιθανά βλαπτικά ερεθίσματα και η αναγεννητική ικανότητα των ιστών επηρεάζεται επίσης σημαντικά (Bailey AJ, 2001; Cherdchutham W et al, 1999). Συγχρόνως παρατηρείται αύξηση των ενδομοριακών cross-links του κολλαγόνου που οδηγεί σε σημαντική ελάττωση της ελαστικότητας του τένοντα (Gosselin LE et al, 1998). Όπως θα περίμενε κανείς όλες οι παραπάνω αλλαγές είναι λογικό να οδηγούν έκπτωση των μηχανικών ιδιοτήτων που σχετίζονται άμεσα με την πρόοδο της ηλικίας.

Φλουροκινολόνες

Οι φλουροκινολόνες (συνθετικά αντιβιοτικά ευρέως φάσματος) μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στους τένοντες που κυμαίνονται από τενοντίτιδες μέχρι αυτόματη ρήξη. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που αφορούν στο μυοσκελετικό σύστημα εμφανίζονται σε ποσοστό μικρότερο του 1% και περιλαμβάνουν κυρίως αρθραλγίες και μυαλγίες. Ο Αχίλλειος τένοντας φαίνεται να πάσχει συχνότερα και το πιο συνηθισμένο σενάριο είναι η έναρξη οξέος πόνου λίγες ώρες μετά την έναρξη της αντιβιοτικής θεραπείας. Αυτόματες αμφοτερόπλευρες ρήξεις έχουν επίσης σημειωθεί. Στις περιπτώσεις αυτές τα κύτταρα το Αχίλλειου εμφανίζουν έντονα σημάδια εκφύλισης. Ο ακριβής μηχανισμός πρόκλησης των βλαβών δεν είναι πλήρως γνωστός. Φαίνεται πάντως ότι στόχος της κυτταροτοξικής δράσης των αντιβιοτικών αυτών αποτελούν τα μόρια των πρωτεογλυκανών και συγκεκριμένα η decorin. Περαιτέρω έρευνα χρειάζεται για να καθοριστεί με ακρίβεια η φύση της επίδρασης των αντιβιοτικών αυτών στους τένοντες (Harrell RM, 1999; Williams RJ, 2000; Bernard-Beaubois K, 1998).

Μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) και οι ιστικοί τους αναστολείς (TIMPs)

Η αποδόμηση του κολλαγόνου αποτελεί ένα υποχρεωτικό στάδιο του μεταβολισμού της θεμέλιας ουσίας και πραγματοποιείται τόσο με ενδοκυττάρια όσο και με εξωκυττάρια μηχανισμούς. Για τη διάσπαση του κολλαγόνου στον εξωκυττάρια χώρο πρωταρχικό ρόλο παίζουν οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) και οι ιστικοί αναστολείς τους (TIMPs) (Nagase H and Woessner JF, 1999). Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) είναι μια οικογένεια 25 περίπου ψευδάργυρο-εξαρτώμενων ενδο-πεπτιδασών που μετέχουν ενεργά στο μεταβολισμό της εξωκυττάριας ουσίας. Απελευθερώνονται από τα μακροφάγα και τα κύτταρα που αποδομούν την θεμέλια ουσία (Birkedal-Hansen H, et al, 1993)

Ενώ η αποσύνθεση του κολλαγόνου είναι καλά κατανοητή όταν συμβαίνει σε παθολογικές καταστάσεις που επηρεάζουν τη θεμέλια ουσία είναι λιγότερο ξεκάθαρη σε φυσιολογικές συνθήκες (Manicourt DH et al, 1995). Οι MMPs χωρίζονται σε κολλαγενάσες, ζελατινάσες, στρομελυσίνες και μεμβρανικού τύπου MMPs. Οι κολλαγενάσες (MMP-1 και MMP-8) παραδοσιακά θεωρείται ότι αναλαμβάνουν την διάσπαση του κολλαγόνου τύπου I και III (επομένως σχετίζονται περισσότερο με τις διαταραχές των τενόντων), ενώ οι ζελατινάσες (MMP-2 και MMP-9) αποδομούν το κολλαγόνο τύπου IV καθώς και άλλα συστατικά της θεμέλιας ουσίας. Πάντως φαίνεται ότι η παραπάνω "εξειδίκευση" δεν είναι τόσο αυστηρή όσο πιστεύαμε μέχρι πρότινος και ο ρόλος των MMPs είναι περισσότερο πολύπλοκος (Nagase H and Woessner JF, 1999).

Είναι γνωστό ότι η ακινητοποίηση αυξάνει την έκφραση των MMPs και οδηγεί σε αύξηση του καταβολισμού του κολλαγόνου. Η ρύθμιση των επιπέδων των MMPs σε συνάρτηση με τη φυσική δραστηριότητα δεν έχει αποσαφηνισθεί πλήρως. Γνωρίζουμε ότι συγκεκριμένες εντεγκρίνες ρυθμίζουν την έκφραση των MMPs σε καλλιέργειες ινοβλαστών σε τζελ κολλαγόνου που υφίσταται δυνάμεις έλξης και συμπίεσης (Nagase H and Woessner JF, 1999). Επιπλέον ξέρουμε ότι η MMP-1 ρυθμίζεται από αυξητικούς παράγοντες κυττοκίνες και φάρμακα που διασπών τον κυτταροσκελετό ενώ εκφράζεται επίσης ως αποτέλεσμα εφαρμογής δυνάμεων τάσεως στον ιστό και σ' αυτήν την περίπτωση εμπλέκονται εντεγκρίνες (Riikonen T et al, 1995). Το μηχανικό στρες αυξάνει την σύνθεση των MMPs χωρίς υποχρεωτικά να αυξάνει τη βιοσύνθεση του κολλαγόνου ή των μεσολαβητών της φλεγμονής. Φαίνεται επίσης ότι η IL-1 επάγει την έκφραση των MMPs γεγονός που θα μπορούσε να δρα σε συνέργια με το μηχανικό στρες (Archambault JM et al, 2002). Τα επίπεδα

των MMP-2 και -9 βρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς με μυοπάθειες (Kiesieer BC et al, 2001). Ακόμα η MMP-2 εντοπίζεται μαζί με ιντεγκρίνες στα τοιχώματα των αγγείων και φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση που συμβαίνει στους σκελετικούς μύες ως απάντηση στη χρόνια μηχανική φόρτιση (Haas TL et al, 2000). Σε πρόσφατη μελέτη ο Lo IK et al (2004) έδειξε σημαντική αύξηση του mRNA της MMP-13 σε τένοντες του στροφικού πετάλου που είχαν υποστεί ρήξη σε σύγκριση με φυσιολογικούς τένοντες. Επίσης παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των TIMPs-2, 3, 4 και MMP-3 (mRNA). Οι τένοντες όπως ήδη αναφέρθηκε αποτελούνται κυρίως από κολλαγόνο τύπου I, το οποίο αποδομείται κύρια από την MMP-1,-8,-13. Φαίνεται λοιπόν ότι η MMP-13 πιθανά να παίζει σημαντικό ρόλο στη έκπτωση και ρήξη των τενόντων (Lo IK, et al 2004).

Οι TIMPs αναστέλλουν την δράση των MMPs στους ιστούς. Έχουν ταυτοποιηθεί τέσσερις TIMPs (TIMP-1, -2, -3, -4) οι οποίοι διαφέρουν στην ικανότητά τους να αναστέλλουν τις ποικίλες MMPs (Fassina G et al, 2000). Οι TIMP-1 και TIMP-2 αναστέλλουν τη δράση όλων των MMPs δείχνοντας όμως μια προτίμηση για τις MMP-2 και-9. Πολύ συχνά οι TIMPs ενεργοποιούνται παράλληλα με τις MMPs κατά την εφαρμογή μηχανικού στρες. Φαίνεται λοιπόν ότι οι MMPs μαζί με τις TIMPs αποτελούν ένα δυναμικό σύστημα που στοχεύει στην διατήρηση της ομοιόστασης της θεμέλιας ουσίας (Koskinen Soa et al, 2002).

Ο ρόλος των αυξητικών παραγόντων

Η προσαρμογή της εξωκυττάριας ουσίας, και κυρίως της σύνθεσης του κολλαγόνου στα εξωτερικά ερεθίσματα, βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στην αλληλεπίδραση ορμονών, αυξητικών παραγόντων, πρωτεογλυκανών και στοιχείων του κυτταροσκελετού (Chiquet M, 1999).

Είναι πλέον γνωστό από πολλούς ερευνητές ότι μια πληθώρα αυξητικών παραγόντων όπως οι TGF, (transforming growth factor), ιντερλευκίνες, (IL-1, IL-6, IL-8), IGF-I (insulin-like growth factor I) fibroblast growth factors (FGF), NO, VEGF (vascular endothelial growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor) και προσταγλανδίνες, αυξάνουν την μεταβολική δραστηριότητα των ινοβλαστών. (Albrecht DE and Tidball JG, 1997; Almekinders LC and Temple JD, 1998; Bidder M et al, 2000; Hannon K et al, 1996; Harper JMM et al, 1987; Tsuzaki M et al, 1994).

Ακόμα μεγαλύτερο ενδιαφέρον προκαλούν μελέτες όπου γίνεται προσπάθεια αποκωδικοποίησης των αλληλεπιδράσεων των παραγόντων αυτών με τα ερεθίσματα που προέρχονται από τη μηχανική φόρτιση των ιστών. Για παράδειγμα οι IGF-I και – II αποτελούν ισχυρούς επαγωγικούς παράγοντες των ινοβλαστών αλλά πολλές πτυχές του ρόλου τους στη σύνθεση του κολλαγόνου στους ανθρώπινους τένοντες παραμένουν αδιευκρίνιστες (Abrahamsson SO et al, 1991; Scherping SC et al, 1997; Chang J et al, 1998). Παρ'όλα τα σκοτεινά σημεία πολλά βήματα γίνονται προς αυτή την κατεύθυνση. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι η μηχανική φόρτιση αυξάνει την έκκριση των παραγόντων TGF-β και PDGF σε τενόντιους ινοβλάστες (Skutek M et al, 2001). Σε άλλη μελέτη σε ινοβλάστες που υφίστανται μηχανική φόρτιση, βρέθηκε ότι αυξάνεται η έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν την σύνθεση του κολλαγόνου και άλλων πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας (Banes AJ et al, 1999). Ακόμα πιο ενδιαφέροντα είναι τα στοιχεία που προέρχονται από μια μελέτη σε ινοβλάστες από το μυοκάρδιο. Από τη μελέτη αυτή προκύπτουν ισχυρές ενδείξεις ότι υπάρχουν διασταυρούμενα βιολογικά μονοπάτια ανάμεσα στη δράση των αυξητικών παραγόντων και τη μηχανική φόρτιση που αφορούν στη ρύθμιση σύνθεσης του κολλαγόνου (Butt RP and Bishop JE, 1997).

Μοντέλα τραυματισμού και επούλωσης

Οι μηχανισμοί βλάβης των τενόντων μπορεί ταξινομηθούν σε μια από τις παρακάτω κατηγορίες: Εν πρώτοις, στον άμεσο, οξύ τραυματισμό που οδηγεί σε διατομή του τένοντα. Στη δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνονται περιπτώσεις απόσπασης του τένοντα από το σημείο πρόσφυσης του. Στην τελευταία κατηγορία εμπεριέχονται οι έμμεσες βλάβες του τένοντα ως αποτέλεσμα δομικής αποδιοργάνωσης που προέρχεται από συνδυασμό εσωτερικών και εξωτερικών παραγόντων. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οι περιπτώσεις επαναλαμβανόμενου μικροτραυματισμού που οδηγούν στην εκδήλωση των κλινικών συνδρόμων *υπέρχρησης (tendon overuse syndromes)* (Splain SH, 1988). Το επαναλαμβανόμενο τραύμα οδηγεί σε αδυναμία ικανοποιητικής ανακατασκευής του κολλαγόνου που καταλήγει σε χρόνιες εκφυλιστικές διαταραχές. Η κατάσταση αυτή καλείται *tendinosis*. Οι χρόνιες τενοντοπάθειες (*tendinosis*) ως αποτέλεσμα υπέρχρησης θα μπορούσαν να ειπωθούν σαν μια κατάσταση όπου ο τένοντας υφίσταται μηχανικό στρες που υπερβαίνει τη

φυσική του αντοχή και αδυνατεί να αναπτύξει ικανοποιητικούς επουλωτικούς μηχανισμούς (Kraushaar B.S. and Nirschl RP 1999).

Διαδικασία επούλωσης

Η κεντρική ιδέα που διαπνέει την επουλωτική διαδικασία στο ανθρώπινο σώμα είναι ότι μετά από κάθε διαταραχή της φυσιολογικής ομοιόστασης του οργανισμού, επιστρατεύονται τα κατάλληλα κύτταρα και χυμικοί παράγοντες που επισκευάζουν τη βλάβη (Leadbetter WB, 1992). Οι οξείες τραυματισμοί των τενόντων συνοδεύονται από λύση της συνέχειας, αιμορραγία και δομική αποδιοργάνωση του ιστού. Στη συνέχεια ακολουθεί ένας καταρράκτης γεγονότων που στοχεύουν στην ανατομική και λειτουργική αποκατάσταση της βλάβης. Η διαδικασία επούλωσης του τένοντα μετά από οξύ τραυματισμό ολοκληρώνεται σε τέσσερα στάδια. Αρχικά στο σημείο του τραύματος συρρέουν φλεγμονώδεις παράγοντες, κύτταρα του αίματος και ινώδες που γεμίζουν το χάσμα ανάμεσα στα δύο άκρα. Κολλαγόνο ανιχνεύεται την πρώτη εβδομάδα ενώ την τρίτη εβδομάδα ινίδια κολλαγόνου και ινοβλάστες γεφυρώνουν το χάσμα ανάμεσα στα δύο άκρα. Η ωρίμανση και ο προσανατολισμός των ινών του κολλαγόνου αρχίζει τρεις με τέσσερις εβδομάδες μετά τον τραυματισμό και διαρκεί αρκετούς μήνες. (Leadbetter WB, 1992). Η επούλωση ευοδώνεται με την εφαρμογή ελεγχόμενης κίνησης ή φόρτισης. Αντίθετα η πρόωπη και επιθετική κινητοποίηση αυξάνει τις πιθανότητες ρήξεως του τένοντα (Mortensen NHM, 1999).

Το παραπάνω μοντέλο αναφέρεται κυρίως στους οξείους τραυματισμούς όπως π.χ. μια διατομή τένοντα αλλά δεν μπορεί να περιγράψει τα γεγονότα που συμβαίνουν στους επαναλαμβανόμενους, χρόνιους τραυματισμούς. Οι χρόνιες βλάβες (tendinosis) δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως. Αν και πολύ συχνά χρησιμοποιείται ο όρος τενοντίτιδα για τις περιγράφει οι ιστοπαθολογικές μελέτες απέτυχαν να αποκαλύψουν την ύπαρξη ικανού αριθμού φλεγμονωδών κυττάρων που τις θα κατέτασσε στις οξείες φλεγμονές. Επομένως, θα μπορούσε κάποιος να πει ότι πρόκειται για μια εκφυλιστική διαδικασία που χαρακτηρίζεται από την παρουσία αυξημένου αριθμού ινοβλαστών, αποδιοργανωμένης εξωκυττάριας ουσίας και αγγειακής υπερπλασίας (Regan W et al., 1992).

Σύνδρομο υπέρχρησης

Η επαναλαμβανόμενη φόρτιση των τενόντων προκαλεί δομικές βλάβες που εκδηλώνονται κλινικά με τα καλούμενα *σύνδρομα υπέρχρησης*. Τα συμπτώματα, στα οποία περιλαμβάνονται κυρίως πόνος και τοπικό οίδημα, σχετίζονται συχνά με συγκεκριμένη επαγγελματική ή αθλητική δραστηριότητα (Kvist M, 1994; Kraushaar BS and Nirschl RP, 1999). Παρά το γεγονός ότι ο όρος *σύνδρομο υπέρχρησης* έχει χρησιμοποιηθεί κατά κόρον για να περιγράψει καταστάσεις που προκύπτουν όταν η ασκούμενη σε έναν ιστό δύναμη υπερβαίνει τη αντοχή του και οδηγεί σε έκπτωση των μηχανικών του ιδιοτήτων, η ακριβής παθοφυσιολογία δεν είναι επαρκώς κατανοητή (Kraushaar BS and Nirschl RP, 1999). Για το λόγο αυτό ο παραπάνω όρος χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια ανομοιογενή ομάδα διαταραχών. Είναι γνωστό ότι ορισμένες από τις κλινικές οντότητες που χαρακτηρίζονται ως σύνδρομα υπέρχρησης σχετίζονται με παθολογικές μεταβολές της δομής του τένοντα είτε λόγω προσαρμογής της βιοχημικής του σύστασης στη μηχανική φόρτιση, είτε λόγω προοδευτικής ιστικής εκφύλισης (Aaström M, 1998; Aaström M and Rausing A, 1995). Επιπλέον υπάρχουν καταστάσεις όπου εκτός από τον τένοντα πάσχει το τενόντιο έλυτρο και ολόκληρη η παρατενόντια περιοχή και συνήθως σχετίζονται με πρόσκρουση του τένοντα σε άκαμπτες οστικές δομές. Στην τελευταία κατηγορία περιλαμβάνονται βλάβες στα σημεία πρόσφυσης των τενόντων στα οστά (Benjamin M and Ralphs JR, 1998).

Στην προσπάθεια μας να κατανοήσουμε τις διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στην παθογένεια των *συνδρόμων υπέρχρησης* έχουν κατασκευαστεί διάφορα πειραματικά μοντέλα. Στα πειραματόζωα που χρησιμοποιήθηκαν επιχειρήθηκε να δημιουργηθούν συνθήκες που να μιμούνται την φλεγμονή και την ιστική εκφύλιση χρησιμοποιώντας διάφορους τρόπους. Παρά όμως τις επαναλαμβανόμενες προσπάθειες τα πειράματα δεν είχαν πάντοτε τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, τόσο σε κουνέλια όσο και σε αρουραίους κατέστη εξαιρετικά δύσκολο να δημιουργηθεί ένα πειστικό μοντέλο που να μιμείται τις χρόνιες διαταραχές των τενόντων (Messner K et al, 1999; Archambault JM et al, 1998). Άλλοι ερευνητές στάθηκαν πιο τυχεροί και κατάφεραν να επιτύχουν συνθήκες που να προσομοιάζουν με τα σύνδρομα αυτά. (Birch HL et al, 1998). Το γεγονός όμως ότι ακόμα και όταν επιτεύχθηκε ιστική βλάβη που προσομοιάζει με τις χρόνιες τενοντίτιδες τα ζώα χρειάστηκε να υποβληθούν σε μη φυσιολογικές συνθήκες μηχανικής φόρτισης, μαρτυρά την πολυπλοκότητα των

μηχανισμών που διέπουν τα σύνδρομα υπέρχρησης και τη δυσκολία προσέγγισης τους.

Προσπαθώντας κανείς να φωτίσει την παθοφυσιολογία του παραπάνω κλινικού συνδρόμου θα πρέπει να εστιάσει στις εξής συνιστώσες: 1) Η συμμετοχή φλεγμονωδών παραγόντων, 2) η δράση αγγειορυθμιστικών παραγόντων και 3) ο ρόλος των διαβιβαστών του πόνου .

Προδιαθεσικοί παράγοντες

Ανάμεσα στους προδιαθεσικούς παράγοντες που σχετίζονται με την ανάπτυξη κλινικού συνδρόμου υπέρχρησης περιλαμβάνονται το γενετικό υπόστρωμα του ατόμου, συμπαρομαρτούντα χρόνια νοσήματα , ανατομικές ανωμαλίες και φυσικά η χρήση φαρμάκων.

Ο Nirschl RP (1969) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ορισμένοι ασθενείς με επικονδυλίτιδα στον αγκώνα (tennis elbow) πιθανά διαθέτουν ένα συγκεκριμένο γενετικό υπόστρωμα που τους καθιστά πιο επιρρεπείς στην ανάπτυξη τέτοιου είδους διαταραχών σε διάφορα μέρη του σώματος. Στη συνέχεια ονόμασε αυτή την κατάσταση μεσεγχυματικό σύνδρομο, βασιζόμενος στην πεποίθηση μιας πιθανής συστηματικής ανωμαλίας στη λειτουργία των ινοβλαστών. Ασθενείς με μεσεγχυματικό σύνδρομο θα πρέπει να έχουν δύο ή περισσότερα από τα παρακάτω κριτήρια: αμφοτερόπλευρη επικονδυλίτιδα του έξω επικόνδυλου του αγκώνα, επικονδυλίτιδα του έσω επικόνδυλου, σύνδρομο ταρσιαίου σωλήνα, σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα, εκτινασσόμενο δάκτυλο, τενοντοελυτρίτιδα de Quervain, tendinosis του πετάλου των στροφέων στον ώμο (Nirschl RP, 1969). Σε πρόσφατη κλινική έρευνα σε 205 ασθενείς διαπιστώθηκε ότι ο κίνδυνος ρήξης του τενοντίου πετάλου των στροφέων στον ώμο ήταν σημαντικά αυξημένος ανάμεσα σε αδέρφια, γεγονός που τονίζει την σημασία της γενετικής επίδρασης στην ανάπτυξη του κλινικού συνδρόμου (Harvie P et al, 2004). Άλλοι ερευνητές έδειξαν ότι άτομα με ομάδα αιματος O είχαν αυξημένη επίπτωση τραυματισμού του Αχίλλειου, ενώ

βρέθηκε πρόσφατα ότι συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί στο γονίδιο COL5A1 που κωδικοποιεί το κολλαγόνο τύπου V σχετίζονται με χρόνιες βλάβες του ίδιου τένοντα (Jozsa L et al, 1989; Kujala UM et al, 1992; Collins M et al, 2003).

Αυτόματη ρήξη τενόντων έχει περιγραφεί στη βιβλιογραφία και συνδυάζεται με επαναλαμβανόμενους μικροτραυματισμούς σε έδαφος χρόνιων παθολογικών καταστάσεων όπως χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, αυτοάνοσα νοσήματα, σακχαρώδη διαβήτη κ.α. (Dhar S, 1988; Splain SH, 1988; Tedd RJ and Norton MR, 2000).

Στη λίστα των προδιαθεσικών παραγόντων προστίθεται και η αύξηση της θερμοκρασίας του τένοντα ως αποτέλεσμα αυξημένης μυϊκής δραστηριότητας. Σε πειραματόζωα βρέθηκε ότι μετά από έντονη φυσική άσκηση η θερμοκρασία στον τένοντα αυξήθηκε κατά 5–6°C γεγονός που θεωρητικά τουλάχιστον θα μπορούσε να επηρεάσει τη λειτουργία των ινοβλαστών. Οι ίδιοι ερευνητές μελέτησαν τον κυτταρικό θάνατο σε καλλιέργειες ινοβλαστών από τένοντες αλόγων οι οποίες εξετάθησαν *in vitro* σε υψηλές θερμοκρασίες. Από το πείραμα αυτό φάνηκε ότι η επιβίωση των κυττάρων διατηρήθηκε σε πολύ ικανοποιητικά επίπεδα στους 45°C αλλά μειώθηκε σημαντικά όταν το θερμομότρο άγγιξε τους 48 °C. Επομένως μπορούμε να υποθέσουμε ότι ενώ η αύξηση της θερμοκρασίας *in vivo* είναι αμφίβολο ότι μπορεί να επηρεάσει την επιβίωση των κυττάρων, τα επαναλαμβανόμενα επεισόδια υπερθέρμανσης ίσως επιδρούν αρνητικά στις κυτταρικές λειτουργίες και τελικά οδηγούν σε αποδιοργάνωση της εξωκυττάριας ουσίας και εκφύλιση του τένοντα (Birch HL et al, 1997). Όμως όταν μελετήθηκε κατά πόσο η αύξηση της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της άσκησης επιδρά στις βισκοελαστικές ιδιότητες των τενόντων σε αθλητές, τα αποτελέσματα δεν μπόρεσαν να στηρίξουν την παραπάνω υπόθεση (Magnusson SP et al, 2000).

Τέλος όπως ήδη συζητήθηκε οι φλουροκινολόνες μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στους τένοντες που υπολογίζεται ότι φτάνει τους 15-20/100.000 ασθενείς που λαμβάνουν το φάρμακο. Ο ακριβής μηχανισμός πρόκλησης των βλαβών, που κυμαίνονται από αρθραλγίες έως αυτόματη ρήξη τενόντων, δεν είναι πλήρως γνωστός. Φαίνεται πάντως ότι στόχος της κυτταροτοξικής δράσης των αντιβιοτικών αυτών αποτελούν τα μόρια των πρωτεογλυκανών και συγκεκριμένα η decorin (Harrell RM, 1999).

Tendinosis: Η βλάβη που προηγείται της ρήξης.

Οι προαναφερθέντες προδιαθεσικοί παράγοντες εξηγούν εν μέρει μόνο τους λόγους που οδηγούν στην εκφύλιση και ρήξη του τένοντα. Ανάμεσα όμως στους προδιαθεσικούς παράγοντες και την τελική κατάληξη μεσολαβεί μια αλληλουχία παθοφυσιολογικών συμβάντων. Είναι λοιπόν αναγκαίο να διερευνηθεί κανείς τη σειρά των γεγονότων που προηγούνται της ρήξης.

Έχει αναγνωρισθεί ότι οι χρόνιες τενοντίτιδες ακολουθούν τέσσερα στάδια εξέλιξης. Στο πρώτο στάδιο κυριαρχεί η δράση των φλεγμονωδών παραγόντων. Οι αλλαγές που συμβαίνουν είναι παροδικές. Το δεύτερο στάδιο σχετίζεται με τις ιστολογικές αλλοιώσεις που περιγράφηκαν κάτω από τον όρο "tendinosis" ενώ στο τρίτο στάδιο στην παραπάνω εικόνα προστίθεται η ρήξη. Τέλος, στο τέταρτο στάδιο υπάρχουν οι παραπάνω ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε υπερθετικό βαθμό σε συνδυασμό με ίνωση και ασβέστωση (Nirschl RP, 1988).

Σε άτομα που υπέστησαν ρήξη Αχιλλείου διαπιστώθηκε η ύπαρξη μιας "ασθενούς" περιοχής στον τένοντα η οποία εν δυνάμει εξελίσσεται σε ρήξη. Χρόνια τενοντίτιδα σ' αυτά τα άτομα συνοδεύεται από μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση του κολλαγόνου τύπου I και III. (Ireland D et al, 2001). Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται να επιβεβαιώσουν παρατηρήσεις άλλων ερευνητών οι οποίοι διαπίστωσαν μείωση του συνολικού ποσού του κολλαγόνου και αύξηση του κολλαγόνου τύπου III σε ασθενείς με τενοντίτιδα του υπερακανθίου (Riley GP et al, 1994). Τέτοιες μεταβολές φαίνεται ότι συνοδεύουν εν γένει ιστούς υπό επούλωση, και μεταφράζονται ως απόπειρα του οργανισμού να επισκευάσει την ιστική βλάβη (Williams IF et al, 1984; Bailey AJ et al, 1975). Ακόμα ισχυρότερες αποδείξεις προέκυψαν όταν βρέθηκε αύξηση της έκφρασης του κολλαγόνου τύπου III σε περιοχές ρήξης σε σύγκριση με φυσιολογικούς τένοντες αλλά και με απομακρυσμένες από την εστία της ρήξης περιοχές του ίδιου τένοντα (Eriksen HA et al, 2002). Φαίνεται μάλιστα ότι η αύξηση

αυτή συμβαίνει σταδιακά και ξεκινάει πολύ πριν το τελικό συμβάν που θα οδηγήσει στη ρήξη. Οι ίνες του κολλαγόνου τύπου III είναι λεπτότερες από τις τύπου I γεγονός που επηρεάζει τις εμβιομηχανικές ιδιότητες του ιστού. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι σε ασθενείς με ετερόπλευρη χρόνια τενοντίτιδα στον Αχίλλειο, παρατηρήθηκε αύξηση των ινών τύπου I και κλινική ύφεση του πόνου μετά από 12 εβδομάδες εντατικής άσκησης. Επομένως γίνεται φανερό ότι η άσκηση μπορεί να ανατρέψει την αναλογία κολλαγόνου τύπου I προς τύπου III σε ασθενείς με χρόνια τενοντίτιδα και πιθανά να αποτρέψει περαιτέρω εκφύλιση και ρήξη (Langberg H et al, 2007). Ένα ακόμα σημαντικό εύρημα στους ασθενείς με χρόνια τενοντίτιδα του Αχίλλειου ήταν τα χαμηλά επίπεδα MMP-3 που καταδεικνύουν ότι η διαδικασία αποδόμησης και ανακατασκευής της θεμέλιας ουσίας είναι δυσμενώς επηρεασμένη. Θεωρείται λοιπόν ότι η MMP-3 εμπλέκεται στη φυσιολογική διατήρηση και αναδόμηση του μυοτενοντώδους πετάλου και ότι η μείωση της δραστηριότητάς της συνδέεται με αποτυχία στην αναδιοργάνωση της εξωκυττάριας ουσίας (Ireland D et al, 2001; Lo IK, et al, 2004).

Σύνδρομα υπέρχρησης και φλεγμονή

Σταθερό ιστολογικό εύρημα στα σύνδρομα υπέρχρησης είναι η απουσία φλεγμονωδών κυττάρων. Για το λόγο αυτό, πολλοί συγγραφείς θεωρούν ότι ο όρος "tendinosis" είναι πιο δόκιμος από τον όρο "tendonitis" που υποδηλώνει οξεία φλεγμονή. Παρά την παρουσία των ιστολογικών και περιεγχειρητικών ευρημάτων που δεν συνάδουν με οξεία φλεγμονή, εντούτοις, άλλα στοιχεία όπως ο πόνος, η τοπική ευαισθησία και το οίδημα καθώς και η ανταπόκριση των ασθενών αυτών σε αντιφλεγμονώδεις φαρμακευτικούς παράγοντες όπως τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη και τα κορτικοστεροειδή, θέτουν υπό αμφισβήτηση τον αποκλεισμό οιασδήποτε φλεγμονώδους διαδικασίας στην ανάπτυξη των παραπάνω συνδρόμων (Almekinders LC and Temple JD, 1998; Fredberg U, 1997). Κινούμενοι προς αυτή την κατεύθυνση, έγινε προσπάθεια ποσοτικού υπολογισμού των προσταγλανδινών στον Αχίλλειο και τον επιγονατιδικό τένοντα (Alfredson H et al, 2001; Alfredson H et al, 1999). Αυξημένα επίπεδα προσταγλανδινών δεν βρέθηκαν σ' αυτές τις μελέτες.

Άλλοι ερευνητές χρησιμοποιώντας ινοβλάστες από τένοντες με σύνδρομο υπέρχρησης βρήκαν αυξημένα επίπεδα TGF-1 γεγονός που υποδηλώνει μεταβολές στην έκφραση και σύνθεση των αυξητικών και φλεγμονωδών παραγόντων (Fu SC et al, 2002). Επίσης σε άλλη μελέτη διαπιστώθηκε αύξηση των προσταγλανδινών στο περιτενόντιο πέταλο του Αχίλλειου τένοντα κατά τη διάρκεια μηχανικής φόρτισης (Langberg H et al, 2003). Επιπλέον, είναι γνωστό ότι μη στερινοειδή αντιφλεγμονώδη όπως η πυροξικάμη αυξάνουν τη μηχανική αντοχή συνδέσμων κατά τη διάρκεια επούλωσης αλλά όχι αφότου ολοκληρωθεί αυτή. Η ευεργετική αυτή δράση της πυροξικάμης παύει να ισχύει σε φυσιολογικούς, μη τραυματισμένους, ιστούς (Dahners LE et al, 1988).

Αντίθετα αποτελέσματα προέκυψαν από πιο πρόσφατες έρευνες όσον αφορά στην επίδραση της celecoxib (εκλεκτικός αναστολέας της COX-2) στην αντοχή συνδέσμων κατά τη διάρκεια επούλωσης σε πειραματόζωα. Στη μελέτη αυτή φάνηκε ότι οι σύνδεσμοι που προέρχονταν από τα ζώα που έλαβαν το φάρμακο υστερούσαν στις μηχανικές ιδιότητες σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου (Elder CL et al, 2001). Τέλος ενδιαφέρον προκαλεί μελέτη όπου φάνηκε ότι η χορήγηση προσταγλανδίνης E1 στον Αχίλλειο τένοντα αρουραίων προκάλεσε ιστική βλάβη παρόμοια με την εικόνα που βλέπουμε στις χρόνιες τενοντοπάθειες. Παρόλα αυτά δεν υπάρχει αποκρυσταλλωμένη άποψη για το πώς η φλεγμονώδης διαδικασία επιδρά στην επούλωση και αναγέννηση των τενόντων (Sullo A et al, 2001)

Σύνδρομο υπέρχρησης: αγγείωση, ιστική αιματική ροή και οξυγόνωση.

Όπως ήδη αναφέρθηκε οι περιοχές των τενόντων με ελαττωμένη αιματική ροή εμφανίζουν συχνότερα σημεία εκφύλισης και ρήξης συγκρινόμενες με τις περιοχές που διαθέτουν πλουσιότερη αιμάτωση. Είναι γνωστό για παράδειγμα ότι οι περιοχές του Αχίλλειου που εμφανίζουν συχνότερα σημεία τενοντοπάθειας υπολείπονται σε αιμάτωση (Hästad K et al, 1958). Οι τένοντες του στροφικού πετάλου του ώμου που εμφανίζουν ρήξη διαθέτουν χαμηλή συγκέντρωση τριχοειδών (Biberthaler P et al, 2003). Παραμένοντας στον ώμο, υπάρχουν μελέτες που μιλούν για μια ανάγεια ζώνη μήκους περίπου 1 εκ. κεντρικά της πρόσφυσης του πετάλου των στροφέων.

Παραμένει όμως εν μέρει αδιευκρίνιστο κατά πόσο η υπάρδευση συμβάλλει στην εκφύλιση και ρήξη του τένοντα (Lohr JF et al, 1990).

Οι δυσχερείς συνθήκες αιμάτωσης και κατ' επέκταση οξυγόνωσης των κυττάρων επιφέρουν βιοχημικές μεταβολές σε άλλοτε άλλους ιστούς, Ενδιαφέρον προκαλεί το εύρημα ότι πειραματόζωα που υποβλήθηκαν σε φυσική άσκηση σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης οξυγόνου, εμφάνισαν αύξηση της έκφρασης του κολλαγόνου τύπου III και IV στο μυοκάρδιο, πράγμα που δεν συνέβη για το κολλαγόνο τύπου I. (Perhonen M et al, 1996). Ενδέχεται με παρόμοιο τρόπο να επηρεάζεται η έκφραση του κολλαγόνου στον τένοντα και κάτω από συνθήκες χαμηλής παροχής οξυγόνου να οδηγείται στην εκφύλιση και ρήξη. Επιπλέον η ισχαιμία φαίνεται να επηρεάζει την έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) σε διάφορους ιστούς. Συγκεκριμένα η MMP-9 φαίνεται να αυξάνεται στον εξωκυττάριο χώρο μετά από εγκεφαλική ισχαιμία ενώ επιδρά στην ιστική αναγέννηση μετά από πειραματική βλάβη του νωτιαίου μυελού (Planas AM et al, 2002; Duchossoy Y et al, 2001). Σημαντική είναι η δράση των MMPs στην αγγειογένεση των σκελετικών μυών μέσω αυξητικών παραγόντων (Silvestre JB et al, 2001). Σε τένοντες ατόμων που έπασχαν από χρόνια τενοντοπάθεια βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος (Alfredson H et al, 2002). Αυτό θα μπορούσε να μεταφραστεί ως αύξηση του αναερόβιου μεταβολισμού που ενδεχομένως σχετίζεται με την παθογένεια της βλάβης.

Όπως ήδη τονίστηκε η αγγειακή υπερπλασία αποτελεί μέρος της ιστοπαθολογικής εικόνας στην tendinosis. Τα αγγεία εμφανίζουν ανώμαλους και ανώριμους χαρακτήρες. Διάφοροι συγγραφείς έχουν αποδώσει σ' αυτή την κατάσταση χαρακτήρες αγγειίτιδας (Kannus P et al, 1991). Ο Leadbetter αναφέρει ότι η ανάπτυξη των αγγείων συνοδεύεται από επιθηλιακή υπερπλασία και σχηματισμό μικροθρόμβωσης ενώ οι Regan et al θεωρούν ότι η αγγειακή υπερπλασία παραπέμπει σε ανώριμη επουλωτική διαδικασία (Leadbetter WB, 1992; Regan W, et al, 1992). Ανοσοϊστοχημικές μελέτες καθώς και τεχνικές ηλεκτρονικής μικροσκοπίας χρησιμοποιήθηκαν για να διαλευκάνουν την αγγειακή υπερπλασία που παρατηρείται σ' αυτές τις καταστάσεις. Χρησιμοποιώντας αντιγόνο για τις λείες μυϊκές ίνες (SMA) διαπιστώθηκε ότι μόνο τα μεγαλύτερα και δομικά ώριμα αγγεία διαθέτουν ελαστίνη

στο τοίχωμα τους και συμπεριφέρονται σαν αιμοφόρα αγγεία (Kraushaar BS and Nirschl RP. 1999). Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκάλυψε ανωμαλίες στο τοίχωμα των αγγείων καθώς και στα περικύτταρα. Επιπροσθέτως η θεμέλια ουσία που περιέβαλε αυτά τα αγγεία ήταν χαμηλής ποιότητας. Επομένως γίνεται κατανοητό ότι η αγγειακή υπερπλασία δεν συνάδει με αυξημένη ιστική οξυγόνωση και ικανοποιητική αναγεννητική διαδικασία (Kannus P et al, 1991)

Ο ρόλος της απόπτωσης

Η απόπτωση, ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι μια φυσιολογική διαδικασία των ζωντανών οργανισμών που στοχεύει στην διατήρηση της ομοιόστασης (Cohen JJ, 1994). Ο όρος εισήχθη το 1972 από τον Kerr et al και περιγράφει ένα ενδογενές πρόγραμμα "αυτοκτονίας" των κυττάρων (Kerr JF et al, 1972). Η απόπτωση αποτελεί ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον πεδίο έρευνας των νεοπλασματικών, ανοσολογικών και νευροεκφυλιστικών διαταραχών. Αυξημένος ρυθμός έχει παρατηρηθεί στη νόσο Alzheimer και Parkinson καθώς και σε εκφυλιστικές νόσους του μυοσκελετικού συστήματος όπως η οστεοαρθρίτιδα και οι χρόνιες τενοντοπάθειες (Schindowski K et al, 2003; Zin I et al, 1997; Sharif M et al, 2004 Yuan J et al, 2002).

Ο Murrell GA (2002) θεωρεί ότι ο αυξημένος ρυθμός κυτταρικού θανάτου αποτελεί την καρδιά του προβλήματος στις χρόνιες εκφυλιστικές τενοντοπάθειες του στροφικού πετάλου του ώμου. Προτείνει μάλιστα ένα μοντέλο σύμφωνα με το οποίο η επαναλαμβανόμενη μηχανική φόρτιση οδηγεί σε ενεργοποίηση της c-Jun N-terminal kinase (JNK). Ενώ η παροδική ενεργοποίηση αυτού του ενζύμου θεωρείται φυσιολογική για την κυτταρική λειτουργία, η μόνιμη ενεργοποίησή του συνδέεται με αύξηση του ρυθμού του κυτταρικού θανάτου στα τενοντοκύτταρα (Murrell GA, 2002). Η ίδια ομάδα διερεύνησε την απόπτωση χρησιμοποιώντας μεθόδους DNA laddering και TUNEL σε ασθενείς με ρήξη του στροφικού πετάλου και σε φυσιολογικά άτομα. Παρατηρήθηκε μέχρι και τριπλάσια αύξηση του ρυθμού του κυτταρικού θανάτου στα άτομα με τη ρήξη των στροφέων σε σύγκριση με την ομάδα

ελέγχου. Επομένως θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι οι αυξημένοι ρυθμοί απόπτωσης επηρεάζουν τη σύνθεση του κολλαγόνου με αποτέλεσμα η θεμέλια ουσία να αποδυναμώνεται και ο τένοντας να οδηγείται σε εκφύλιση και ρήξη (Yuan J et al, 2002).

Χρόνια τενοντοπάθεια και πόνος

Κατά γενική ομολογία, οι τενοντοπάθειες από υπέρχρηση στερούνται στοιχείων που θα μπορούσαν να τις εντάξουν στις οξείες ή χρόνιες φλεγμονές. Η περιστασιακή παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων δεν εξηγεί την παρουσία πόνου σ' αυτές τις καταστάσεις. (Leadbetter WB, 1992). Πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι το νευρικό σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο όχι μόνο στη δημιουργία και μεταφορά του αλγινού ερεθίσματος, αλλά και στην κάλυψη των μεταβολικών αναγκών του ιστού (Curtis AS and Snyder SJ, 1993; Kraushaar BS and Nirschl RP, 1999). Επιπλέον υπάρχουν αναφορές που σχετίζουν την συμπαθητική νεύρωση του μυοσκελετικού συστήματος με την ρύθμιση της αιματικής ροής και πιθανά με την φλεγμονώδη αντίδραση. Αύτη η διαδικασία καλείται "νευρογενής φλεγμονή" και μολονότι δεν έχει κατανοηθεί σε όλες τις λεπτομέρειες φαίνεται ότι νευροπεπτίδια όπως το calcitonin gene-related peptide (CGRP), το substance P (SP) και tyrosine hydroxylase (TH) κατέχουν ενεργό ρόλο (Schwab W et al, 1997; Bjorn- Ove Ljung et al, 1999).

Σε σχετικά πρόσφατη έρευνα διαπιστώθηκε ότι τένοντες από ασθενείς με σύνδρομο υπέρχρησης εμφανίζουν υψηλά επίπεδα glutamate. Ο ακριβής του ρόλος δεν είναι απόλυτα κατανοητός όμως γνωρίζουμε ότι το glutamate αποτελεί δυνητικό μεταβιβαστή του πόνου στο κεντρικό νευρικό σύστημα και ίσως να συμμετέχει στο επώδυνο ερέθισμα στους ασθενείς με tendinosis (Alfredson H et al, 2001). Γνωρίζουμε επίσης ότι η δράση του ως νευροδιαβιβαστής του πόνου σχετίζεται άμεσα με το SP. Σε πειραματόζωα ιστική βλάβη στον τένοντα οδηγεί σε αύξηση της ποσότητας του SP μέσα στον τένοντα (Abrahamsson SO and Lohmander S, 1996). Άλλοι ερευνητές κατόρθωσαν να συνδέσουν το ποσό του SP με την ένταση του πόνου σε ασθενείς με ρήξη του πετάλου των στροφών στον ώμο (Gotoh M et al, 1999). Επιπρόσθετα, υπάρχουν ενδείξεις ότι η μηχανική φόρτιση αυξάνει την έκκριση

βραδυκινίνης στους περιτενόντιους ιστούς ενισχύοντας την υπόθεση ότι οι μεταβολές στις συγκεντρώσεις διαφόρων διαβιβαστών του πόνου ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για το αίσθημα του πόνου στις χρόνιες τενοντοπάθειες (Langberg H et al, 2002).

Το CGRP φαίνεται να λειτουργεί ως αγγειοδραστικός παράγοντας. Παρουσιάζει μεγαλύτερη συγκέντρωση στους τένοντες απ' ότι στους συνδέσμους και τον αρθρικό θύλακο. Σε πειραματόζωα αύξηση των επιπέδων του CGRP σχετίζονται με ιστική καταστροφή μετά την εφαρμογή έντονης μηχανικής φόρτισης (Abrahamsson SO and Lohmander S, 1996). Αν και δεν είναι γνωστό αν συμβαίνει το ίδιο και σε ανθρώπινους ιστούς, το παραπάνω μοντέλο θα μπορούσε να εξηγήσει την υπεραϊμία που παρατηρείται σε ανθρώπινους τένοντες που υπόκεινται σε σημαντικά μηχανικά φορτία (Aaström M and Westlin N, 1994). Εκτός όμως από τα παραπάνω νευροπεπτίδια η έκλυση άλλων αγγειοδραστικών παραγόντων όπως είναι οι προσταγλανδίνες και οι προστακυκλίνες φαίνεται να συνεισφέρουν στην υπεραϊμία που συμβαίνει κατά τη φυσική άσκηση (Boushel R et al, 2002).

Τένοντες με ιδιαίτερες "ευαισθησίες"

Μιλώντας για τένοντες και τενοντοπάθειες μπορεί εύκολα να σκεφτεί κανείς συγκεκριμένες ανατομικές περιοχές που παρουσιάζουν αυξημένη επίπτωση αυτών των διαταραχών. Θα μπορούσε κανείς με βάση όσα ήδη ειπώθηκαν να δώσει μια ικανοποιητική εξήγηση γι' αυτό το φαινόμενο;

Στροφικό πέταλο στον ώμο:

Η εκφύλιση των τενόντων του πετάλου των στροφέων στον ώμο καθώς και η έκταση της βλάβης αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας. Από το σύνολο των τενόντων του στροφικού πετάλου, ο υπερακάνθιος εμφανίζει αυξημένα ποσοστά εκφύλισης και ρήξης ιδιαίτερα σε ηλικιωμένα άτομα (Hijioka A et al, 1993; Sher JS et al, 1995). Πολλές θεωρίες ερίζουν για το ποια είναι η βάση της παθογένειας αυτής της περιοχής. Επιγραμματικά αναφέρουμε τη θεωρία του Codman (Codman EA, 1934)

για την ύπαρξη μιας περιοχής σχετικά ελαττωμένης αιμάτωσης, τη θεωρία της μηχανικής πρόσκρουσης του Neer (Neer CS, 1983) και τέλος τη θεωρία της μορφολογίας του ακρωμίου (Zuckerman JD et al, 1997). Εκτενέστερες αναφορές θα γίνουν στο ειδικό μέρος.

Ο Αχίλλειος τένοντας

Παρά το γεγονός ότι ο Αχίλλειος τένοντας αποτελεί τον ισχυρότερο τένοντα στο ανθρώπινο σώμα, συχνότατα υπόκεινται σε τραυματικές βλάβες. Κατά τη βάδιση οι δυνάμεις που ασκούνται στο Αχίλλειο ξεπερνούν το διπλάσιο του βάρους του σώματος ενώ στο τρέξιμο οι δυνάμεις αυτές πολλαπλασιάζονται και φτάνουν στις 6 με 12 φορές το βάρος του σώματος (Perry J, 1983; Komi PV et al, 1992). Παράγοντες όπως πρηγνισμός –υπτιασμός και ραιβότητα –βλαισότητα του άκρου ποδός φαίνεται να συμβάλουν στην ανάπτυξη της τενοντοπάθειας. Παρά ταύτα, δεν υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που να υποστηρίζουν την χρήση ορθωτικών μέσων για την αντιμετώπιση της χρόνιας τενοντίτιδας του Αχίλλειου (Komi PV et al, 1993; Kvist M, 1994). Φαίνεται όμως να υπάρχουν ενδείξεις που συνδέουν την εκφυλιστική αυτή κατάσταση με τη χρόνια μηχανική φόρτιση του τένοντα. (Fredberg U and Bolvig L, 2002). Επιπρόσθετοι επιβαρυντικοί παράγοντες περιλαμβάνουν την λήψη αντιβιοτικών που ανήκουν στην οικογένεια των φλουροκινολόνων, (van der Linden PD et al, 2003) οι εγχύσεις κορτικοστεροειδών στον τένοντα, (Kleinman M and Gross AE, 1983) και τέλος η ύπαρξη μια πιθανής ανάγγκιας ζώνης (Carr AJ and Norris SH, 1989; Langberg H et al, 1998; Astrom M and Westlin N, 1994).

Ο οπίσθιος κνημιαίος.

Ένας άλλος τένοντας που πάσχει πολύ συχνά είναι ο οπίσθιος κνημιαίος. Η δυσλειτουργία αυτού του τένοντα αποτελεί συχνότατη αιτία ανάπτυξης πλατυποδίας στους ενήλικες (Funk DA et al, 1986). Ο πληθυσμός που προσβάλλεται συχνότερα είναι γυναίκες μέσης ηλικίας. Μια πλειάδα πιθανών παραγόντων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη αυτής της παθολογίας έχει αναφερθεί κατά καιρούς, όπως η μεγάλη ηλικία, η αρτηριακή υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης και οι φλεγμονώδεις αρθρίτιδες (Kohls-Gatzoulis J et al, 2004). Και στην περίπτωση αυτού του τένοντα υπάρχουν ενδείξεις για την ύπαρξη μια ζώνης με σχετικά υπολειπόμενη αιμάτωση που είναι πιο ευπαθής στην ανάπτυξη παθολογίας (Frey C et al, 1990).

Εμβιομηχανικοί παράγοντες όπως ο ακραίος πρητισμός του άκρου ποδός φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο (Kohls-Gatzoulis J et al, 2004).

Ο επιγονατιδικός τένοντας.

Η χρόνια τενοντίτιδα του επιγονατιδικού τένοντα είναι αρκετά συχνή (Ferretti A, 1986). Από πολλούς πιστεύεται ότι πρόκειται για εκφυλιστική διαταραχή ενώ υπάρχουν συγγραφείς που υποστηρίζουν τη θεωρία της μηχανικής πρόσκρουσης. Σύμφωνα μ' αυτήν ο κάτω πόλος της επιγονατίδας προσκρούει στον τένοντα κατά κάμψη του γόνατος (Khan KM et al, 2005 ; Johnson DP et al, 1996; Schmid MR et al, 2002) Στα παραπάνω θα μπορούσαν να προστεθούν εμβιομηχανικοί παράγοντες όπως η γωνία 'Q', ή η έξω στροφή της κνήμης κ.α (Zernicke RF et al, 1977).

Μόρια κυτταρικής συνάφειας

Οι πρωτεΐνες κυτταρικής συνάφειας παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος καθώς λειτουργούν ως καθοδηγητικά μόρια κατά τη διάρκεια ανάπτυξης, μετανάστευσής και επέκτασης των νευρώνων. Οι πρωτεΐνες αυτές είτε προέρχονται είτε από τα ίδια τα κύτταρα είτε από στοιχεία του μικροπεριβάλλοντος τους. Τα μόρια συνάφειας μπορούν να χωριστούν περαιτέρω στις τρεις παρακάτω κατηγορίες ανάλογα με την οικογένεια στην οποία ανήκουν: (1) Πρωτεΐνες που ανήκουν στην υπεροικογένεια των *ανοσοσφαιρινών*, (2) Πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια των *καντχερινών (cadherins)* και (3) Πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια των *ιντεγκρινών (integrins)*.

Πρωτεΐνες που ανήκουν στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών

Η οικογένεια των ανοσοσφαιρινών περιλαμβάνει πολλά μέλη από τα οποία το πιο άφθονο στο νευρικό σύστημα είναι η *NCAM* (Neural Cell Adhesion Molecule). Η πρωτεΐνη αυτή παίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία δεσμών συνάφειας μεταξύ των κυττάρων. Επίσης παίζει ρόλο στην καθοδήγηση νευραξόνων και των κυττάρων που μεταναστεύουν (Rousselot et al, 1995; Tang et al, 1994).

Ένα άλλο διαμεμβρανικό μόριο συνάφειας, που ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών είναι η πρωτεΐνη NrCAM (N-CAM related Cell Adhesion Molecule). Έχει αποδειχθεί ότι το μόριο αυτό εμπλέκεται στην συνάφεια μεταξύ των κυττάρων (Mauro et al, 1992). Επιπλέον αναστέλλει ή επάγει την επέκταση νευραξόνων, ανάλογα με το είδος των κυττάρων στο οποίο εκφράζεται και ανάλογα με τα μόρια με τα οποία αλληλεπιδρά (Grumet, 1997).

Ένα άλλο μόριο συνάφειας, είναι η *TAG-1* (Transiently expressed Axonal Glycoprotein), η οποία ελέγχει την καθοδήγηση και επέκταση των νευραξόνων (Lustig et al, 1999) και επάγει τη συνάφεια των κυττάρων μεταξύ τους (Tsiotra et al, 1996; Felsenfeld et al, 1994). Πρόσφατα δεδομένα έχουν αποκαλύψει ότι η πρωτεΐνη TAG-1 εμπλέκεται και στην μετανάστευση νευρώνων κατά την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος (Denaxa et al., 2001). Ακόμα έχει δειχθεί ότι αλληλεπιδρά με το μόριο συνάφειας L1 και μάλιστα αυτή η αλληλεπίδραση έχει δειχθεί ότι είναι απαραίτητη για την επέκταση νευραξόνων ορισμένων κυτταρικών πληθυσμών (Felsenfeld et al, 1994)

Η πρωτεΐνη *F3* είναι άλλο ένα μόριο το οποίο ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών. Έχει δειχθεί ότι παίζει ρόλο στη συνάφεια των κυττάρων μεταξύ τους και εμπλέκεται στην επέκταση και τη δεσμιδοποίηση νευραξόνων συγκεκριμένων νευρώνων (Buttiglione et al, 1998).

Ένα άλλο μόριο της ίδιας υπεροικογένειας, με το οποίο ασχοληθήκαμε σ' αυτή την εργασία είναι η *L1*. Η *L1* είναι ένα μόριο κυτταρικής συνάφειας που εκφράζεται στην επιφάνεια των αναπτυσσόμενων νευραξόνων και στα κύτταρα Schwann στις αμύελες νευρικές ίνες (Martini and Schachner 1986). Διαθέτει έξι επαναλήψεις ομόλογων των C2 ανοσοσφαιρινικών περιοχών, πέντε επαναλήψεις με ομολογία στις φιμπρονεκτινικές τύπου III περιοχές, μια διαμεμβρανική περιοχή, μια κυτταροπλασματική καρβοξυ-τελική ουρά και μοριακό βάρος ~200 kD (Moos et al, 1988).

Η πρωτεΐνη αυτή κατέχει εξέχουσα θέση στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος καθώς εμπλέκεται σε πολυάριθμες βιολογικές διαδικασίες. Περιληπτικά θα μπορούσε να αναφέρει κανείς την ανάπτυξη των νευρώνων, την ρύθμιση της επέκτασης νευραξόνων (Chang et al, 1987), την μυελινοποίηση και την δεσμιδοποίηση των

αναπτυσσόμενων νευραξόνων. Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκεται στη μετανάστευση συγκεκριμένων κυτταρικών πληθυσμών (Miyata et al, 1992) και στις διαδικασίες αναγέννησης του ώριμου νευρικού συστήματος. Η L1 CAM συνδέεται με μια πληθώρα εξωκυττάρων μορίων που περιλαμβάνει την ίδια την L1, άλλα μέλη της οικογένειας των ανοσοφαιρινών όπως οι Tag-1/axonin -1, contactin /F3/F11, ιντεγκρίνες και άλλα συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας. Οι αλληλεπιδράσεις της L1 με τα προαναφερθέντα μόρια έχουν ιδιαίτερη σημασία καθώς πυροδοτούν την ενεργοποίηση ενδοκυττάρων επικοινωνιακών συστημάτων. όπως fibroblast growth factor receptor 1, MAPK systems. Επιπροσθέτως συμμετέχει στην ρύθμιση της πλαστικότητας των συνάψεων.

Πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια των cadherins (καντχερινών)

Η οικογένεια των *cadherins* περιλαμβάνει πολλά μέλη από τα οποία η *N-καντχερίνη* απαντάται με μεγαλύτερη συχνότητα στο νευρικό σύστημα. Το μόριο αυτό συνδέεται με άλλα μόρια *N-καντχερίνης*, που εκφράζονται από τα γειτονικά κύτταρα ή άξονες και επάγει τη συνάφεια των κυττάρων μεταξύ τους (Takeichi, 1987). Η συγκεκριμένη διαδικασία απαιτεί την παρουσία ιόντων Ca^{++} . Οι *cadherins* είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Το ενδοκυττάριο τμήμα τους συνδέεται με μια οικογένεια μορίων που ονομάζονται κατενίνες (*catenins*), οι οποίες με τη σειρά τους αλληλεπιδρούν με στοιχεία του κυτταροσκελετού (Kandel et al, 1991).

Πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια των ιντεγκρινών (*integrins*)

Οι *integrins* είναι μια ομάδα γλυκο-πρωτεϊνών, οι οποίες λειτουργούν ως υποδοχείς των πρωτεϊνών του εξωκυττάρου χώρου. Ανάμεσα στις πρωτεΐνες του εξωκυττάρου χώρου περιλαμβάνονται λαμινίνη, η φιμπρονεκτίνη (Varela-Echavarría and Guthrie, 1997). Σε πιο πρόσφατες μελέτες έγινε γνωστό ότι και άλλες πρωτεΐνες όπως το κολλαγόνο και η τενασίνη συνδέονται με τις *integrins* και εμπλέκονται σε διαδικασίες μετανάστευσης και επέκτασης νευραξόνων (Varela-Echavarría and Guthrie, 1997).

Ρήξεις του στροφικού πετάλου–Κλινική οντότητα

Οι ρήξεις του πετάλου των στροφέων περιλαμβάνονται ανάμεσα στις συχνότερες αιτίες πόνου στην περιοχή του ώμου (Bunker T, 2002). Επειδή ο ώμος αποτελεί την τρίτη κατά σειρά πηγή συμπτωμάτων από το μυοσκελετικό (μετά το γόνατο και τη σπονδυλική στήλη), γίνεται φανερό ότι η παθολογία του στροφικού πετάλου έχει σημαντικό κοινωνικό-οικονομικό κόστος (Urwin M et al, 1998). Πτωματικές μελέτες σε ηλικιωμένα άτομα έδειξαν ότι η συχνότητα ρήξεων ολικού πάχους κυμαίνεται από 5% έως 30% (Lehman C et al, 1995; Neer CS 2nd et al, 1992). Σε μελέτες που χρησιμοποιήθηκε μαγνητική τομογραφία και υπερηχογράφημα βρέθηκε ότι η συχνότητα ασυμπτωματικών ρήξεων ολικού πάχους κυμαίνεται από 15% έως 23% στο γενικό πληθυσμό. Σε άτομα κάτω των 60 ετών το ποσοστό είναι 4-13% ενώ μετά την έβδομη δεκαετία της ζωής το ποσοστό μπορεί να ξεπεράσει το 50% (Sher JS et al, 1995; Tempelhof S et al, 1999).

Μηχανισμοί ρήξης

Η παθογένεση των ρήξεων του πετάλου των στροφέων αν και δεν είναι πλήρως γνωστή, ενέχει δύο κύριους μηχανισμούς :την μηχανική πρόσκρουση και τη δράση ενδογενών παραγόντων (που ήδη αναλύθηκαν) που πυροδοτούν την εκφυλιστική διαδικασία (Bigliani L.U et al,1986; Neer CS 2nd, 1972; Neer CS 2nd, 1983; Ogata S and Uhthoff HK, 1990; Uhthoff HK et al, 1988).

Οι ανατομικές δομές που εμπλέκονται στην ανάπτυξη παθολογίας στο πέταλο των στροφέων περιλαμβάνουν τους τένοντες του στροφικού πετάλου ,το ακρώμιο, τον κορακοακρωμιακό σύνδεσμο, και την ακρομιοκλειδική άρθρωση.

Το 1986 ο Bigliani et al μελέτησε την μορφολογία του ακρωμίου σε μια πτωματική μελέτη και στη συνέχεια προχώρησε στην κατάταξη του σε τρεις τύπους: επίπεδο, καμπυλώδες και δίκην άγκιστρου (Bigliani LU et al,1986). Αργότερα ο Aoki et al παρατήρησε ότι το acromial spur αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας (Aoki M et al, 1987). Έκτοτε πολλές μελέτες έγιναν προκειμένου να καθορίσουν την σχέση ανάμεσα στο acromial spur και τις βλάβες στο στροφικό πέταλο. Σε ακτινολογική πτωματική μελέτη διαπιστώθηκε ότι acromial spur ή οστεόφυτα ήταν παρόντα σε ποσοστό 21%

σε άτομα με φυσιολογικό στροφικό πέταλο ενώ το ποσοστό άγγιζε το 100% σε άτομα με ρήξη του πετάλου (Ozaki J et al, 1988). Άλλοι ερευνητές βρήκαν ότι τόσο το acromial spur όσο και οι ρήξεις στο στροφικό πέταλο αυξάνουν με την πρόοδο της ηλικίας. Στην ίδια όμως μελέτη βρέθηκε ότι και υγιή άτομα άνω των 40 ετών εμφάνιζαν acromial spur (Liotard J et al, 1998). Από τις έρευνες αυτές γίνεται αντιληπτό ότι υπάρχει στενή σχέση ανάμεσα στην προχωρημένη ηλικία, την παθολογία του στροφικού πετάλου και τον σχηματισμό acromial spur. Όμως στον παραπάνω κανόνα υπάρχουν και αρκετές εξαιρέσεις, έτσι η παρουσία spur δεν σημαίνει αναγκαστικά βλάβη στους τένοντες του πετάλου.

Το πάχος, το μήκος και η ελαστικότητα του κορακοακρωμιακού συνδέσμου, σχετίζονται με τις ρήξεις του πετάλου. Η παρουσία συγγενών ανωμαλιών όπως το os acromiale εμπλέκονται στη παθολογία της περιοχής. Η ακρωμιοκλειδική άρθρωση αποτελεί μια επιπλέον αιτία πρόσκρουσης και κατ' επέκταση ρήξης (Jih-Yang Ko et al, 2006; Gohle F et al, 1993).

Εκτός από την παραπάνω κλασσική πλέον θεωρία της μηχανικής πρόσκρουσης, πολλοί ερευνητές εστιάζουν στην θεωρία της αγγειακής δυσπραγίας. (Rathbun JB and Macnab I, 1970; Moseley HF and Goldie I, 1963). Παρά το γεγονός ότι σε αρκετές μελέτες διαπιστώθηκε μια ζώνη που στερείται αγγείωσης μήκους περίπου 1 εκ κεντρικά της πρόσφυσης του κοινού καταφυτικού τένοντα των στροφικών παραμένει ασαφές σε ποιο βαθμό η χαμηλή αιματική παροχή στην περιοχή ευθύνεται για την εκφύλιση και τη ρήξη (Lohr JF and Uthoff HK, 1990). Αντίθετα ο Fukuda et al (1990) κάνει λόγο για μια περιοχή με σχετικά αυξημένη αγγείωση σε τένοντες με ρήξη μερικού πάχους (Fukuda H et 1990). Αυτό έρχεται σε συμφωνία με άλλη μελέτη που έδειξε αύξηση της αιματικής ροής στα όρια της βλάβης (Swiontkowski MF et al, 1990). Όπως όμως ήδη αναφέρθηκε η αγγειακή υπερπλασία στις καταστάσεις αυτές παραπέμπει σε ανώριμη επουλωτική διαδικασία (Regan W et al, 1992).

Κατάταξη, φυσική πορεία και εξέλιξη των ρήξεων.

Οι ρήξεις του στροφικού πετάλου μπορεί να συμβούν είτε ως αποτέλεσμα ενός μεμονωμένου τραυματικού γεγονότος είτε ως τελική συνέπεια μιας μακροχρόνιας εκφυλιστικής διαδικασίας. Το πρώτο σενάριο αφορά κυρίως σε άτομα νεαρής ηλικίας. Η πλειοψηφία όμως των ρήξεων συμβαίνει σε άτομα άνω των 40 ετών όπου το τραυματικό γεγονός δρα σε έδαφος προϋπάρχουσας χρόνιας τενοντοπάθειας.

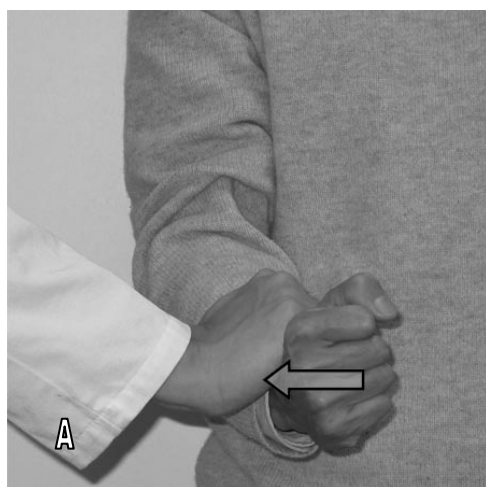
Οι ρήξεις μπορούν επίσης να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με την έκταση της βλάβης σε μερικού και ολικού πάχους. Από τη στιγμή που μια ρήξη μερικού πάχους θα συμβεί η εξέλιξη της σε ολικού πάχους είναι σχεδόν βεβαία εκτός και αν αρθεί το αίτιο που προκάλεσε τη ρήξη. Επούλωση στην αρθρική πλευρά του πετάλου σπάνια συμβαίνει λόγω της αρνητικής επίδρασης του αρθρικού υγρού, της μηχανικής υπερφόρτωσης και της έλξης από τις αποσπασμένες τενόντιες ίνες. Αντίθετα ρήξεις που βρίσκονται στη μεριά της bursa επουλώνονται ευκολότερα. Το σημείο της βλάβης μπορεί να επουλωθεί με τμήμα της bursa που γεφυρώνει τα δύο άκρα και σχηματίζει ουλώδη ιστό. Παρά ταύτα, οι μηχανικές ιδιότητες του ουλώδους ιστού υπολείπονται του φυσιολογικού τένοντα. Η επέκταση της ρήξης σηματοδοτείται από ένα επεισόδιο οξέος πόνου. Στη συνέχεια έπεται η φάση της φλεγμονώδους αντίδρασης, στο τέλος της οποίας συμβαίνει άλλοτε άλλου βαθμού ρίκνωση της κάψας. Η λειτουργία της άρθρωσης παραμένει σε σχετικά ικανοποιητικά επίπεδα για αρκετό καιρό. Τελικό στάδιο της παραπάνω διαδικασίας είναι η ανάπτυξη αρθρίτιδας στην γληνοβραχιόνια άρθρωση (Neer CS et al, 1983).

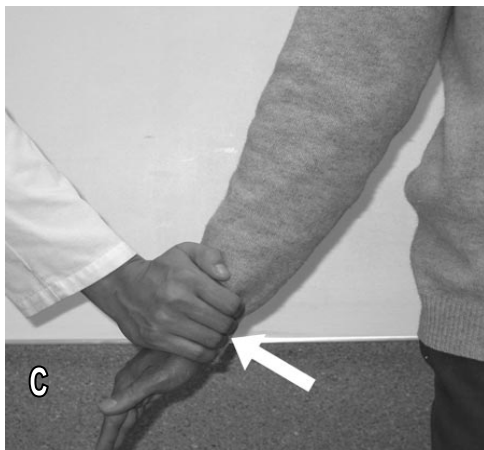
Κλινική εκτίμηση

Η έναρξη των συμπτωμάτων μπορεί να είναι είτε θορυβώδης είτε σταδιακά επιδεινούμενη. Όχι σπάνια έπεται κάποιου τραυματικού γεγονότος. Πόνος και αδυναμία είναι τα πιο σταθερά συμπτώματα. Ο πόνος μπορεί να εκλύεται κατά την κίνηση αλλά πολύ συχνά είναι νυκτερινός και διαταράσσει τον ύπνο του ασθενούς. Άλλες πάλι φορές η αδυναμία είναι το κύριο ενόχλημα. Όταν συμβεί ρίκνωση της κάψας υπάρχει κάποιου βαθμού περιορισμός στην κίνηση της άρθρωσης. Η κλινική εξέταση έχει ευαισθησία στην ανίχνευση πλήρους ρήξης του στροφικού πετάλου που φτάνει το 90% ενώ η ειδικότητα της αγγίζει το 54% (Dinnes J et al, 2003).

Ο Murrell και ο Walton μελέτησαν 23 κλινικές παραμέτρους για ρήξη του στροφικού πετάλου και κατέληξαν ότι η αδυναμία του υπερακανθίου, η αδυναμία στην έξω στροφή και η παρουσία πρόσκρουσης είναι τα χρησιμότερα κλινικά σημεία. Αν και οι τρεις αυτοί παράμετροι συνυπάρχουν ή εάν υπάρχουν μόνο οι δύο και ο ασθενής είναι πάνω από 60 ετών, η πιθανότητα να πάσχει από μερική ή ολική ρήξη αγγίζει το 98 % (Murrell GA and Walton JR, 2001). Σύμφωνα με άλλους ερευνητές η αδυναμία έξω στροφής και η παρουσία νυκτερινού πόνου σε άτομα άνω των 65 αποτελεί σταθερό σημείο ρήξης (Litaker D et al, 2000).

Αδυναμία στην απαγωγή και θετικό σημείο πρόσκρουσης είναι αναμενόμενα στις ρήξεις του στροφικού πετάλου διότι στην πλειονότητα των περιπτώσεων εμπλέκεται ο υπερακάνθιος. Αδυναμία στην έξω στροφή συνάδει με βλάβη του υπακάνθιου. Υπάρχουν τρία κύρια τεστ που ελέγχουν τον υπερακάνθιο των υπακάνθιο και τον υποπλάτιο. Η λειτουργία του υπερακανθίου ελέγχεται με το βραχίονα σε απαγωγή 20° και σχεδόν πλήρη έξω στροφή. Στη συνέχεια ζητείται από τον ασθενή να απάγει τον βραχίονα του ενάντια στην ασκούμενη από τον εξεταστή δύναμη. Σε αδυναμία διατήρησης της θέσης αυτής το σημείο θεωρείται θετικό. Για τον υπακάνθιο, ο βραχίονας φέρεται σε απαγωγή 90° και σχεδόν πλήρη έξω στροφή. Αδυναμία του εξεταζόμενου να διατηρήσει αυτή τη θέση μεταφράζεται ως αδυναμία του μυός. Τέλος ο υπερπλάτιος ελέγχεται με το βραχίονα να φέρεται πίσω από τη ράχη σε σχεδόν πλήρη έσω στροφή και ζητείται από τον ασθενή να διατηρήσει αυτή τη θέση. Αν αυτό δε συμβεί το σημείο θεωρείται θετικό (Hertel R et al, 1996).





Εικόνα 7: Α) Έλεγχος αδυναμίας έξω στροφής. Ο αγκώνας κάμπτεται στις 90° και ο ώμος βρίσκεται σε 20° στροφή. Ο εξεταστής τοποθετεί το χέρι του στον καρπό του εξεταζόμενου και ζητάει από το εξεταζόμενο να ασκήσει αντίθετη δύναμη (βέλος). Β) Έλεγχος του υποπλατίου: Ο βραχίονας φέρεται πίσω από τη ράχη σε σχεδόν πλήρη έσω στροφή και ζητείται από τον ασθενή να διατηρήσει αυτή τη θέση. Γ) Έλεγχος του υπερακανθίου: Με τον αγκώνα σε έκταση και το βραχίονα σε 20° απαγωγή ζητείται από τον ασθενή να απάγει τον βραχίονα (βέλος) ενάντια στην ασκούμενη από τον εξεταστή δύναμη. (Moosikasuwan et al, 2005).

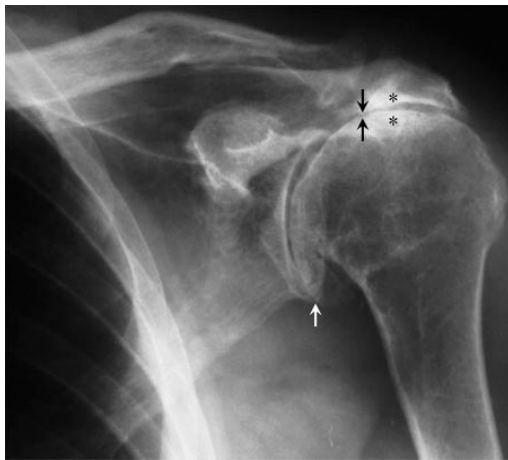
Η παρουσία υπακρωμιακής πρόσκρουσης ελέγχεται χρησιμοποιώντας το κλασσικό τεστ του Neer. Στο τεστ αυτό ο βραχίονας του εξεταζόμενου απομακρύνεται παθητικά από τον κορμό κρατώντας σταθερή την ωμοπλάτη. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί το τεστ Hawkins όπου ο βραχίονας κάμπτεται στις 90° και στη συνέχεια εφαρμόζεται έσω στροφή ενώ ο αγκώνας διατηρείται ελαφρώς κεκαμμένος. Και τα δυο τεστ θεωρούνται θετικά όταν προκληθεί πόνος. Και τα δύο έχουν υψηλό βαθμό ευαισθησίας (80-90%) αλλά χαμηλή ειδικότητα στην ανίχνευση ρήξεων του στροφικού πετάλου. Εάν προκληθεί πόνος το τεστ θεωρείται θετικό (Neer CS 2nd. 1972; Zaslav KR. 2001; MacDonald PB et al, 2000; Neer CS 2nd 1983).

Η συμμετοχή της ακρωμιοκλειδικής άρθρωσης καθώς και η σταθερότητα της γληνοβραχιόνιας άρθρωσης θα πρέπει πάντα να αξιολογούνται καθώς συχνά σχετίζονται με την παθολογία της περιοχής.

Απεικονιστικός έλεγχος

Ο κλασσικός ακτινολογικός έλεγχος παραμένει η εξέταση εκλογής για την έναρξη διερεύνησης της παθολογίας του στροφικού πετάλου. Από τις απλές ακτινογραφίες μπορεί κάποιος να διαπιστώσει την τυχόν εναπόθεση ασβεστίου στους τένοντες, πιθανή αρθρίτιδα στην ακρωμιοκλειδική ή γληνοβραχιόνια άρθρωση και φυσικά τη μορφολογία του ακρωμίου. Ένα πλήρες σετ περιλαμβάνει προσθιοπίσθια λήψη με το

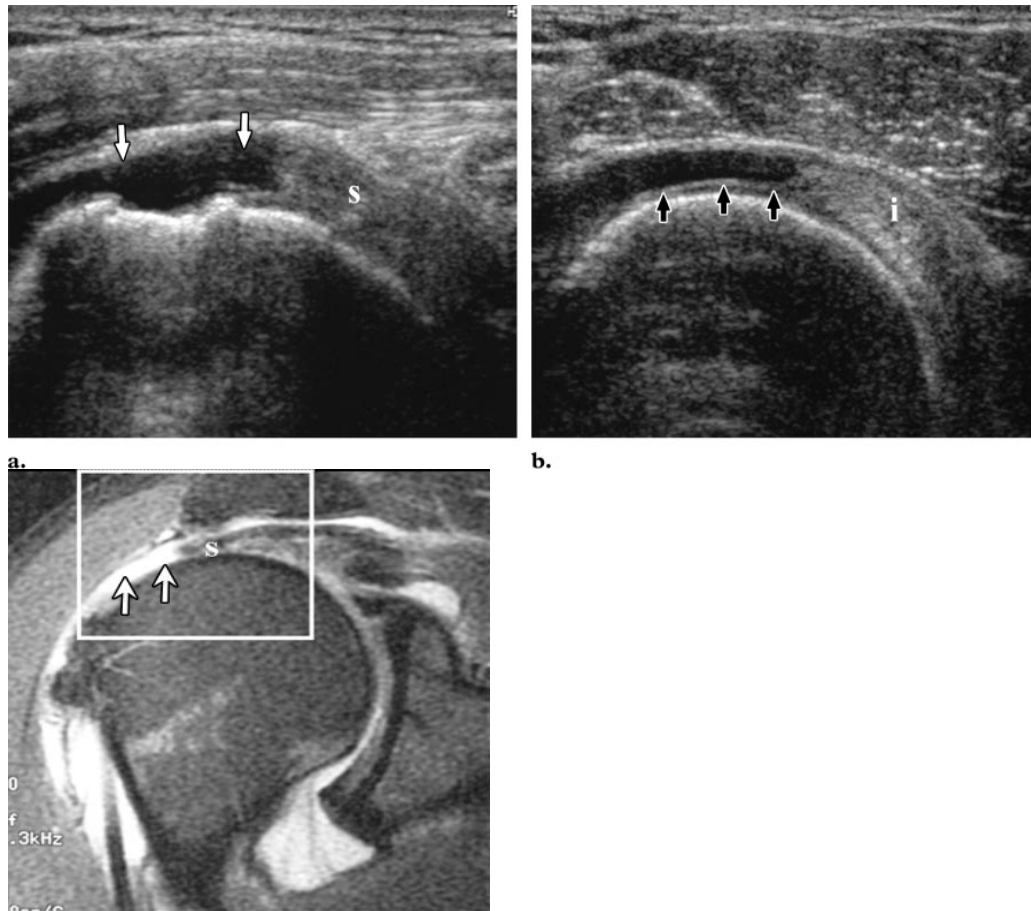
βραχίονα σε έσω, έξω στροφή και ουδέτερη θέση, προβολή Υ και διαμασχαλιαία προβολή. Η προβολή Υ είναι ιδανική για την απεικόνιση του υπακρωμιακού χώρου και για την μορφολογία του ακρώμιου. Η διαμασχαλιαία προβολή αποκαλύπτει το ακρώμιο και την κορακοειδή απόφυση καθώς και τυχόν απασβεστώσεις του κορακοακρωμιακού συνδέσμου. Τέλος, η προσθιοπίσθια προβολή χρησιμεύει για την εκτίμηση της γληνοβραχιόνιας άρθρωσης του υπακρωμιακού χώρου και του μείζονος βραχιονίου ογκώματος (De Smet AA and Ting YM, 1977; Pearsall AW 4th et al, 2003).



Εικόνα 8: Απλή ακτινογραφία της γληνοβραχιόνιας άρθρωσης που απεικονίζει χρόνια ρήξη του στροφικού πετάλου που έχει καταλήξει σε εκφυλιστική αρθροπάθεια. Χαρακτηριστική είναι η ελάττωση της απόστασης ανάμεσα στην κεφαλή του βραχιονίου και το ακρώμιο (μαύρο βέλος) και η σκλήρυνση (αστερίσκος). Παρατηρήστε επίσης τα οστεόφυτα της κεφαλής του βραχιονίου (λευκό βέλος). (Moosikasuan et al, 2005).

Η χρήση των υπερήχων στη διάγνωση των διαταραχών των μαλακών μορίων στον ώμο έχει αποδειχτεί ότι διαθέτει μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα (Crass JR et al, 1984; Middleton WD et al, 1984). Σε πρόσφατη σχετικά έρευνα που έγινε σύγκριση υπερηχογραφήματος και MR (μαγνητική τομογραφία) αποδείχθηκε ότι και οι δύο μέθοδοι είχαν ποσοστό ακρίβειας για την ανίχνευση ρήξεων του στροφικού πετάλου που πλησίαζε το 90% (Teefey SA et al, 2004). Σ' αυτή την μελέτη οι υπέρηχοι κατάφεραν να ανιχνεύσουν 45 από τις 46 ρήξεις ολικού πάχους και 13 από τις 19 μερικού πάχους. Τα αντίστοιχα ποσοστά για τη μαγνητική τομογραφία ήταν 46 στα 46 και 12 στα 19. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι παρά τα πλεονέκτημα των υπερήχων η χρήση τους περιορίζεται από το γεγονός ότι απαιτούν ακτινολόγους με σχετική εξειδίκευση. Η μαγνητική τομογραφία προσφέρει μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα στην ανίχνευση ρήξεων του στροφικού πετάλου. Η διαγνωστική της ακρίβεια μπορεί

να πολλαπλασιαστεί από τη χρήση ενδαρθρικής ή ενδοφλέβιας έγχυσης σκιαγραφικού.



Εικόνα 9: Εικόνα πλήρους ρήξης του υπερακανθίου (a) Η εικόνα από το US καταδεικνύει μια υπόψη περιοχή στον υπερακάνθιο τένοντα (βέλος). Παρατηρήστε ότι το άκρο του τένοντα (S). (b) Φυσιολογικός υπακάνθιος τένοντας στον ίδιο ασθενή. (c) T2 ακολουθία MRI απεικονίζει την ολικού πάχους ρήξης του υπερακανθίου (βέλος). (Moosikasuwana et al, 2005).

Αντιμετώπιση

Μη χειρουργική θεραπεία:

Οι περισσότεροι ασθενείς με χρόνιες, μικρής έκτασης ρήξεις θεραπεύονται συντηρητικά. Στόχος της θεραπείας είναι η ανακούφιση του πόνου και η βελτίωση της λειτουργίας του ώμου. Οξείες ρήξεις επιλέγονται να αντιμετωπιστούν με συντηρητικά μέσα μόνο όταν προκαλούν μικρού βαθμού περιορισμό της λειτουργίας της άρθρωσης. Το θεραπευτικό πρωτόκολλο περιλαμβάνει τη διατήρηση ή αποκατάσταση της κίνησης, την ενδυνάμωση των ακέραιων ανατομικών στοιχείων, και την αντιμετώπιση του πόνου (With MA et al, 1997).

Παράγοντες που επηρεάζουν την έκβαση της συντηρητικής θεραπείας είναι η έκταση της βλάβης, η χρονιότητα των συμπτωμάτων, η ηλικία και οι λειτουργικές απαιτήσεις του ασθενούς. Τα ποσοστά επιτυχίας κυμαίνονται από 30-80%. Η χρονιότητα της βλάβης φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο αφού εάν η διάρκεια των συμπτωμάτων είναι μικρότερη των τριών μηνών οι πιθανότητες ικανοποιητικής έκβασης αγγίζει το 80% ενώ αν ξεπεραστεί το εξάμηνο το ποσοστό πέφτει στο 50% (Bartolozzi A et al, 1994; Bokor DJ et al, 1993).

Χειρουργική Θεραπεία

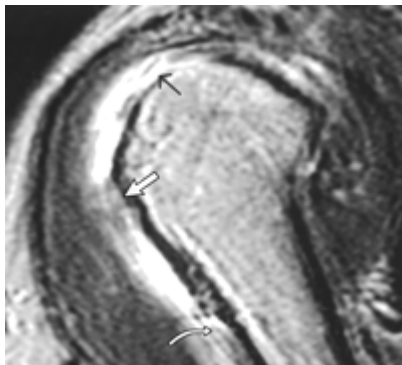
Οι βασικοί άξονες που κινείται η χειρουργική θεραπεία είναι δύο. Ο πρώτος περιλαμβάνει ανατομική αποκατάσταση των τενόντων που έχουν υποστεί ρήξη με ή χωρίς αποσυμπίεση του υπακρωμιακού χώρου και ο δεύτερος περιορίζεται στο υπακρωμιακό debridement ή αποσυμπίεση. Απόλυτη ένδειξη για ανατομική αποκατάσταση της ρήξης είναι η ύπαρξη οξείας ρήξης σε άτομα με υψηλές λειτουργικές απαιτήσεις. Η μεμονωμένη αποσυμπίεση του υπακρωμιακού χώρου προορίζεται για άτομα με βλάβες που δεν επιδέχονται αποκατάσταση ή για άτομα με δυνητικά επισκευάσιμες βλάβες με εξαιρετικά χαμηλές λειτουργικές απαιτήσεις.

Τα αποτελέσματα ποικίλουν και εξαρτώνται από το μέγεθος της βλάβης, την επιλεγείσα θεραπεία και τη συνεργασία του ασθενούς (Misamore G.W et al, 1995). Ανατομική αποκατάσταση σε συνδυασμό με αποσυμπίεση βελτιώνουν το χειρουργικό αποτέλεσμα. Η πρώιμη χειρουργική αποκατάσταση εμφανίζει πλεονεκτήματα σε σχέση με την όψιμη (Basset RW and Cofield RH, 1983). Επαναρρήξεις συμβαίνουν σε ποσοστό 20% όταν η βλάβη περιορίζεται στον υπερακάνθιο ενώ φτάνει το 50% όταν συνυπάρχει βλάβη του υπακάνθιου (Harryman DT et al, 1991). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι ανάμεσα στους παραπάνω ασθενείς (με επαναρρήξη) το μεγαλύτερο ποσοστό παραπονιέται για αδυναμία και όχι για πόνο. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν δυσμενώς το χειρουργικό αποτέλεσμα είναι η μεγάλη ηλικία και η απουσία κίνητρου από τον ασθενή (Hattrup SJ, 1995; Misamore GW et al, 1995).

Ο τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.

Από το 17^ο αιώνα ο τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου (LHB) έχει αναγνωρισθεί ως σημαντική αιτία πόνου στον ώμο. Ο λειτουργικός του ρόλος βρίσκεται ακόμα υπό συζήτηση αν και υπάρχει ένας αυξανόμενος αριθμός ενδείξεων ότι δρα ως σταθεροποιητής της βραχιόνιας κεφαλής (Patton WC and McCluskey GM 3rd, 2001). Τα κλινικά προβλήματα που προέρχονται από τη ανατομική αυτή δομή μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες κατηγορίες: εκείνα που συνδέονται με την παθολογία του στροφικού πετάλου και εκείνα που είναι μεμονωμένα και οφείλονται σε βλάβες στο σημείο έκφυσης του τένοντα.

Στο 95 % των ασθενών με χρόνια τενοντοπάθεια της μακράς κεφαλής του δικέφαλου η αιτία είναι δευτεροπαθής και οφείλεται σε υπακρωμιακή πρόσκρουση. Πολύ συχνά δε, συνοδεύονται από ρήξη του τένοντα του υποπλατίου (Beall DP et al,2003). Σ' αυτή την περίπτωση οι περισσότεροι συγγραφείς συμφωνούν ότι η θεραπευτική προσέγγιση πρέπει να περιλαμβάνει την αντιμετώπιση της παθολογίας του στροφικού πετάλου(Curtis AS and Snyder SJ, 1993). Οι ασθενείς αυτοί εμφανίζουν ένα ανομοιογενές φάσμα παθολογικών αλλοιώσεων του τένοντα του δικέφαλου. Σε πρόσφατη σχετικά μελέτη που με διάρκεια εννέα χρόνια, οι συγγραφείς εξέτασαν τον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου σε 122 ασθενείς με πλήρη ρήξη του στροφικού πετάλου που υποβλήθηκαν σε χειρουργική αποκατάσταση της ρήξης. Από τους ασθενείς αυτούς το 41% έπασχαν από τενοντίτιδα, στο 8% ο τένοντας βρισκόταν σε υπεξάρθρημα, στο 10% ο τένοντας βρισκόταν σε εξάρθρημα, στο 12% παρατηρήθηκε μερική ρήξη ενώ σε ένα ποσοστό 5% η ρήξη ήταν πλήρης. Οι υπόλοιποι ασθενείς (24%) δεν εμφάνισαν καμία παθολογία. Όλες οι χρόνιες βλάβες του στροφικού πετάλου (> 3 μήνες) συνοδεύονταν από παθολογικές αλλοιώσεις του LHB. Όταν δε η ρήξη του πετάλου ήταν μεγαλύτερη από 5 cm οι συνοδές βλάβες του δικέφαλου ήταν ιδιαίτερα εκτεταμένες (Chen CH et al ,2005).



Εικόνα 10: Ακολουθία T2 μαγνητικής τομογραφίας που απεικονίζει ρήξη ολικού πάχους του υπερακανθίου (μαύρο βέλος), και του υποπλατίου (λευκό ίσιο βέλος) μαζί με ρήξη του δικέφαλου (λευκό βέλος με καμπύλη)

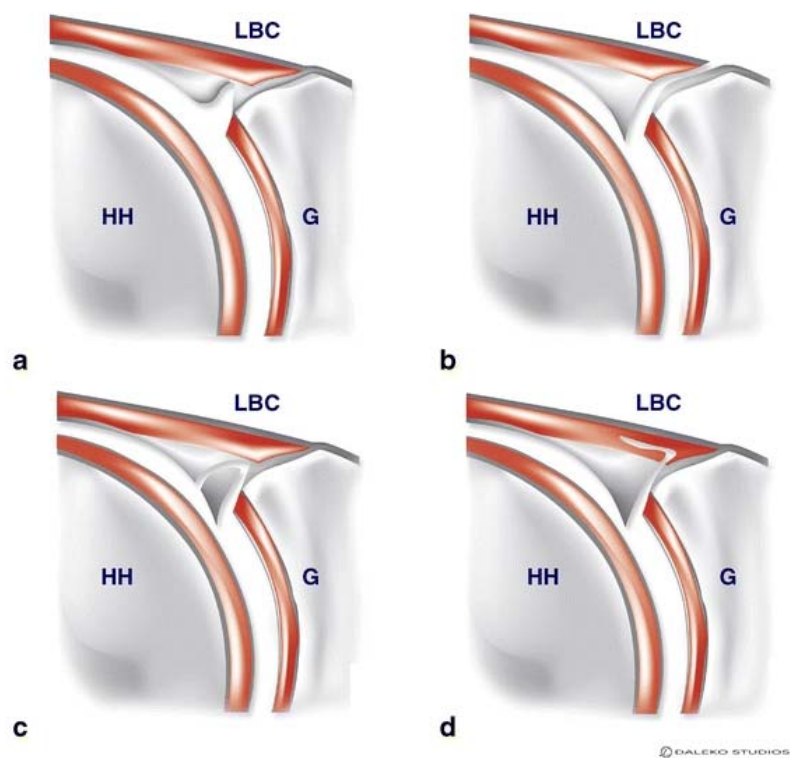
Στην περίπτωση που υπάρχει παθολογία από τον δικέφαλο τα συμπτώματα είναι τόσο έντονα και βασανιστικά για τους ασθενείς ώστε η απώλεια του τένοντα να θεωρείται πολύ λιγότερο ζημιογόνα από την παραμονή του. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη σημασία στην αξιολόγηση των συμπτωμάτων αυτών και στην προσπάθεια εξεύρεσης λύσης για την άμβλυνση τους. Παρ' όλο που δεν είναι αποδεκτό από όλους, πολλοί συγγραφείς προτείνουν την τενόδεση του δικέφαλου σε περιπτώσεις χρόνιας φλεγμονής ή δομικών αλλοιώσεων του τένοντα αφού τα ποσοστά αποκατάστασης αυτού του είδους των βλαβών είναι εξαιρετικά χαμηλά.

Οι ενδείξεις τενόδεσης συνοψίζονται ως εξής: 1) μεγαλύτερο από 25% μερική ρήξη του τένοντα, 2) χρόνιες ατροφικές μεταβολές του τένοντα, 3) κάθε είδους μετακίνηση του τένοντα από τη δικεφαλική αύλακα (εξάρθρημα, υπεξάρθρημα) 4) κάθε είδους διαταραχή των οστικών ή μαλακών μορίων όπως για παράδειγμα συντριπτικό κάταγμα του άνω πέρατος του βραχιονίου. Πρέπει όμως να τονίσουμε ότι η τενόδεση δεν συνιστάται ως επέμβαση ρουτίνας κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης των ρήξεων του στροφικού πετάλου αλλά θα πρέπει να εφαρμόζεται όταν οι βλάβες του δικέφαλου θεωρούνται μη αναστρέψιμες και ανθεκτικές στην συντηρητική θεραπεία (Sethi N et al, 1999). Τα τελευταία χρόνια η τενόδεση με τη χρήση αρθροσκοπικής τεχνικής κερδίζει συνεχώς έδαφος προσφέροντας εξαιρετικά αποτελέσματα για την αντιμετώπιση αυτών των διαταραχών (Boileau P and Neyton L, 2005 ; Atalar AC et al, 2002).

Οι διαταραχές που αφορούν στην έκφυση του τένοντα περιγράφηκαν πρώτη φορά από τον Andrews το 1985 και αφορούσαν σε αθλητές ρήψεων (Andrews JR et al, 1985). Ονομάστηκαν *SLAP* (Superior Labrum, Anterior and Posterior) και κατηγοριοποιήθηκαν σε τέσσερις διαφορετικούς τύπους ανάλογα με την έκταση της ρήξης και το βαθμό αστάθειας (Snyder SJ et al, 1990). Στην πρώτη κατηγορία περιλαμβάνονται εκφυλιστικές βλάβες του superior labrum χωρίς στοιχεία αστάθειας. Στη δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνονται αποσπαστικές βλάβες του superior labrum

και της άγκυρας πρόσφυσης του δικέφαλου από την ωμογλήνη. Οι βλάβες της τρίτης κατηγορίας χαρακτηρίζονται ως bucket-handle ρήξη με διατήρηση της άγκυρας πρόσφυσης του δικέφαλου. Στην τέταρτη κατηγορία οι βλάβες έχουν χαρακτήρες bucket-handle αλλά συγχρόνως υπάρχει απόσπαση της άγκυρας πρόσφυσης του δικέφαλου από την ωμογλήνη (Snyder SJ et al, 1990).

Η παραπάνω ταξινόμηση έχει επεκταθεί και έχουν προστεθεί επιπλέον τύποι βλαβών που προκύπτουν από τον συνδυασμό της βλάβης τύπου II (είναι η συχνότερη) με άλλες βλάβες του labrum, του έσω γληνοβραχιόνιου συνδέσμου, ή του στροφικού πετάλου. Οι βλάβες τύπου I και II παρατηρούνται συχνότερα σε αθλητές ρήψεων και οφείλονται σε επαναλαμβανόμενες στροφικές κακώσεις της άγκυρας πρόσφυσης του δικέφαλου. Οι βλάβες τύπου II παρατηρούνται συχνά σε αθλητές με τραυματική πρόσθια αστάθεια. Αντίθετα οι βλάβες τύπου III και IV συμβαίνουν σε πτώσεις πάνω σε τεντωμένο βραχίονα ή σε κεκαμμένο αγκώνα (Waldt S et al, 2004; Snyder SJ et al, 1990). Η συμμετοχή των βλαβών αυτών στην πρόκληση αστάθειας στην γληνοβραχιόνια άρθρωση μπορεί να αγγίξει μέχρι το 70% (Cordasco FA et al, 1993). Η χειρουργική θεραπεία ενδείκνυται για όλους τους τύπους των βλαβών, εξαιρουμένου του τύπου I. Οι βλάβες τύπου II και IV επειδή δυνητικά προκαλούν γληνοβραχιόνια αστάθεια, δευτεροπαθή μηχανική πρόσκρουση και βλάβες στο στροφικό πέταλο απαιτούν σταθεροποίηση του δικέφαλου. Αντίθετα οι βλάβες τύπου III αρκούνται σε απλό debridement (Waldt S et al, 2004; Snyder SJ et al, 1990).



Εικόνα 11: SLAP lesions: Ταξινόμηση κατά Snyder. a SLAP τύπου I, b SLAP τύπου II, c SLAP τύπου III, d SLAP τύπου IV (*LBC* σύμπλεγμα labrum-δικεφάλου, *HH* κεφαλή του βραχιονίου, *G* ωμογλήνη) (Klaus Woertler and Simone Waldt, 2006)

Σκοπός

Ο γενικότερος σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η διερεύνηση των νευρικών δομών των τενόντων του στροφικού πετάλου του ώμου και ιδιαιτέρως του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου μυός. Επιπλέον διερευνήθηκε η έκφραση συγκεκριμένων πρωτεϊνών που θα μπορούσε να είναι υπεύθυνες για κλινικά συμπτώματα σε παθολογικές καταστάσεις. Πιο συγκεκριμένα, εστίασαμε στην ανίχνευση διαφορετικών μορίων στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου και στον καθορισμό του λειτουργικού τους ρόλου που ενδεχομένως να οδηγήσει σε διαφορετικές θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Επιγραμματικά οι κύριοι στόχοι που τέθηκαν κατά την έναρξη της μελέτης ήταν οι εξής:

- 1) Η ανίχνευση και χαρτογράφηση πεπτιδίων όπως substance P (SP), calcitonin gene-related peptide (CGRP) και Tyrosine Hydroxylase (TH) στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου. Οι παράγοντες αυτοί θεωρείται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της καλούμενης "νευρογενούς φλεγμονής".
- 2) Η ανίχνευση της έκφρασης μορίων κυτταρικής συνάφειας και συγκεκριμένα της πρωτεΐνης L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.
- 3) Διερεύνηση του ρόλου της απόπτωσης στην παθογένεια της εκφύλισης του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου σε ασθενείς με ρήξη στο στροφικό πέταλο σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Ειδικό Μέρος

Υλικά- Μέθοδοι

Ασθενείς και τρόπος λήψης των ιστών

Η λήψη ανθρώπινων ιστών εγκρίθηκε από την επιτροπή δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου.

Για τις τομές παραφίνης χρησιμοποιήθηκε τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου(LHB) από τέσσερις πτωματικούς ώμους (άνδρες ηλικίας 55-81 ετών) με ακέραιο το πέταλο των στροφέων). Η ακεραιότητα του πετάλου διαπιστώθηκε κατά τη στιγμή της λήψης. Το ιατρικό ιστορικό των ατόμων αυτών δεν ήταν διαθέσιμο και δεν γνωρίζουμε αν είχαν συμπτώματα από τον ώμο. Ο τένοντας τεμαχίστηκε κατά μήκος σε τρία ίσα μέρη (κεντρικό, μέσο και περιφερικό).

Για τα Western Blots και τις κρυτομές χρησιμοποιήθηκε τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου(LHB) που ελήφθη κατά τη διάρκεια χειρουργικής επέμβασης. Επρόκειτο για έξι ασθενείς (δύο άνδρες και τέσσερις γυναίκες ηλικίας 61-82 ετών). Από τους ασθενείς αυτούς ο ένας (άνδρας, Νο1) υποβλήθηκε σε τενοτομή του LHB κατά τη διάρκεια επέμβασης αποκατάστασης ρήξης του στροφικού πετάλου. Οι υπόλοιποι πέντε υπέστησαν κάταγμα του άνω πέρατος του βραχιονίου και υποβλήθηκαν σε τενοτομή κατά τη διάρκεια ημιαρθροπλαστικής για την θεραπεία του κατάγματος. Από αυτά τα δείγματα το Νο 2 (γυναίκα) εμφάνιζε μακροσκοπικά έντονα σημεία εκφύλισης και θεωρήθηκε παθολογικός ιστός. Οι υπόλοιποι αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου.

Ανοσοϊστοχημεία σε τομές παραφίνης

Στην παρούσα φάση της μελέτης χρησιμοποιήθηκε τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου(LHB) από τέσσερις πτωματικούς ώμους (άνδρες ηλικίας 55-81 ετών) με μακροσκοπικά ακέραιο το πέταλο των στροφέων. Κάθε δείγμα μονιμοποιήθηκε σε διάλυμα παραφορμαλδεΐδης 4% αμέσως μετά τη λήψη του και διατηρήθηκε στους 4°C. Αφυδάτωση και εμβάπτιση σε παραφίνη πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις προβλεπόμενες διαδικασίες. Στη συνέχεια ελήφθησαν διαδοχικές τομές πάχους 10μm

με κυκλικό μικροτόμο. Ο προσανατολισμός των τομών ήταν κατά μήκος των ινών του τένοντα. Οι τομές ξεπλύθηκαν δύο φορές με PBS + Triton-X 0,1% (PBST). Στη συνέχεια επώαστηκαν με 10% Fetal calf serum (FCS) σε PBST για μία ώρα πριν την εφαρμογή των πρώτων αντισωμάτων. Τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής: substance P (SP) (1: 5000; Rabbit polyclonal, Chemicon international, Temecula, U.S.A.), calcitonin gene-related peptide (CGRP) (1:100; Rabbit polyclonal, Abcam Limited Cambridgeshire, UK), tyrosine hydroxylase (TH)(1: 100 Mouse monoclonal, Biotrend Chemikallen GmbH, Germany) και neurofilament (NF) (3A10 1:100 Mouse monoclonal and 2H3 1:100 Mouse monoclonal, Developmental studies Hybridoma Bank, U.S.A.) Μετά την εφαρμογή των πρωτοταγών (primary) αντισωμάτων τα δείγματα επώαστηκαν για μια νύχτα στους 4° C. Μετά την επώαση οι τομές ξεπλύθηκαν με PBST και στη συνέχεια εφαρμόστηκαν τα δευτεροταγή (secondary) αντισώματα, (anti-mouse IgM-biotinylated 1:100 Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, U.S.A. για τα NF, TH, και anti-rabbit IgG-biotinylated 1:250 Vector Laboratories, Burlingame, U.S.A. για τα SP και CGRP) για δύο ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά την ολοκλήρωση της παραπάνω διαδικασίας εφαρμόστηκε διάλυμα ABC (Vector Laboratories, Burlingame, U.S.A.) για 30 λεπτά. Μετά από ξέπλυμα με φωσφορικό διάλυμα, εφαρμόστηκε ως χρωμογόνο 3,3'-diaminobenzidine H₂O₂ solution (DAB peroxidase substrate, SIGMA) για 15 min. Τέλος τα δείγματα ξεπλύθηκαν καλά με φωσφορικό διάλυμα, απεσταγμένο νερό και αλκοόλες, στη συνέχεια επώαστηκαν σε ξυλόλη και καλύφθηκαν με Entellan (MERCK).

Αντικατάσταση των πρώτων αντισωμάτων με 10% FCS σε PBS χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία τομών για τον έλεγχο των αποτελεσμάτων.

Ανοσοφθορισμός σε κρυοτομές

Για τον ανοσοφθορισμό χρησιμοποιήθηκε υλικό από τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου που ελήφθη κατά τη διάρκεια χειρουργικής επέμβασης. Οι ιστοί μετά τη λήψη τους διατηρήθηκαν στους -80°C. Οι ιστοί αυτοί αποψύχθηκαν και μονιμοποιήθηκαν σε παραφορμαλδεΰδη 4%. Στη συνέχεια επώαστηκαν σε διάλυμα σουκρόζης 30% σε PBS για 14-16 ώρες για κρυοπροστασία, και έγινε έγκλιση σε διάλυμα 15% σουκρόζης / 7.5% ζελατίνης σε PBS. Κόπηκαν σε κρυοτόμο σε τομές πάχους 10μm. Ο προσανατολισμός των τομών ήταν κατά μήκος των ινών του

τένοντα. Οι τομές συλλέχθηκαν σε ζελατινοποιημένες αντικειμενοφόρες πλάκες, οι οποίες διατηρήθηκαν στους -20°C μέχρι την περαιτέρω χρήση τους.

Οι τομές πλύθηκαν με PBS + Triton-X 0,1% (PBST) και καλύφθηκαν οι μη ειδικές θέσεις δέσμευσης του αντισώματος επωάζοντας 1 ώρα με διάλυμα 1% Fetal bovine serum (FBS) σε PBS + Triton-X0,1%. Ακολούθως, επώασθηκαν με διάλυμα του πρωτοταγούς (primary) αντισώματος σε 0,1%FBS σε PBS + Triton-X0,1%, στους 4°C για 16-18 ώρες. Τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν L-1 (L-1 1:5000 Rabbit polyclonal) και NF (3A10 1:100 Mouse monoclonal and 2H3 1:100 Mouse monoclonal, Developmental studies Hybridoma Bank, U.S.A.). Μετά από 3 πλυσίματα με PBST (PBS, 0.1%TritonX-100) επώασθηκαν με το διάλυμα του δευτεροταγούς αντισώματος για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν Rabbit Cy3 1:800, Rabbit 488 1:800 και Mouse Cy3 1:800, Mouse 485 1:800. Ακολούθησε ξέπλυμα με PBST (PBS, 0.1%TritonX-100). Στη συνέχεια εφαρμόστηκε Topro 1:1000 σε PBS για 5-10 λεπτά. Οι τομές ξεπλύθηκαν 3 φορές με PBS και καλύφθηκαν με Moviol.

Χρώση Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης

Τομές κρυοτόμου βάφτηκαν με διάλυμα Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης και ακολούθως αφυδατώθηκαν σε διαλύματα EtOH από 50% έως 100%. Τέλος επώασθηκαν σε ξυλόλη και καλύφθηκαν με Entellan (MERCK).

Ανοσοαποτύπωση (Western Blots)

Η μέθοδος της ανοσοαποτύπωσης χρησιμοποιήθηκε σε δύο φάσεις της έρευνας: στην ανίχνευση της L1 CAM και στην διερεύνηση του κυτταρικού θανάτου ανιχνεύοντας αποπτωτικούς και αντιαποπτωτικούς παράγοντες (Bad, Bax και Bcl2).

Προετοιμασία των ιστών

Από κάθε δείγμα ελήφθη ιστοτεμάχιο βάρους περίπου 100mg. Ο ιστός ομογενοποιήθηκε με τη βοήθεια υγρού αζώτου. Στη συνέχεια προσετέθη 200 μl lysis buffer και PMSF για 18 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε λύση των κυττάρων με τη βοήθεια υπερήχων (Sonication) και φυγοκέντρηση στις 13000 rpm

στους 4°C για 30 λεπτά. Μεταφορά του υπερκειμένου και υπολογισμός της συγκέντρωσης πρωτεΐνης σε κάθε δείγμα με φασματοφωτομετρία. Προσθήκη ίσου όγκου 2X sample loading buffer και 100 Mm DTT σε 10 μl του δείγματος. Βράσιμο των δειγμάτων για 5 λεπτά στους 95-100°C και μεταφορά στον πάγο μέχρι να φορτωθούν.

Running

Η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών που θέλουμε να ανιχνεύσουμε έγινε σε σύστημα ασυνεχούς ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα SDS-πολυακρυλαμίδιου. Το polyacrylamide gel 7.5% αποτελείται από το stacking και το διαχωριστικό (separating), gels τα οποία παρασκευάζονται ως εξής:

Stacking gel (10ml)

Ρυθμιστικό διάλυμα	2.5 ml
(0.5M Tris-base, 0.4% SDS με τελικό pH 6.8)	
διάλυμα ακρυλαμίδης	1.5 ml
(30% ακρυλαμίδης και 0.8% N,N μεθυλενο-δισ- ακρυλαμίδης, Merck)	
υπερθειικό αμμώνιο 0.1%	100 μl
(APS, ammonium persulfate Merck),	
N, N, N, N-τετραμεθυλ-διαμίδιο 0.1%	10 μl
(TEMED, N, N, N, N-tetramethyle diamide Merck)	
H ₂ O	6 ml

Separating gel (10ml)

Ρυθμιστικό διάλυμα	2.5ml
(1.5M Tris-base, 0.4% SDS με τελικό pH 8.8)	
διάλυμα ακρυλαμίδης	2.5 ml
υπερθειικό αμμώνιο 0.1%	100 μl
N, N, N, N-τετραμεθυλ-διαμίδιο 0.1%	5 μl
H ₂ O	5 ml

Προσθέτουμε 1 λίτρο από το 1X running buffer και φορτώνουμε τα δείγματα στα wells. Ρυθμίζουμε την συσκευή ηλεκτροφόρησης στα 80 V για όσο χρόνο τα δείγματα βρίσκονται στο stacking gel και στη συνέχεια την ρυθμίζουμε στα 100V μέχρι να τρέξει το gel (περίπου 2 ώρες).

Transfer

Παρασκευάζουμε 1X transfer buffer περίπου 1 ώρα πριν τη χρήση και το φυλάσσουμε στους 4° C. Κόβουμε στις διαστάσεις του gel μία μεμβράνη νιτροκυτταρίνης και 4 χαρτιά wattman. Αφού αφαιρέσουμε το running buffer από την συσκευή ηλεκτροφόρησης απομακρύνουμε το gel. Κόβουμε το τμήμα του stacking gel και κρατάμε το τμήμα του separating gel το οποίο τοποθετείται πάνω στη μεμβράνη. Δημιουργούμε ένα sandwich τοποθετώντας πρώτα ένα σφουγγάρι (στη μαύρη πλευρά της θήκης του sandwich) στη συνέχεια τα 2 χαρτιά wattman, το gel, την μεμβράνη, και στη συνέχεια τα άλλα 2 χαρτιά wattman και τέλος ένα σφουγγάρι. Κλείνουμε το sandwich και το τοποθετούμε στη συσκευή ηλεκτροφόρησης. Τοποθετούμε το transfer buffer μέσα στη συσκευή αλλά και πάγο γύρω από αυτήν. Ρυθμίζουμε την συσκευή ηλεκτροφόρησης στα 310 mA για μία ώρα.

Immunoblotting

Στη συνέχεια η μεμβράνη απομακρύνθηκε από το sandwich και επώασθηκε σε 5% γάλα σε 1% PBS + Tween-X 0,1% (PBST) για μία ώρα προκειμένου να καλυφθούν οι μη ειδικές θέσεις πρόσδεσης του αντισώματος. Εφαρμόστηκε το πρώτο αντίσωμα διαλυμένο 5% γάλα σε 1% PBS + Tween -X 0,1% (PBST) για 18 ώρες στους 4° C. Τα πρωτοταγή αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν πολυκλωνικά αντισώματα έναντι της Bcl2 (Bcl2 1:1000 mouse monoclonal, Santa Cruz Biotechnology), Bad (Bad 1:1000, rabbit polyclonal, Santa Cruz Biotechnology) Bax (Bax1:1000 rabbit polyclonal, Santa Cruz Biotechnology), Actin (Actin 1:3000, IgG mouse monoclonal, Chemicon και L1 CAM (L1 1:5000)

Ακολούθως, (αφού προηγήθηκε ξέπλυμα με PBSTween) για την ανίχνευση των πρωτοταγών αντισωμάτων οι μεμβράνες επώαστηκαν με δευτεροταγή αντισώματα για τουλάχιστον 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν τα αντισώματα anti-rabbit-HRP (1:5000, Amersham)

Οι μεμβράνες ξεπλύθηκαν ξανά με PBSTween και στη συνέχεια το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισωμάτων ανιχνεύεται με την προσθήκη ECL (Western blotting detection reagents, Amersham Pharmacia Biotech) και την αποτύπωση σε φιλμ Hyperfilm ECL (Amersham Pharmacia Biotech).

Διαλύματα

0,1% PBST (tween) (500ml): 500ml 1XPBS

500μl tween 100%

0,1%PBST (triton) (500ml): 500ml 1XPBS

500μl triton 100%

10X Running – Transfer Buffer (1 lt): 900ml 10Xtris Glycine

100ml SDS 10%

(Για το 1X Transfer buffer χρησιμοποιούμε 100ml Running-Transfer buffer, 20% μεθανόλη και νερό μέχρι το 1lt).

10X Tris Glycine (1Lt, pH8,3)

30,2gr Tris –base

188 gr Glycine

2X Sample buffer

100Mm Tris-Cl ph 6,8

4%SDS

0,2% bromophenol blue

20% glycerol

DNA laddering assays

Τα DNA laddering assays πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να καθορισθεί αν υπήρχε εικόνα laddering το οποίο είναι χαρακτηριστικό της απόπτωσης. Για την απομόνωση γενομικού DNA από τους ιστούς ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία: Οι ιστοί επώαστηκαν για 14-16 ώρες στους 55°C σε διάλυμα, το οποίο περιείχε τα εξής: 0.1mg/ml πρωτεϊνάση K, 50mM Tris pH8.0, 50mM KCl, 2.5mM EDTA, 0.45% Nonidet P-40 και 0.45% Tween-20. Ακολούθησε φυγοκέντρηση, και λήψη του υπερκείμενου και προσθήκη RNase. Μετά προσθέσαμε ίσο όγκο ισοπροπανόλης και CHCl₃ και αφήσαμε σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά. Στη συνέχεια με φυγοκέντρηση έγινε η κατακρήμνιση του DNA και μετά από ένα πλύσιμο της πελλέτας με 70% EtOH επαναδιαλύουμε στον επιθυμητό όγκο σε 10mM Tris pH8.0. Το DNA

φορτώνεται σε gel αγαρόζης στα 50V για 3 ώρες. Τέλος αποτυπώθηκε σε ακτινολογικό φιλμ.

Μικροσκοπία

Τα φθορίζοντα δείγματα παρατηρήθηκαν και αναλύθηκαν σε συνεστιακό μικροσκόπιο Leica TCS-NT Laser Scanning. Όλα τα άλλα δείγματα αναλύθηκαν σε μικροσκόπιο Zeiss Axioskop και φωτογραφήθηκαν χρησιμοποιώντας φιλμ Fujichrome Sensia I 100ASA film.

Αποτελέσματα

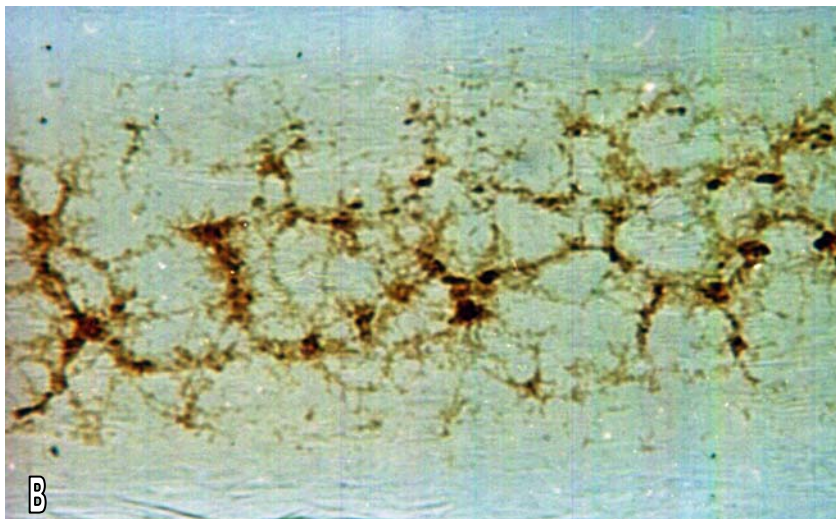
Ανίχνευση των NF, SP, CGRP και TH στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου

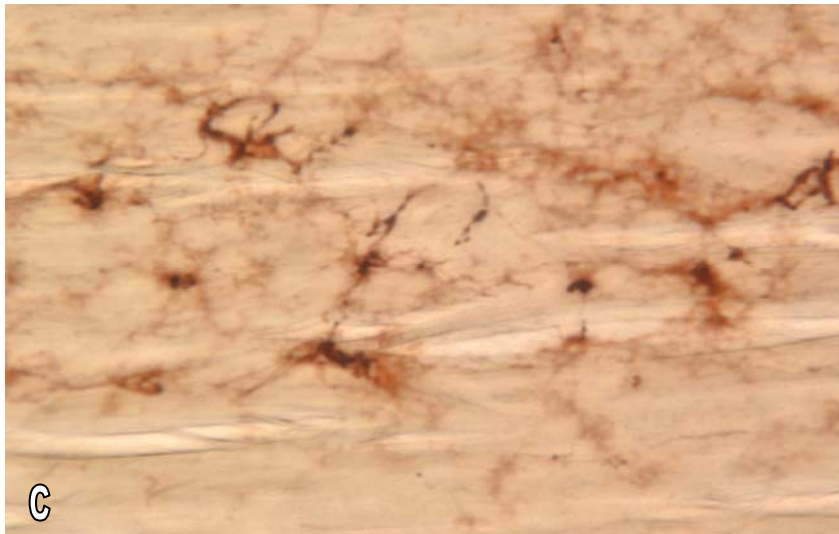
Προκειμένου να μελετήσουμε το προφίλ νεύρωσης του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου, χρησιμοποιήσαμε δύο διαφορετικά αντισώματα για την ανίχνευση του NF (2H3 και 3A10) (εικ.12). Το NF είναι ένας γενικός δείκτης του νευρικού ιστού. Νευρικές ίνες διαφόρων μεγεθών βρέθηκαν οι οποίες διαπλέκονταν και έδιναν την εικόνα δικτύου. Οι σχηματισμοί αυτοί ήταν ανομοιογενώς κατανομημένοι κατά μήκος του τένοντα. Συγκεκριμένα, παρουσίαζαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στο κεντρικό τμήμα (περιοχή έκφυσης του τένοντα από το οστό) ενώ βαθμιαία η παρουσία τους γινόταν όλο και αραιότερη στις τομές που ελήφθησαν από το περιφερικό άκρο του τένοντα (μυοτενόντια περιοχή). Η μορφολογία των ιών αυτών ήταν πανομοιότυπη για τα δύο αντισώματα (2H3 και 3A10) καθώς και η κατανομή τους κατά μήκος του σώματος του τένοντα. Από τον βασικό κορμό αυτού του πλέγματος εκφύονται λεπτότεροι κλάδοι που καταλήγουν σε νευρικές ίνες και νευρικά κομβία.

Για να διερευνήσουμε περαιτέρω την εικόνα του δικτύου που εμφανίστηκε με τη χρήση του NF προχωρήσαμε στη χρήση των εξής αντισωμάτων: substance P (SP) (1: 5000; Rabbit polyclonal, Chemicon international, Temecula, U.S.A.), calcitonin gene-related peptide (CGRP) (1:100; Rabbit polyclonal, Abcam Limited Cambridgeshire, UK), tyrosine hydroxylase (TH) (1: 100 Mouse monoclonal, Biotrend Chemikallen GmbH, Germany).

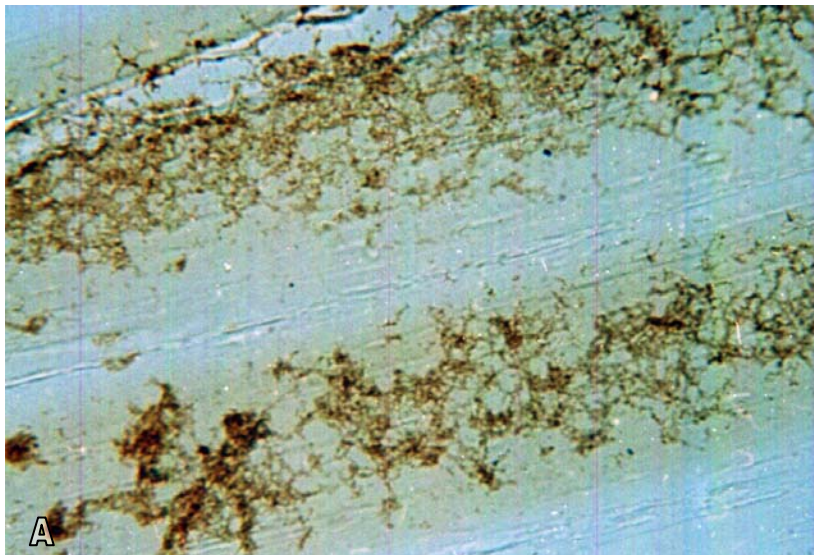
Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της TH δεν παρέκκλινε από την εικόνα του πλέγματος που παρατηρήθηκε με το 2H3 και 3A10 (εικ.13) Το δίκτυο αυτή τη φορά παρουσίαζε πιο αδρά χαρακτηριστικά με άφθονα κομβία που πιθανά παριστάνουν τελικούς εκκριτικούς σχηματισμούς των μεταγαγγλιακών συμπαθητικών ιών. Το βασικό μοντέλο του δικτύου παρέμεινε σταθερό εύρημα κατά την εφαρμογή των λοιπών αντισωμάτων (SP ,CGRP) (εικ.14&15).

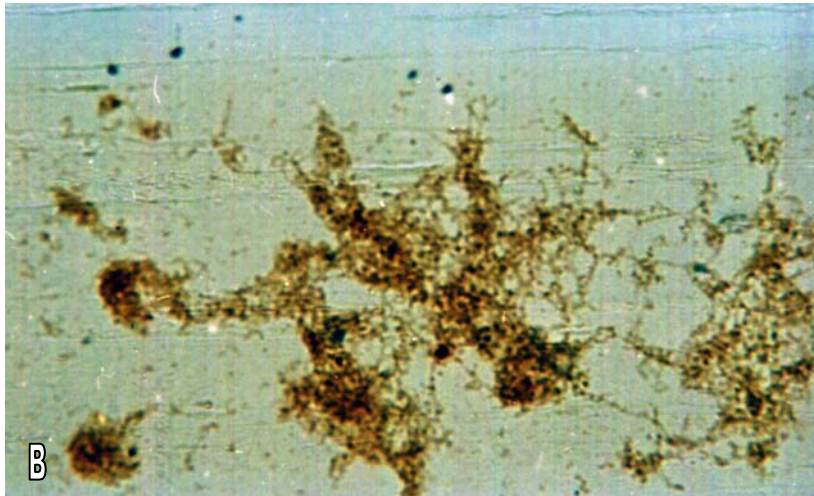
Συνοψίζοντας τα παραπάνω θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα βασικά ευρήματα από αυτό το σκέλος της μελέτης ήταν τα εξής: 1) Ο τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου περιέχει ένα πλούσιο δίκτυο αισθητικών συμπαθητικών νευρικών ινών. 2) Ο τύπος αυτός της νεύρωσης δεν σχετίζεται με αιμοφόρα αγγεία. 3) Η κατανομή των σχηματισμών αυτών ήταν ετερογενής κατά μήκος του σώματος του τένοντα, με το κεντρικό του τμήμα να εμφανίζει πλουσιότερη νεύρωση.



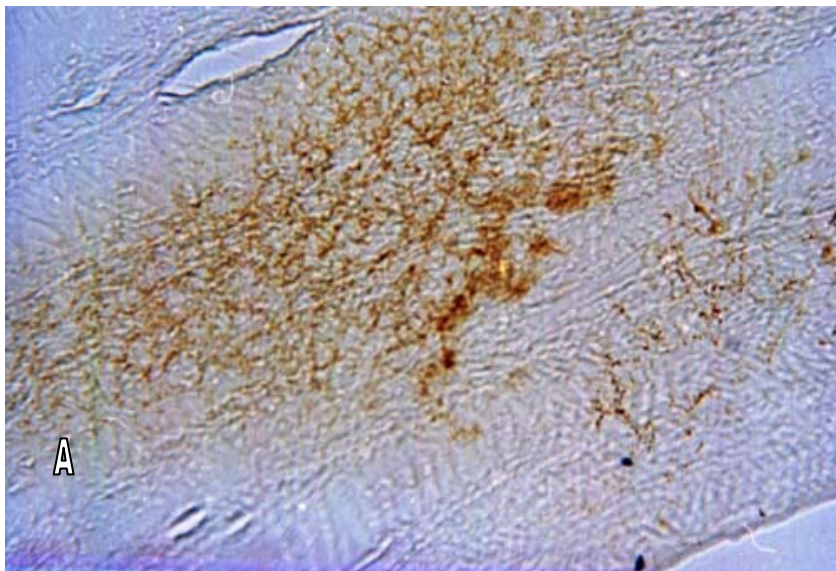


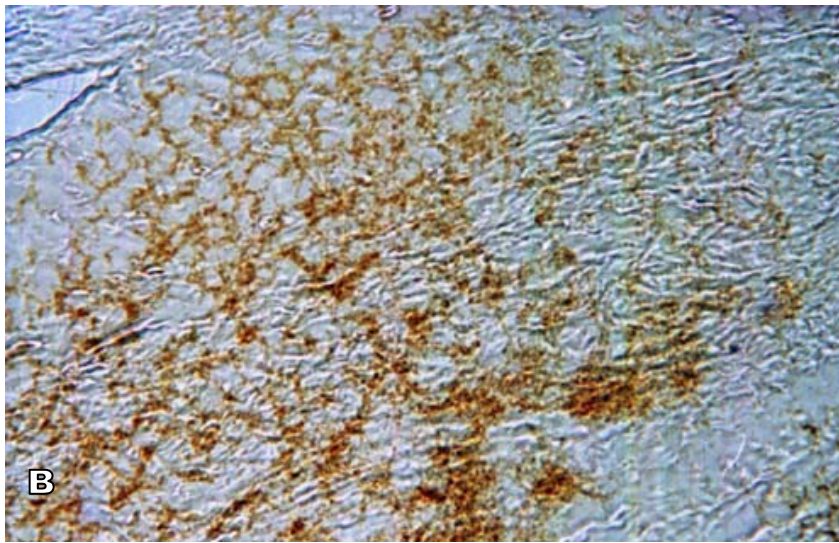
Εικόνα 12: Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου από επιμήκεις τομές του κεντρικού τμήματος του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου (LHB). (A) Ανοσοϊστοχημική εικόνα από νευρικές ίνες που εντοπίζονται στον LHB όταν χρησιμοποιήθηκε NF (10X). (B) (40X) και (C) (63X) Η μεγέθυνση αποκαλύπτει με μεγαλύτερη ακρίβεια την “δίκην πλέγματος” εικόνα των ινών αυτών.



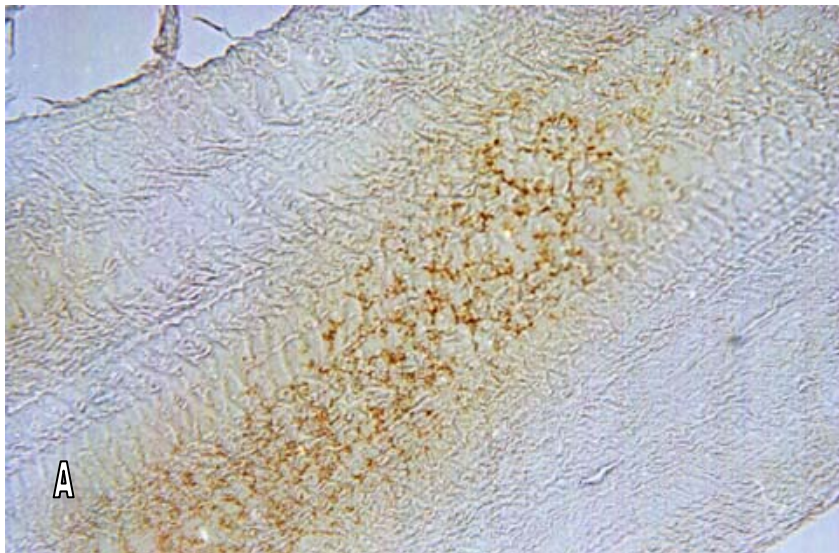


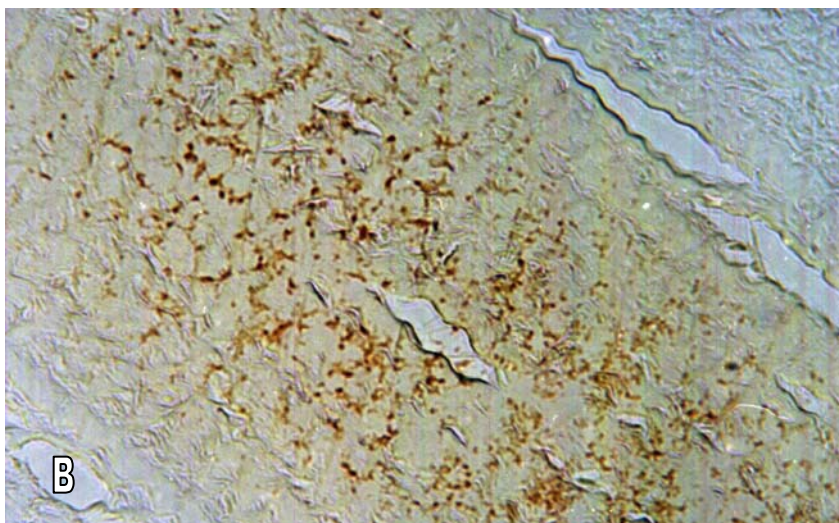
Εικόνα 13: Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου από επιμήκεις τομές του κεντρικού τμήματος του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιόνου (LHB). Ανίχνευση των TH νευρικών ινών. Οι μεγάλοι εύρους TH-νευρικές ίνες διακλαδίζονται σε λεπτότερες ίνες και νευρικά κομβία 20X (A) και 40X (B). Η εμφάνιση αυτή ενισχύει την άποψη ότι πρόκειται για μεταγαγγλιακές συμπαθητικές νευρικές ίνες που μετέχουν στο σχηματισμό του νευρικού αυτού δικτύου.





Εικόνα 14 : Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου από επιμήκεις τομές του κεντρικού τμήματος του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου (LHB). (A) Στην τομή αυτή χρησιμοποιήθηκε αντίσωμα για την ανίχνευση των CGRP ινών (20X). Στη (B) παρουσιάζεται η ίδια εικόνα σε μεγαλύτερη μεγέθυνση(40X)





Εικόνα 15 : Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου από επιμήκεις τομές του κεντρικού τμήματος του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου (LHB). Διαδοχικές τομές της προηγούμενης εικόνας αποκαλύπτουν την παρουσία Substance P νευρικών ινών 10X (A) και 20X (B).

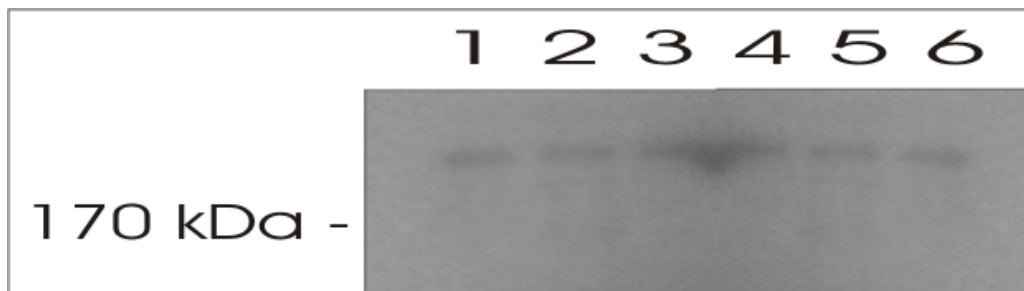
Έκφραση της πρωτεΐνης L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.

Προκειμένου να μελετήσουμε την έκφραση της L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου πραγματοποιήσαμε δύο ομάδες πειραμάτων:

Ανοσοαποτύπωση (Western Blots) της πρωτεΐνης L1 CAM
Ανοσοφθορισμό σε κρυστομές.

Western Blots

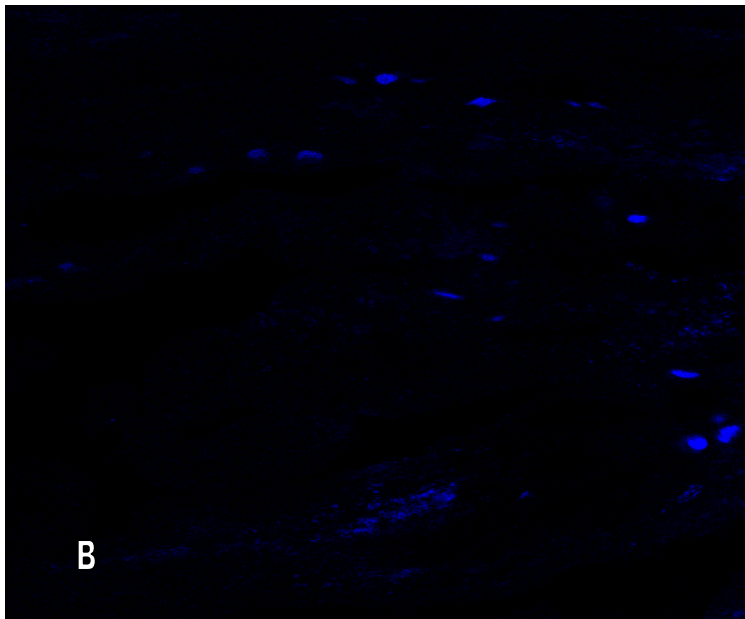
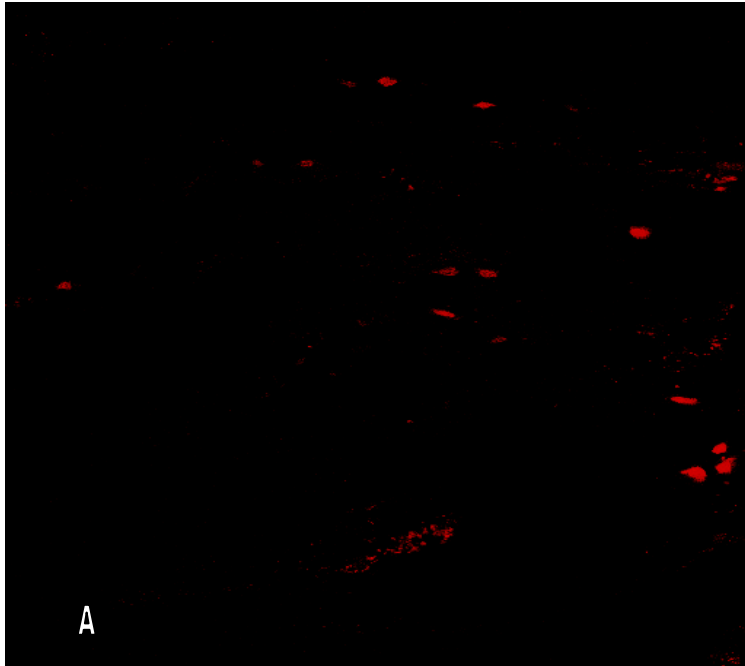
Η έκφραση της L1 CAM επιβεβαιώθηκε με τη μέθοδο της Ανοσοαποτύπωσης (Western Blots) χρησιμοποιώντας αντι -L1 CAM αντίσωμα. Κατορθώσαμε να ανιχνεύσουμε μία μπάντα στα 220kDa ενδεικτική της συγκεκριμένης πρωτεΐνης (εικ.16).



Εικόνα 16 :Western Blots για την ανίχνευση της πρωτεΐνης L1 CAM.

Ανοσοφθορισμός σε κρυτομές.

Στην προσπάθεια μας να διερευνήσουμε περαιτέρω την έκφραση της πρωτεΐνης L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου εφαρμόστηκε το αντι -L1 CAM αντίσωμα σε κρυτομές από τον συγκεκριμένο ιστό. Οι εικόνες που ελήφθησαν με το confocal laser scanning μικροσκόπιο απεικονίζονται στην εικόνα 17.



Εικόνα 17: Εικόνες από confocal laser scanning μικροσκόπιο. Επιμήκης κροτομή του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου (A): Ανίχνευση της πρωτεΐνης κυτταρικής συνάφειας L1 CAM (X40). (B): Η ίδια τομή χρησιμοποιώντας To-pro. Η χρωστική αυτή βάφει τους πυρήνες των κυττάρων.

Απόπτωση στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.

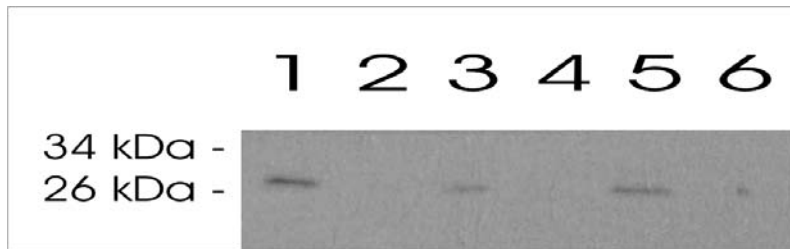
Στην προσπάθειά μας να διερευνήσουμε την απόπτωση στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου πραγματοποιήσαμε δύο ομάδες πειραμάτων:

- 1) Ανοσοαποτύπωση (Western Blots) των πρωτεϊνών Bad, Bax και Bcl-2.
- 2) DNA laddering assays προκειμένου να ανιχνευθεί το μοντέλο κατακερματισμού του DNA που χαρακτηρίζει την απόπτωση.

Η απόπτωση, ή ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ορίζεται ως ένα σύνολο γεγονότων που υποχρεώνει το κύτταρο να υποστεί μια σειρά μεταβολών όπως διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης, βλάβη των μιτοχονδρίων και κατακερματισμό του DNA. Η Bcl-2 ανήκει στην ομάδα εκείνη των πρωτεϊνών που παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στην αποπτωτική διαδικασία και θεωρείται σημαντική για την ανάπτυξη και την ομοιόσταση του οργανισμού. Η ανθρώπινη Bcl-2 είναι μια πρωτεΐνη 26 kDa. Θεωρείται αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη που επάγει την επιβίωση των κυττάρων μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλες πρωτεΐνες όπως οι αντι-αποπτωτικοί παράγοντες Bcl-x_L, Mcl-1, Bcl-w KIA A1 καθώς και τους αγωνιστές της απόπτωσης Bax, Bak, Bik, Bad και Bid. Η Bad (25 kDa) και η Bax (23 kDa) επάγουν τον κυτταρικό θάνατο και η ανίχνευση τους συνδέθηκε με αυξημένους ρυθμούς απόπτωσης του συγκεκριμένου ιστού (Reed JC, 1994).

Western Blots

Από τα έξι δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν τα δύο πρώτα, όπως ήδη αναφέρθηκε, θεωρήθηκαν "παθολογικά" ενώ τα υπόλοιπα τέσσερα λειτούργησαν ως ομάδα ελέγχου. Θα περίμενε λοιπόν κανείς τα δύο πρώτα να εμφανίζουν παρόμοια συμπεριφορά ως προς τους αποπτωτικούς και αντι-αποπτωτικούς παράγοντες. Κάτι τέτοιο όμως δεν συνέβη. Συγκεκριμένα, όσον αφορά στην Bcl-2 ανιχνεύθηκαν αυξημένα επίπεδα στο δείγμα No 1 (παθολογικό) και το δείγμα No 5 (δείγμα ελέγχου). Η Bad ανιχνεύθηκε αυξημένη στα δείγματα No 1 (παθολογικό) και το δείγμα No 3 (δείγμα ελέγχου). Δεν κατέστη δυνατόν να ανιχνεύσουμε την Bax (εικ 18 & 19).



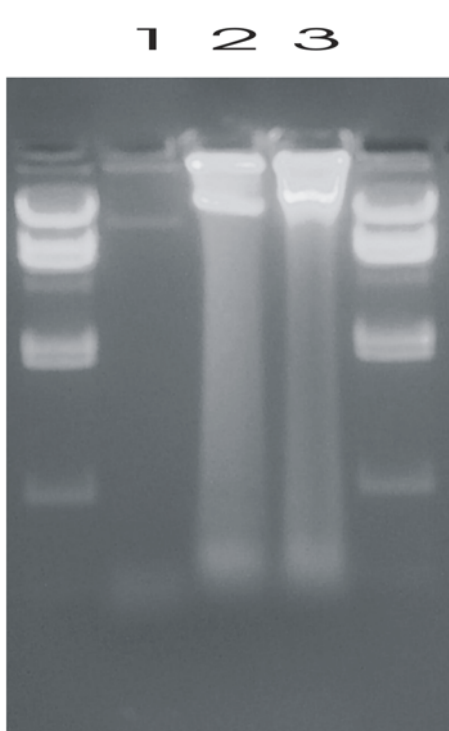
Εικόνα 18 : Western Blots για την ανίχνευση της πρωτεΐνης Bcl-2. Παρατηρείστε ότι τα δείγματα Νο 1 (παθολογικό δείγμα) και Νο 5 (δείγμα ελέγχου) εμφανίζουν εντονότερο σήμα.



Εικόνα 19 : Western Blots για την ανίχνευση της πρωτεΐνης Bad. Παρατηρείστε ότι τα δείγματα Νο 1 (παθολογικό δείγμα) και Νο 3 (δείγμα ελέγχου) εμφανίζουν εντονότερο σήμα.

DNA laddering assays

Στο δεύτερο σκέλος των πειραμάτων για τη διερεύνηση του κυτταρικού θανάτου με DNA laddering assays περιμέναμε να δούμε τη χαρακτηριστική εικόνα του κατακερματισμένου DNA στα δείγματα Νο1 και Νο2. Αντίθετα στο δείγμα ελέγχου (Νο 3) περιμέναμε τη φυσιολογική μπάντα του γενομικού DNA. Αντίθετα, όπως φαίνεται στην εικόνα 20 το δείγμα Νο1 εμφανίζει να έχει φυσιολογική μπάντα, ενώ το Νο2 και το Νο3 εμφανίζουν εικόνα υποβαθμισμένου DNA (Degraded DNA). Εικόνα DNA laddering δεν εμφανίστηκε. Η εικόνα του υποβαθμισμένου DNA (Degraded DNA) ενδέχεται να οφείλεται στην επεξεργασία που υπέστη το DNA.



Εικόνα 20 : Όπως φαίνεται από την εικόνα αυτή το δείγμα Νο1 εμφανίζει φυσιολογική εικόνα ενώ τα δείγματα Νο2 και Νο3 παρουσιάζουν εικόνα αποδομημένου DNA (Degraded DNA).

Συζήτηση

Γενικά

Οι ρήξεις του πετάλου των στροφέων (rotator cuff) στην άρθρωση του ώμου αποτελούν ένα εξαιρετικά συχνό φαινόμενο και υπολογίζεται ότι σε πτωματικές μελέτες ανευρίσκονται σε ποσοστό 20-35%. Επί του συνόλου των ρήξεων το 30% είναι πλήρεις ενώ το υπόλοιπο 70% είναι σε μερικές ρήξεις (Sethi N et al, 1999; Patton WC and McClusky GM_{3rd}, 2001; Curtis AS and Snyder SJ, 1993).

Οι ρήξεις του πετάλου των στροφέων αποτελούν την συχνότερη αιτία πόνου στον ώμο σε άτομα άνω των 40 ετών. Η παθοφυσιολογία του πόνου σε έδαφος ρήξεως του πετάλου των στροφέων δεν έχει κατανοηθεί με πλήρη σαφήνεια. Έχει παρατηρηθεί ότι ασθενείς με εκφυλιστικής αρχής ρήξη του στροφικού πετάλου πολύ συχνά εμφανίζουν πόνο όταν συνυπάρχει βλάβη του τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου (LHB). Επίσης είναι γνωστό ότι αυτόματη ρήξη ή χειρουργική διατομή του τένοντα της LHB προκαλεί ύφεση του πόνου. Με βάση τις παραπάνω παρατηρήσεις θα μπορούσε κάποιος να υποθέσει ότι τα συμπτώματα αποδίδονται σε συμμετοχή του τένοντα της LHB (ενδοαρθρικά) και όχι στη ρήξη του στροφικού πετάλου καθ' εαυτή. Μια πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι το γεγονός ότι ο τένοντας της LHB υπόκειται σε διαρκή ερεθισμό λόγω της ενδοαρθρικής πορείας του, σε αντίθεση με το τενόντιο πέταλο, το οποίο αν και δεν επουλώνεται μετά τη ρήξη, εντούτοις δεν υποβάλλεται σε συνεχή μηχανικό ερεθισμό. Μια άλλη εξήγηση θα ήταν η ύπαρξη συγκεκριμένων νευρικών δομών που συμμετέχουν στην δημιουργία του κλινικού συνδρόμου (Patton WC and McClusky GM_{3rd}, 2001; Curtis AS and Snyder SJ, 1993)

Τα τελευταία χρόνια εισήχθη στη βιβλιογραφία ο όρος “tendinosis”, ο οποίος αναφέρεται στις χρόνιες εκφυλιστικές καταστάσεις που προέρχονται από διαταραχή της αρχιτεκτονικής του τένοντα (συνεπεία επαναλαμβανόμενων μικροτραυματισμών και αδυναμία ικανοποιητικής επούλωσης). Η ακριβής αιτία του πόνου σ' αυτές τις

καταστάσεις καθώς και η αδυναμία ανάπτυξης επαρκούς επουλωτικής δραστηριότητας παραμένει άγνωστη (Kraushaar BS and Nirschl RP, 1999)

Στην προσπάθεια μας να φωτίσουμε τους μηχανισμούς που διέπουν τις ιστοπαθολογικές μεταβολές που χαρακτηρίζουν την “tendinosis” στον LHB διερευνήσαμε την έκφραση νευροπεπτιδίων TH, CGRP και SP καθώς και μορίων κυτταρικής συνάφειας στο συγκεκριμένο ιστό. Επίσης μελετήθηκε ο ρόλος της απόπτωσης .

Ο LHB περιέχει ένα πλούσιο νευρικό δίκτυο αισθητικών, συμπαθητικών ινών.

Τα σπουδαιότερα ευρήματα από την παρούσα φάση της μελέτης ήταν η ανεύρεση ενός πλούσιου δικτύου αισθητικών και συμπαθητικών ινών κατά μήκος τους τένοντα με ανομοιογενή κατανομή. Αυτές οι ίνες δεν σχετίζονται με τα αιμοφόρα αγγεία όπως έχει αναφερθεί στο παρελθόν (Curtis AS and Snyder SJ. 1993; Schwab W et al, 1997; Bjorn- Ove Ljung et al, 1999). Τα ευρήματα αυτά αποτελούν ενδείξεις για πιθανή συμμετοχή του νευρικού συστήματος στην παθοφυσιολογία του πόνου και της εκφύλισης στην χρόνια τενοντίτιδας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.

Όπως αναφέρθηκε ο όρος “τενοντίτιδα” δεν είναι ακριβής όταν χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις χρόνιες βλάβες των τενόντων από υπέρχρηση διότι στερούνται των χαρακτηριστικών της φλεγμονής όπως λεμφοκύτταρα και μακροφάγα. Η τενοντίτιδα του δικέφαλου δεν είναι μια φλεγμονώδης κατάσταση αλλά το αποτέλεσμα επαναλαμβανόμενων τραυματικών γεγονότων που οδηγούν σε διάσπαση της εσωτερικής αρχιτεκτονικής του τένοντα και έκπτωση των επουλωτικών μηχανισμών με τελική κατάληξη την εκφύλιση και ρήξη (Patton WC and McClusky GM_{3rd}, 2001; Curtis AS and Snyder SJ, 1993 ; Kraushaar B.S and Nirschl RP, 1999).

Τα ιστοπαθολογικά ευρήματα που συνοδεύουν αυτές τις καταστάσεις και περιλαμβάνουν την παρουσία ινοβλαστών ,αγγειακής υπερπλασίας και αποδιοργάνωσης του κολλαγόνου δεν παρέχουν επαρκή στοιχεία για να ερμηνεύσουν ούτε την παρουσία του πόνου αλλά και ούτε την αποτυχία της εξωκυττάριας ουσίας να επουλωθεί ,να αναδιοργανωθεί και να ωριμάσει (Kraushaar BS and Nirschl RP, 1999).

Στην παρούσα μελέτη διερευνήσαμε την παρουσία συγκεκριμένων νευροπεπτιδίων στον LHB .Τα αντισώματα για το neurofilament (2H3 και 3A10) που χρησιμοποιήθηκαν ως γενικός δείκτης αποκάλυψαν την ύπαρξη μίας εντυπωσιακής κατασκευής που έδινε την εικόνα πλέγματος ή δικτύου. Η ανοσοϊστοχημική εικόνα από τα δύο αντισώματα ήταν πανομοιότυπη. Μια άλλη παρατήρηση αφορούσε στην τοπογραφική κατανομή του "δικτύου" που ήταν ανομοιογενής με το κεντρικό τμήμα του τένοντα να εμφανίζει μεγαλύτερο αριθμό αυτών των σχηματισμών από το περιφερικό.

Προκειμένου να εξετάσουμε περαιτέρω τη φύση αυτού του "δικτύου" μελετήσαμε την έκφραση των νευροπεπτιδίων CGRP και SP σε συνεχόμενες τομές. Οι συμπαθητικές ίνες ανιχνεύθηκαν με τη χρήση αντισωμάτων για την ανίχνευση της TH. Όλα τα παραπάνω αντισώματα έδωσαν μια εικόνα του πλέγματος με τις πυκνές νευρικές ίνες που διακλαδίζονταν σε πολυάριθμες μικρότερες.

Η επίδραση του αυτόνομου νευρικού συστήματος στις περιοχές έκφυσης και κατάφυσης των τενόντων έχει περιγραφεί από διάφορους συγγραφείς. Για την ακρίβεια, ένας μεγάλος αριθμός ερευνητών έχει εγείρει την ερώτηση κατά πόσο το νευρικό σύστημα εμπλέκεται με καθοριστικό τρόπο στην παθογένεια του πόνου στις ανατομικές αυτές θέσεις .Το αποτέλεσμα που προέκυψε από αυτήν την ερευνητική προσπάθεια ήταν ότι οι νευρικές ίνες που καταλήγουν στους τένοντες περιέχουν νευροδιαβιβαστές που εκτός από την μεταφορά των αλγινών ερεθισμάτων έχουν επωμιστεί και με άλλες λειτουργίες όπως ο έλεγχος της μικροκυκλοφορίας και η ρύθμιση του ανοσολογικού συστήματος. Η διαφορά ανάμεσα στις υπάρχουσες μελέτες και στα δικά μας αποτελέσματα έγκειται στο γεγονός ότι στην παρούσα μελέτη οι νευρικές ίνες δεν σχετίζονται άμεσα με αιμοφόρα αγγεία (Bjorn- Ove Ljung et al , 2004 ; Bjorn- Ove Ljung et al, 1999; Schwab W et al, 1997). Για παράδειγμα, ο Ljung et al (1999) διερεύνησε το μοντέλο νεύρωσης στην έκφυση του βραχέως κερκιδικού εκτείνοντος τον καρπό σε έξι ασθενείς με επικονδυλίτιδα (tennis elbow).Χρησιμοποιώντας μεθόδους ανοσοφθορισμού βρήκαν ότι οι συμπαθητικές ίνες βρίσκονταν σε άμεση συνάφεια με έναν υποπληθυσμό αρτηριών ενώ μικρότερα αιμοφόρα αγγεία δέχονταν αισθητική νεύρωση από ίνες με CGRP και SP (Bjorn- Ove Ljung et al, 1999).

Είναι γνωστό ότι το SP μπορεί να μεταβάλλει με ένα μοναδικό τρόπο την έκφραση γονιδίων σε καλλιέργειες ινοβλαστών που είχαν ληφθεί από συνδέσμους με αποτέλεσμα την τροποποίηση της βιοχημικής συμπεριφοράς των μοσχευμάτων που ελήφθησαν από τις καλλιέργειες αυτές. Όπως γνωρίζουμε το αγγειακό και νευρικό δίκτυο των τενόντων γειτνιάζουν. Το SP εμπλέκεται στη ρύθμιση της διαπερατότητας των αγγείων, στην αγγειοδιαστολή και στην απελευθέρωση κυττοκινών, κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος και αυξητικών παραγόντων. Το CGRP ασκεί μια εξαιρετικά σημαντική αγγειοδραστική λειτουργία οδηγώντας σε διαστολή των αγγείων και μετακίνηση πλάσματος. Επίσης επάγει τον αγγειοδραστικό ρόλο του SP (Ackerman PW et al, 2003; Pedersen- Bjergaard U et al, 1991; Hill RG, 2001; Aiyar N, 2001; Buma P et al, 1992) Τα δύο αυτά πεπτίδια έχουν βρεθεί να εκφράζονται στις ίδιες περιοχές σε τένοντες και συνδέσμους (Bjorn- Ove Ljung et al, 2004; Schwab W et al, 1997; Bjorn- Ove Ljung et al, 1999) και εμπλέκονται ενεργά στην επουλωτική διαδικασία τενόντων που υπέστησαν ρήξη μέσω ανάπτυξης ενός συγκεκριμένου μοντέλου νεύρωσης (Ackerman PW et al, 2003).

Τόσο το SP όσο και το CGRP θεωρούνται από τους σπουδαιότερους διαβιβαστές της καλούμενης νευρογενούς φλεγμονής. Η γειτνίαση ανάμεσα στα νευρικά στοιχεία και τα μαστοκύτταρα των τενόντων θεωρείται σημαντική για την ανάπτυξη της. Οι νευροδιαβιβαστές όπως το SP μπορούν να επηρεάσουν την εκκριτική λειτουργία των μαστοκυττάρων. Με άλλα λόγια η δραστηριότητα του νευρικού συστήματος πυροδοτεί την απελευθέρωση από τα μαστοκύτταρα μιας πλειάδας βιολογικά ενεργών μορίων που επηρεάζουν τα κύτταρα των αγγείων και τους ινοβλάστες. Τα μαστοκύτταρα περιέχουν διαβιβαστές (όπως κυττοκίνες και αυξητικούς παράγοντες) που μπορούν να προκαλέσουν μεταβολές στη διαπερατότητα των αγγείων, στην αγγειογένεση και στον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών καθώς και άλλες ουσίες που δρουν ως χυμοτακτικοί παράγοντες για συγκεκριμένα φλεγμονώδη κύτταρα (Hukkanen M et al, 1991). Οι μονάδες που αποτελούνται από μαστοκύτταρα-νευρικές απολήξεις φαίνεται να συμβάλουν στην ομοίωση του περιβάλλοντος όταν ο τένοντας λειτουργεί κάτω από φυσιολογικές βιοχημικές και μηχανικές συνθήκες. Κατά κάποιο τρόπο οι μονάδες αυτές λειτουργούν σαν ένα τοπικό ρεζερβουάρ φλεγμονωδών παραγόντων που πιθανά ενεργοποιείται από την επαναλαμβανόμενη μηχανική φόρτιση (Schwab W et al, 1997; Bjorn- Ove Ljung et al, 1999 ;Ackerman PW et al, 2003; Marshal KW et al, 1994).

Όσον αφορά στην συμπαθητική νεύρωση, υπάρχουν ενδείξεις ότι συμμετέχει στην παθογένεση τόσο του σκελετικού πόνου όσο και του πόνου στους τένοντες μέσω αλληλεπιδράσεων με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος όσο και με αισθητικές νευρικές ίνες (Mach DB et al, 2002). Ανισορροπία ανάμεσα στην αγγειοσυσπαστική δράση των συμπαθητικών νευρικών ινών και στις αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες των SP και CGRP μπορεί να οδηγήσουν σε ανώμαλη ιστική διήθηση, ανεπάρκεια θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου, ισχαιμία και τέλος εκφύλιση και ρήξη (Bjorn- Ove Ljung et al, 2004; Schwab W et al, 1997; Bjorn- Ove Ljung et al, 1999).

Όπως ήδη αναφέρθηκε η κατανομή του νευρωνικού αυτού δικτύου ήταν ανομοιογενής με σαφώς μεγαλύτερη συγκέντρωση στο κεντρικό τμήμα του τένοντα. Ο λόγος αυτής της ετερογένειας στην κατανομή των νευρικών ινών δεν είναι απόλυτα κατανοητός. Ενδεχομένως η αιτία να βρίσκεται στον διαρκή μηχανικό ερεθισμό που υφίσταται το κεντρικό τμήμα κατά τη διάρκεια της κίνησης στον ώμο.

Ποιο είναι όμως ο λειτουργικός ρόλος της νευρωνικής αυτής κατασκευής; Οι ενδείξεις που υπάρχουν, βασιζόμενοι σε ότι έχει αναφερθεί ήδη, είναι ότι η δομή αυτή εξυπηρετεί παράλληλους ρυθμιστικούς μηχανισμούς τόσο για το αισθητικό όσο και για συμπαθητικό νευρικό σύστημα. Τα νευροπεπτίδια αυτά φαίνεται να συγχρονίζουν και να βελτιστοποιούν τη λειτουργία του αυτόνομου νευρικού στον ιστό αυτό. Τα παραπάνω ευρήματα εκτός του ότι προσφέρουν ένα ελκυστικό μοντέλο που θα μπορούσε να εξηγήσει τα παθοφυσιολογικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα στις καταστάσεις χρόνιας βλάβης του τένοντα της μακρά κεφαλής του δικέφαλου θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια νέα προσέγγιση για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της χρόνιας τενοντίτιδας εν γένει. Από τις υπάρχουσες θεραπείες η χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών σκευασμάτων καθώς και η τοπική έγχυση κορτικοστεροειδών ανήκουν στις συχνότερες επιλογές των κλινικών γιατρών που ασχολούνται με την παθολογία της περιοχής. Ο μηχανισμός δράσης των κορτικοστεροειδών δεν είναι απόλυτα κατανοητός. Φαίνεται πάντως ότι τα αισθητικά νευρικά κύτταρα διαθέτουν υποδοχείς για κορτικοστεροειδή μέσω των οποίων οι φαρμακευτικοί αυτοί παράγοντες επηρεάζουν τα επίπεδα των SP και CGRP και επιπλέον περιορίζουν το οίδημα που χαρακτηρίζει την νευρογενή φλεγμονή (Bjorn- Ove Ljung et al, 2004). Η τοπική όμως χρήση των στεροειδών δεν στερείται ανεπιθύμητων ενεργειών. Επιγραμματικά θα μπορούσε να αναφέρει κανείς την

ατροφία του δέρματος ,τοπική φλεγμονώδη αντίδραση, συστηματικές επιπλοκές και αποδιοργάνωση ης εσωτερικής αρχιτεκτονικής του τένοντα (Kraushaar BS and Nirschl RP, 1999; Canoso JJ, 2003).Από τα ως τώρα δεδομένα φαίνεται ότι η τοπική έγχυση των στεροειδών προσφέρει μια βραχύβια ανακούφιση από τα συμπτώματα αλλά απέτυχε να βελτιώσει την κλινική εικόνα σε βάθος χρόνου (Hay EM et al,1999; Stahl S and Kaufman T, 1997). Επιπλέον υπάρχουν αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία για ρήξεις τενόντων ,κυρίως του Αχιλλείου αλλά και άλλων όπως ο δικέφαλος βραχιόνιος και ο υπερακάνθιος, που ακολούθησαν την τοπική έγχυση των κορτικοστεροειδών (Kleinman M and Gross AE, 1983; Ford LT and DeBender J, 1979). Για όλους τους παραπάνω λόγους γίνεται φανερό ότι η χρήση των παρόντων φαρμακευτικών παραγόντων αδυνατεί να συνδυάσει επαρκή ανακούφιση από τον πόνο και ενεργοποίηση των εσωτερικών επουλωτικών μηχανισμών. Εάν η ανισορροπία ανάμεσα στη συμπαθητική και αισθητική νεύρωση των τενόντων προετοιμάζει το έδαφος για την εγκατάσταση των ιστοπαθολογικών μεταβολών που χαρακτηρίζουν τη χρόνια τενοντοπάθεια, θα μπορούσε κανείς να αισιοδοξεί ότι μια θεραπεία που στοχεύει στην αποκατάσταση της ευρυθμίας των συστημάτων αυτών θα μπορούσε να αποτελούσε μια νέα θεραπευτική απάντηση.

Ανίχνευση της έκφρασης της πρωτεΐνης L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου.

Συνεχίζοντας τη διερεύνηση του ρόλου του νευρικού συστήματος στην παρούσα φάση της μελέτης, μελετήσαμε την έκφραση της πρωτεΐνης κυτταρικής συνάφειας L1 CAM στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου. Η L1 CAM ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των μορίων κυτταρικής συνάφειας. Από τις ως τώρα μελέτες έχει διερευνηθεί η έκφραση των μορίων κυτταρικής συνάφειας σε σκελετικούς μύες αλλά όχι στους τένοντες (Sanes JR et al,1986; Dahm LM. and Landmesser LT,1988). Οι πρωτεΐνες κυτταρικής συνάφειας, όπως ήδη αναφέρθηκε, παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος καθώς λειτουργούν ως καθοδηγητικά μόρια κατά τη διάρκεια ανάπτυξης ,μετανάστευσής και επέκτασης των νευρώνων..

Βασιζόμενοι στο γεγονός ότι η L1 εκφράζεται στους σκελετικούς μύες και την μυοτενόντια περιοχή θελήσαμε να ερευνήσουμε τον πιθανό ρόλο που θα μπορούσε να παίζει αυτή η πρωτεΐνη στους τένοντες. Οι πρώτες μελέτες για την ανίχνευση της έκφρασης της L1 στο μυοσκελετικό σύστημα αφορούσαν στους σκελετικούς μύες και

δημοσιεύθηκαν προ εικοσαετίας . Δεν υπάρχουν όμως ερευνητικές προσπάθειες που να εστιάζουν στην ανίχνευση της πρωτεΐνης αυτής στους τένοντες (Sanes JR et al, 1986). Για να ερευνήσουμε το παραπάνω ερώτημα χρησιμοποιήσαμε μεθόδους ανίχνευσης της έκφρασης πρωτεϊνών όπως η ανοσοαποτύπωση και ο ανοσοφθορισμός σε κρυοτομές και κατορθώσαμε για πρώτη φορά να αποκαλύψουμε την έκφραση της L1 στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιονίου.

Θα μπορούσε όμως το παραπάνω εύρημα να δώσει απαντήσεις στα δύο βασικά ερωτήματα που ετέθησαν στην έναρξη αυτής της μελέτης; Συγκεκριμένα θα μπορούσε η παρουσία της L1 να μας οδηγήσει σε υποθέσεις που θα εξηγούσαν 1) γιατί η χρόνια τενοντοπάθεια του LHB ενώ στερείται φλεγμονωδών κυττάρων είναι επώδυνη και 2) γιατί ο τένοντας αδυνατεί να επουλώσει την αρχική βλάβη και σταδιακά οδηγείται σε δομική αποδιοργάνωση, εκφύλιση και ρήξη.

Η L1 φαίνεται να μετέχει στο βιολογικό μονοπάτι του πόνου καθώς έχει δειχθεί ότι εκφράζεται στα ραχιαία γάγγλια και στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού (Haney A et al, 1999; Runyan SA et al, 2005) Σε πρόσφατη μελέτη φάνηκε ότι η περιφερική νευρική βλάβη επάγει μετά-μεταγραφικές μεταβολές της έκφρασης της L1 στα ραχιαία γάγγλια και τον νωτιαίο μυελό. Στη μελέτη αυτή οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η διατομή του ισχιακού νεύρου σε πειραματόζωα είχε ως αποτέλεσμα την μεταβολή της έκφρασης της πρωτεΐνης L1 CAM αλλά όχι του L1 CAM mRNA. Η νευρική βλάβη επέφερε αύξηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης σε συγκεκριμένους νευρώνες. Από την ίδια έρευνα προέκυψε ότι η L1 CAM εκφράζεται στις ίδιες περιοχές με την πρωτεΐνη GAP 43 η οποία αποτελεί γνωστό δείκτη πλαστικότητας των συνάψεων στο κεντρικό νευρικό σύστημα Επίσης γνωρίζουμε ότι η GAP 43 συνεργάζεται με την L1 CAM κατά την αναγέννηση και επέκταση των νευραξόνων (Meiri KF et al, 1998). Από την ίδια μελέτη φάνηκε ότι η L1 CAM πιθανά εμπλέκεται στην ενεργοποίηση της p38 MAPK και συμμετέχει σε γεγονότα που μεταβάλλουν την οργάνωση και πλαστικότητα των συνάψεων. Τα ευρήματα αυτά ενδέχεται να υποδηλώνουν ένα νέο παθοφυσιολογικό μηχανισμό για τον νευροπαθητικό πόνο (Yamanaka H et al, 2007). Ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα ευρήματα από μια άλλη μελέτη όπου γενετικά τροποποιημένα πειραματόζωα με έλλειψη της L1 εμφάνισαν μειωμένη αντίδραση σε θερμικά ερεθίσματα (Thelin J et al 2003) .

Η L1 είναι εξαιρετικά σημαντική στην ανάπτυξη και διατήρηση της τρισδιάστατης δομής του νευρικού συστήματος. Η λειτουργία αυτή επιτυγχάνεται μέσω της σύνδεσης της ενδοκυττάριας μοίρας της με στοιχεία του κυτταροσκελετού και μέσω αλληλεπιδράσεως του εξωκυτταρίου τμήματος με μόρια της εξωκυττάριας ουσίας. Οι πρωτεΐνες κυτταρικής συνάφειας φαίνεται να συνδέονται με πρωτεογλυκάνες και να μετέχουν στη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας (Martini R and Schachner M. 1986). Ο ρόλος των μορίων αυτών στο μυοσκελετικό σύστημα είναι ελάχιστα γνωστός. Αν και περιορισμένες, υπάρχουν ενδείξεις ότι εμπλέκονται στην οργάνωση των ιστών αυτών. Για παράδειγμα η J1 βρέθηκε σε συνάφεια με ινίδια κολλαγόνου σε απονευρωμένους μύες ένδειξη ότι αποτελεί στοιχείο της θεμέλιας ουσίας. Αυτό που δεν γνωρίζουμε είναι από ποια κύτταρα παράγεται και κάτω από ποια ερεθίσματα (Sanes JR et al, 1986). Επιπλέον έχει βρεθεί ότι η παρουσία ενός δικτύου ινών από ακτίνη και άλλες πρωτεΐνες που ανήκουν στην ευρύτερη οικογένεια των μορίων κυτταρικής συνάφειας όπως η n-cadherin και vinculin, έχει εξαιρετική σημασία στην διατήρηση της δομής των τενόντων καθώς και στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων (Ralphs JR et al, 2001). Ανάμεσα στο μόρια κυτταρικής συνάφειας, η NCAM έτυχε μεγαλύτερης προσοχής σχετικά με το ρόλο των πρωτεϊνών αυτών στους σκελετικούς μύες. Χρησιμοποιώντας μεθόδους ανοσοϊστοχημείας και ανοσοαποτύπωσης μελετήθηκε η έκφραση της NCAM σε σκελετικούς μύες αρουραίων. Διαπιστώθηκε λοιπόν ότι ενώ η NCAM ήταν παρούσα στην επιφάνεια των μυοϊνιδίων από έμβρυα, η παρουσία αυτή γινόταν ασθενέστερη κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του οργανισμού και ήταν σχεδόν μηδενική σε ιστούς από ενήλικα ζώα. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η πρωτεΐνη έκανε την επανεμφάνιση της σε απονευρωμένους και παράλυτους μύες. Φαίνεται λοιπόν ότι η έκφραση της NCAM στους σκελετικούς μύες ρυθμίζεται από την κατάσταση νεύρωσης των μυών. Μύες πλούσιοι σε NCAM είναι περισσότερο δεκτικοί στο να αναπτύξουν καινούργιες συνάψεις (Covault J and Sanes JR, 1985). Σε παρόμοια συμπεράσματα οδηγούμαστε από πιο πρόσφατη μελέτη όπου διαπιστώθηκαν μεταβολές στην έκφραση της πρωτεΐνης NCAM στους σκελετικούς μύες πειραματόζων μετά από τενοτομή του αντίστοιχου τένοντα (Jamali AA et al, 2002).

Βασιζόμενοι λοιπόν στις παραπάνω μελέτες και στα δικά μας αποτελέσματα θα μπορούσαμε με κάποια ασφάλεια να επεκτείνουμε τις θεωρίες για την πιθανή εμπλοκή του νευρικού συστήματος στην αιτιολογία της χρόνιας τενοντοπάθειας. Κατ' αρχάς διαπιστώνουμε με ενδιαφέρον ότι πρωτεΐνες που θεωρούνται ότι εκτελούν

ζωτικής σημασίας δομικά και λειτουργικά καθήκοντα στο νευρικό σύστημα καθώς και στους σκελετικούς μύες εκφράζονται και στους τένοντες. Επομένως η L1 θα μπορούσε πιθανά να καθοδηγεί τους άξονες στα σημεία επαφής με τον τένοντα, να συνεργάζεται με τις πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας, να ασκεί τροφικές δράσεις και να μετέχει στη ρύθμιση της δεσμιδοποίησης των ινιδίων του τένοντα. Ωστόσο, δεν μπορούμε να αποκλείσουμε το γεγονός να υπάρχει συνδυασμός περισσότερων του ενός μηχανισμού δράσης μορίων στο παραπάνω σύστημα. Είδαμε ακόμα ότι μετέχει στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς του νευροπαθητικού πόνου. Επομένως, η ανεύρεση των μορίων της L1 CAM στο τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου θα μπορούσε να μας οδηγήσει σε εξαιρετικά ενδιαφέρουσες υποθέσεις σχετικά με το ρόλο του νευρικού συστήματος στην παθογένεση της tendinosis και την ύπαρξη του πόνου σ' αυτές τις καταστάσεις. Εκτός όμως από την ανάγκη ελέγχου των υποθέσεων αυτών με τη χρήση των κατάλληλων επιστημονικών εργαλείων, θα πρέπει να ερευνηθούν και άλλες παράμετροι που πιθανά έχουν σημασία, όπως από ποια κύτταρα παράγεται η L1 CAM, ποιοι παράγοντες υπεισέρχονται στη ρύθμιση των επιπέδων της (κατάσταση νεύρωσης του τένοντα, ύπαρξη ή όχι εκφύλισης κ.α.) και πως ενδεχομένως μετέχει στο μοντέλο της νευρογενούς φλεγμονής που συνδέει τις εκφυλιστικές βλάβες των τενόντων με τη δράση του νευρικού συστήματος.

Απόπτωση στον LHB

Η απόπτωση είναι ένα ενεργές ,πολλές φορές ,φυσιολογικό φαινόμενο που διαφοροποιείται από την νέκρωση και τις άλλες μορφές κυτταρικού θανάτου ,διότι στην περίπτωση αυτή τα κύτταρα ακολουθούν το εσωτερικό βιολογικό τους ρολόι που εν τέλει τα οδηγεί σε προγραμματισμένο θάνατο. Πρόσφατα βρέθηκε ότι κύτταρα από τένοντες του στροφικού πετάλου που έχουν υποστεί ρήξη εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά απόπτωσης σε σχέση με τους φυσιολογικούς τένοντες. Αυτή η παρατήρηση έχει οδηγήσει πολλούς ερευνητές στην πεποίθηση ότι το φαινόμενο της απόπτωσης βρίσκεται στο επίκεντρο του προβλήματος των χρόνιων βλαβών στις τενοντοπάθειες (Murrell GA, 2002).

Ο κυτταρικός θάνατος είναι αναπόσπαστο κομμάτι της ζωής όλων των οργανισμών. Τα βασικά μοντέλα κυτταρικού θανάτου είναι δύο: η απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος και η νέκρωση (Buja LM et al, 1993).

Νέκρωση

Οιοσδήποτε τύπος κυττάρου θα μπορούσε να πεθάνει από την εφαρμογή συγκεκριμένων θανατηφόρων ερεθισμάτων. Τα ερεθίσματα αυτά οδηγούν σε νέκρωση των κυττάρων. Η νέκρωση είναι ένα καταβολικό φαινόμενο όπου το κύτταρο οδηγείται παθητικά στο θάνατο μετά την εφαρμογή ενός μοιραίου τραυματικού γεγονότος (Wyllie AH et al, 1980). Αντίθετα με την απόπτωση, η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται χωρίς την ανάγκη δράσης συγκεκριμένων γονιδίων και πρωτεϊνών. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της νέκρωσης είναι το οίδημα των μιτοχονδρίων, και η απότομη διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης. Η εκκένωση του κυτταρικού περιεχομένου στον μεσοκυττάριο χώρο πυροδοτεί φλεγμονώδη φαινόμενα που με τη σειρά τους προκαλούν βλάβη σε άλλα κύτταρα (Hetts SW, 1998).

Απόπτωση

Ο όρος απόπτωση εισήχθη το 1972 από τον Kerr et al ο οποίος παρομοίασε τον ενδογενώς οδηγούμενο θάνατο των κυττάρων με την πτώση των φύλλων από τα δέντρα το φθινόπωρο (Kerr JF et al, 1972). Έκτοτε το φυσιολογικό αυτό γεγονός απετέλεσε τον ερευνητικό πυρήνα για τη διερεύνηση πλήθους παθολογικών καταστάσεων όπως είναι οι νεοπλασματικές νόσοι, ανοσολογικές και νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Η απόπτωση θεωρείται πολύ σημαντική για την φυσιολογική ανάπτυξη των πολυκύτταρων οργανισμών. Λειτουργεί εξισοροπιστικά ανάμεσα στα φαινόμενα του πολλαπλασιασμού και του θανάτου των κυττάρων. Επίσης παίζει σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση και απομάκρυνση των τραυματισμένων ή άχρηστων ιστών καθώς και των δυνητικά επικινδύνων κυττάρων όπως είναι τα καρκινικά ή τα μολυσμένα κύτταρα (Ranganath RM and Nagashereer NR, 2001). Το φαινόμενο αυτό ρυθμίζεται από την ενεργοποίηση ειδικών πρωτεασών (πρωτεολυτικά ένζυμα) που ονομάζονται κασπάσες. (caspases). Υπάρχουν διάφορες caspases που λειτουργούν είτε ως ενεργοποιητές (caspases -2, 8, 9) είτε ως "εκτελεστές" της αποπτωτικής διαδικασίας. Η ομάδα των ενεργοποιητών καθιστά δυνατόν για τους εκτελεστές να δράσουν στο κατάλληλα διαμορφωμένο έδαφος και να συμμετάσχουν σε συγκεκριμένα πρωτεολυτικά γεγονότα που θα οδηγήσουν στις βιοχημικές και μορφολογικές μεταβολές που χαρακτηρίζουν την απόπτωση. Στα

παραπάνω ένζυμα προστίθενται οι αναστολείς της απόπτωσης που ασκούν αντι-αποπτωτική δράση (Philchenkov A, 2004).

Η ανθρώπινη Bcl-2 είναι μια πρωτεΐνη 26 kDa. Θεωρείται αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη και βρίσκεται στην εξωτερική στοιβάδα των μιτοχονδρίων. Bcl-2 είναι το ακρωνύμιο από το B-cell lymphoma/leukemia –2 genes. Όπως φαίνεται από το όνομα τα γονίδια αυτά ανακαλύφθηκαν λόγω της σχέσης τους με τις κακοήθειες από τις B-κυτταρικές σειρές (Tsujimoto Y et al, 1985). Ο Vaux et al (1988) ήταν οι πρώτοι που παρατήρησαν ότι η Bcl-2 μπορεί να επιμηκύνει τη ζωή των κυττάρων. Χρησιμοποιώντας ανώριμα pre-B κύτταρα τα οποία εξαρτώνται άμεσα από την IL-3 για να επιβιώσουν, παρατήρησαν ότι η μεταφορά της έκφρασης της Bcl-2 με κατάλληλους vectors επέτρεπε την επιβίωση αυτών των κυττάρων χωρίς την παρουσία της IL-3 και χωρίς να συμβαίνει πολλαπλασιασμός των κυττάρων (Vaux D et al, 1988). Η Bcl-2 επάγει την επιβίωση των κυττάρων μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλες πρωτεΐνες όπως οι αντι-αποπτωτικοί παράγοντες Bcl-X_L, Mcl-1, Bcl-w και A1 καθώς και οι αγωνιστές της απόπτωσης Bax, Bak, Bik, Bad και Bid. Απενεργοποίηση της Bcl-2 αυξάνει την διαπερατότητα της μεμβράνης των μιτοχονδρίων επιτρέποντας στις ενδο-μιτοχονδριακές πρωτεΐνες να διαφύγουν στο κυτταρόπλασμα. Μια από τις πρωτεΐνες αυτές το κυττόχρωμα c, το οποίο θεωρείται απαραίτητο για τη βιωσιμότητα των μιτοχονδρίων ενεργοποιεί μια σειρά από caspases που οδηγούν στο θάνατο του κυττάρου. Η Bad (25 kDa) και η Bax (23 kDa) ανήκουν στην ευρύτερη οικογένεια της Bcl-2 και όπως ήδη αναφέρθηκε επάγουν τον κυτταρικό θάνατο κάτω από διάφορες συνθήκες. Στα κύτταρα των θηλαστικών η Bad συνδέεται με ισχυρότερους δεσμούς με την Bcl-X_L από την Bcl-2 και αντιστρέφει την αντιαποπτωτική δράση της Bcl-X_L αλλά όχι της Bcl-2. Διμερή της Bcl-X_L με την Bad οδηγούν σε απομάκρυνση της Bax από τα συμπλέγματα Bax- Bcl-X_L και αναστέλλουν την αποπτωτική δράση της Bax. Η Bax με τη σειρά της προάγει τον κυτταρικό θάνατο που επάγεται από την έλλειψη κυτταροκινών σε όλες τις IL-3 εξαρτώμενες κυτταρικές σειρές. Επιπλέον αναστέλλει τη δράση της Bcl-2 (Reed JC, 1994). Ανωμαλίες στη ρύθμιση των μηχανισμών που ελέγχουν την απόπτωση σχετίζονται με ένα μεγάλο φάσμα διαταραχών όπως η νόσος Alzheimer και Parkinson καθώς και εκφυλιστικές νόσοι του μυοσκελετικού συστήματος όπως η οστεοαρθρίτιδα και οι χρόνιας τενοντοπάθειες (Schindowski K et al, 2003; Zin I, et al, 1997; Sharif M et al, 2004; Yuan J et al, 2002). Οι Yuan J και Murrell GA (2002) ήταν οι πρώτοι που παρατήρησαν αύξηση του ρυθμού απόπτωσης σε τένοντες που

έχουν υποστεί εκφύλιση. Χρησιμοποιώντας TUNEL και DNA laddering assays βρήκαν ότι ο αριθμός των κυττάρων που οδηγούνται στο θάνατο μέσω της απόπτωσης σε ιστοτεμάχια υπερακανθίου που είχε υποστεί ρήξη ήταν διπλάσιος σε σχέση με τους φυσιολογικούς ιστούς. Στην ίδια μελέτη βρέθηκε ακόμα ότι ο αριθμός των κυττάρων που αποπίπτουν αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας. Χρησιμοποιώντας ειδικούς κυτταρικούς δείκτες διαπίστωσαν ότι τα παραπάνω κύτταρα ήταν ινοβλάστες. Από την ίδια ερευνητική ομάδα έχει προταθεί ένα μοντέλο για την πιθανή παθογένεση της τενοντοπάθειας (Yuan J et al, 2002). Το μοντέλο αυτό βασίστηκε σε παρατηρήσεις του Arnoczky et al (Arnoczky SP et al, 2002) οι οποίοι βρήκαν ότι το κυκλικό μηχανικό στρες ενεργοποιεί ενδοκυττάρια ένζυμα που καλούνται c-Jun N-terminal kinase (JNK). Άλλοι ερευνητές δουλεύοντας σε στρωφικό πέταλο αρουραίων έδειξαν ότι το επαναλαμβανόμενο μηχανικό στρες (μοντέλο που προσομοιάζει τις καταστάσεις υπέρχρησης) προκαλεί τενοντίτιδα και εκφυλιστικές αλλοιώσεις στους τένοντες (Soslowky LJ et al, 2000). Σύμφωνα λοιπόν με το μοντέλο που προτείνουν οι Murrell GA et al ένα ισχυρό σε ένταση και διάρκεια μηχανικό φορτίο πυροδοτεί τα ένζυμα αυτά. Η παροδική ενεργοποίηση αυτού του ενζύμου θεωρείται φυσιολογική για την κυτταρική λειτουργία, όμως η διαρκής ενεργοποίηση του συνδέεται με αύξηση του ρυθμού του κυτταρικού θανάτου στα τενοντοκύτταρα (Murrell GA, 2002). Εκτός από παραπάνω μοντέλο, υπάρχει μια πλειάδα γνωστών παραγόντων όπως το γήρας, η υποξία, η διατροφική ένδεια και η παραγωγή ελεύθερων ριζών που επάγουν την απόπτωση (Araya R et al, 1998 ;Tuoheti Y et al, 2005). Οι αυξημένοι ρυθμοί απόπτωσης επηρεάζουν τη σύνθεση του κολλαγόνου με αποτέλεσμα η θεμέλια ουσία να εξασθενεί και ο τένοντας να οδηγείται σε εκφύλιση και ρήξη.

Στην παρούσα μελέτη επιλέξαμε να διερευνήσουμε την απόπτωση στον τένοντα της μακράς κεφαλής του δικέφαλου βραχιόνιου με τη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης (Western Blots) για τις πρωτείνες Bcl-2, Bax, και Bad. Για να επιβεβαιώσουμε τα αποτελέσματα που είχαμε από τα Western Blots προχωρήσαμε σε DNA laddering assays.

Από τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν τα δύο πρώτα, όπως ήδη αναφέρθηκε, θεωρήθηκαν "παθολογικά" για διαφορετικούς λόγους το καθένα. Το πρώτο λόγω ύπαρξης συμπτωματολογίας από τον δικέφαλο και το δεύτερο λόγω της έντονης εκφύλισης που παρουσίαζε μακροσκοπικά. Τα υπόλοιπα τέσσερα λειτούργησαν ως

ομάδα ελέγχου. Βασιζόμενοι στις προηγούμενες εργασίες πάνω στον υπερακάνθιο περιμέναμε τα δύο πρώτα δείγματα να εμφανίζουν παρόμοια συμπεριφορά ως προς τους αποπτωτικούς και αντι- αποπτωτικούς παράγοντες. Κάτι τέτοιο όμως δεν συνέβη. Συγκεκριμένα όσον αφορά στην Bcl-2 ανιχνεύθηκαν αυξημένα επίπεδα στο δείγμα Νο 1 (παθολογικό) και το δείγμα Νο 5 (δείγμα ελέγχου). Η Bad ανιχνεύθηκε αυξημένη στα δείγματα Νο 1 (παθολογικό) και το δείγμα Νο 3 (δείγμα ελέγχου). Αντίθετα απ' ό τι αναμέναμε η εντόπιση και των δύο αυτών πρωτεϊνών στο πλέον εκφυλισμένο δείγμα (δεύτερος ασθενής) ήταν πολύ ασθενής. Δεν κατέστη δυνατόν να ανιχνεύσουμε την Bax σε κανένα από τα δείγματα.

Όταν προσπαθήσαμε να ελέγξουμε τα παραπάνω αποτελέσματα ανιχνεύοντας τον κατακερματισμό του γενομικού DNA με DNA laddering assays διαπιστώσαμε ότι το δείγμα από τον πρώτο ασθενή εμφάνισε φυσιολογική συμπεριφορά ενώ το δεύτερο δείγμα έδωσε εικόνα αποδομημένου DNA που όμως δεν χαρακτηρίζει την απόπτωση. Η χαρακτηριστική εικόνα του κατακερματισμού του DNA (DNA laddering) που συνοδεύει την απόπτωση δεν διαπιστώθηκε σε κανένα από τα δείγματα.(ούτε στον ασθενή Νο 1 που είχε συμπτώματα από τον δικέφαλο αλλά ούτε στον ασθενή Νο 2 που είχε έντονη εκφυλισμένη μακροσκοπική εικόνα). Η εικόνα του DNA laddering είναι χαρακτηριστική της απόπτωσης. Η μέθοδος του DNA laddering assays είναι αρκετά ειδική για την ανίχνευση των κυττάρων που αποπίπτουν αλλά διαθέτει χαμηλότερη ευαισθησία συγκρινόμενη με άλλες μεθόδους όπως η TUNEL και πιθανά εκεί να κρύβεται ο λόγος μη ανίχνευσης της εικόνας του laddering.

Όπως είπαμε η απόπτωση είναι ένα φυσιολογικό γεγονός που απαντά και σε φυσιολογικά κύτταρα. Με έκπληξη είδαμε ότι με τα αποτελέσματα που είχαμε (και από τις δύο μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν) δεν μπορούμε να καταλήξουμε σε ασφαλή συμπεράσματα για το αν η χρόνια τενοντίτιδα του LHB σχετίζεται με αυξημένους ρυθμούς απόπτωσης. Τέσσερις είναι οι πιθανές εξηγήσεις για αυτά τα ευρήματα: (1) Τα άτομα που απετέλεσαν την ομάδα ελέγχου υπέστησαν κάταγμα του άνω πέρατος του βραχιονίου και υποβλήθηκαν σε τεντοτομή κατά τη διάρκεια ημιαρθροπλαστικής για την θεραπεία του κατάγματος. Ενδεχομένως τα άτομα αυτά να είχαν προβλήματα από τον ώμο τους προτού υποστούν το κάταγμα και να μην ήταν εντελώς φυσιολογικά. (2) Ο Murrel και ο Walton βρήκαν σημαντικές διαφορές στο ποσοστό των κυττάρων που αποπίπτουν σε φυσιολογικούς τένοντες από νεαρά άτομα σε σχέση με εκφυλισμένους τένοντες από ηλικιωμένα άτομα (Yuan J et al,

2002).Επομένως η ηλικία μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας όταν μιλάμε για την απόπτωση. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη δική μας μελέτη είχαν μέση ηλικία τα 76 έτη και επομένως δεν αποτελούσαν ιδανική ομάδα ελέγχου. (3) Ο συνολικός αριθμός των ασθενών που περιελήφθησαν στη μελέτη ήταν εξαιρετικά χαμηλός για να επιτρέψει να προχωρήσουμε σε συγκρίσεις και να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα.(4) Παρά τα μέχρι τώρα ευρήματα παραμένει εν μέρει αδιευκρίνιστο αν η απόπτωση είναι η αιτία ή το αποτέλεσμα της εκφύλισης των τενόντων. Επίσης κάποιιοι ίσως σκεφτούν ότι η έκφραση των πρωτεϊνών που μελετήθηκαν στην ομάδα ελέγχου ενδεχομένως επηρεάσθηκε από την παρουσία διαφόρων φλεγμονωδών παραγόντων που βρίθουν στο περιβάλλον του κατάγματος.

Εν κατακλείδι, στον παρόν τμήμα της μελέτης προσπαθήσαμε να διερευνήσουμε εάν η χρόνια τενοντοπάθεια της μακράς κεφαλής του δικέφαλου χαρακτηρίζεται από αύξηση του ρυθμού του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Η αδυναμία εξαγωγής συμπερασμάτων οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην επιλογή των ασθενών που συμμετείχαν στην έρευνα.

Συνοψίζοντας.....

Τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της παρούσας μελέτης θα μπορούσαν να συνοψιστούν ως εξής:

- 1) Ο τένοντας της μακράς κεφαλής του δικέφαλου περιέχει ένα εκτεταμένο δίκτυο αισθητικών και συμπαθητικών νευρικών ινών, που δεν σχετίζεται με τα αιμοφόρα αγγεία.
- 2) Η κατανομή αυτού του δικτύου είναι ετερογενής με το κεντρικό τμήμα του τένοντα να εμφανίζει πλουσιότερη νεύρωση.
- 3) Για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία ανιχνεύθηκε η έκφραση του μορίου κυτταρικής συνάφειας L1 CAM σε τενόντιο ιστό.
- 4) Η αποτυχία εντοπισμού διαφορών στον κυτταρικό θάνατο και εξαγωγής συμπερασμάτων σ' αυτή τη φάση της μελέτης πιθανά να οφείλεται σε παράγοντες που σχετίζονται με την επιλογή των ασθενών που συμμετείχαν στην έρευνα.(π.χ. μεγάλη ηλικία).

Από θεραπευτικής από άποψης θα μπορούσε να στοχεύσει κανείς στην έκφραση συγκεκριμένων ουσιών στις περιφερικές νευρικές ίνες. Ο έλεγχος των επιπέδων των νευροδιαβιβαστών SP, CGRP και των μορίων κυτταρικής συνάφειας σε διαφορετικές τάξεις κυττάρων θα μπορούσε να αποτελέσει ένα τρόπο ρύθμισης του πόνου στη χρόνια τενοντίτιδα. Ακόμα, νέα θεραπευτικά σκευάσματα με επικεντρωμένη δράση στις συγκεκριμένες πρωτεΐνες θα μπορούσαν να τροποποιήσουν τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα μόρια της εξωκυττάριας ουσίας και το ενδοκυττάριο περιβάλλον επιδρώντας στους μηχανισμούς έλεγχου της αρχιτεκτονικής των τενόντων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aaström M. Partial rupture in chronic Achilles tendinopathy. A retrospective analysis of 342 cases. *Acta Orthop Scand* 1998;69: 404–407.

Aaström M and Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy: a survey of surgical and histopathological findings. *Clin Orthop* 1995; 316: 151–164

Aaström M and Westlin N. Blood flow in chronic Achilles tendinopathy. *Clin Orthop* 1994;308: 166–172

Abrahamsson SO and Lohmander S. Differential effects of insulin-like growth factor-1 on matrix and DNA synthesis in various regions at types of rabbit tendons. *J Orthop Res* 14: 370–376, 1996.

Abrahamsson SO, Lundborg G, Lohmander LS. Recombinant human insulin-like growth factor-I stimulates in vitro matrix synthesis and cell proliferation in rabbit flexor tendon. *J Orthop Res* 1991; 9: 495–502

Ackerman PW, Li J, Lundeberg T, et al. Neuronal plasticity in relation to nociception and healing of rat Achilles tendon. *J Orth Research* 2003; 21: 432-441.

Ahtikoski AM, Koskinen SOA, Virtanen P, et al . Type IV collagen in rat skeletal muscle during immobilization in shortened and lengthened positions. *Acta Physiol Scand* 2003; 177: 473–481

Aiyar N. Overview of calcitonin gene-related peptide and its receptor. *Scientific World J* 2001, 18; 1(12Suppl): 1.

Albrecht DE and Tidball JG. Platelet-derived growth factor-stimulated secretion of basement membrane proteins by skeletal muscle occurs by tyrosine kinase-dependent and -independent pathways. *J Biol Chem* 1997; 272: 2236–2244.

Alfredson H, Bjur D, Thorsen K, et al. High intratendinous lactate level in painful chronic achilles tendinosis. An investigation using microdialysis technique. *J Orthop Res* 2002; 20: 934–938.

Alfredson H, Forsgren S, Thorsen K, et al. In vivo microdialysis and immunohistochemical analyses of tendon tissue demonstrated high amounts of free glutamate and glutamate NMDAR-1 receptors, but no sign of inflammation in Jumper's knee. *J Orthop Res* 2001; 19: 881–88.

Alfredson H, Thorsen K, and Lorentzon R. In situ microdialysis in tendon tissue: high levels of glutamate but not prostaglandin E₂ in chronic Achilles tendon pain. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1999; 7: 378–381.

Almekinders LC and Temple JD. Etiology, diagnosis and treatment of tendonitis: analysis of the literature. *Med Sci Sports Exercise* 1998; 30: 1183–1190

Ameye L, Aria D, Jepsen K, et al. Abnormal collagen fibrils in tendons of biglycan/fibromodulin-deficient mice lead to gait impairment, ectopic ossification, and osteoarthritis. *FASEB J* 2002; 16: 673–680.

Andrews JR, Carson WG, McLeod WD. Glenoid Labral tears related to the long head of biceps. *Am J Sports Med* 1985; 13:337-341.

Aoki M, Ishii S, Usui M et al. The slope of the acromion and rotator cuff tear a cadaveric study. In: N. Takagishi, Editor, *The shoulder, Professional Postgraduate Service, Tokyo* 1987: 215-9

Araya R, Uehara T, Nomura Y. Hypoxia induces apoptosis in human neuroblastoma SK-N-MC cells by caspase activation accompanying cytochrome c release from mitochondria. *FEBS Lett* 1998;439:168-172.

Archambault JM, Koh TJ, Herzog W, et al. Experimental model to study muscle and tendon adaptation to chronic loading. *J Musculoskeletal Res* 1998; 2: 283–288.

Archambault JM, Tsuzaki M, Herzog W, et al. Stretch and interleukin-1 β induce matrix metalloproteinases in rabbit tendon cells in vitro. *J Orthop Res* 2002; 20: 36–39.

Arnoczky SP, Tian T, Lavagnino M et al. Activation of stress-activated protein kinases (SAPK) in tendon cells following cyclic strain: the effects of strain frequency, strain magnitude, and cytosolic calcium. *J Orthop Res* 2002; 20:947-952.

Astrom M and Westlin N. Blood flow in the human Achilles tendon assessed by laser Doppler flowmetry. *J Orthop Res* 1994;12:246–52.

Atalar AC, Demirhan M, Uysal M The role of the long head of the biceps in subacromial impingement syndrome and arthroscopic assisted tenodesis. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2002;36(5):408-12.

Bailey AJ. Molecular mechanisms of ageing in connective tissues. *Mech Ageing Dev* 122: 735–755, 2001.

Bailey AJ, Bazin S, Sims TJ, et al. Characterization of collagen of human hypertrophic and normal scars. *Biochim Biophys Acta* 1975;405:412-421

Bailey AJ, Robins SP, Balaam G. Biological significance of the intermolecular cross-links of collagen. *Nature* 1974; 251:105-109.

Banes AJ, Horesovsky G, Larson C, et al. Mechanical load stimulates expression of novel genes in vivo and in vitro in avian flexor tendon cells. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7: 141–143.

Banes A, Link G, Bevin A et al: Tendon synovial cells secrete fibronectin in vivo and in vitro. *J Orthop Res* , 1988;6: 73-82.

Banes A, Weinhold P, Yang X, et al. Gap junctions regulate responses of tendon cells ex vivo to mechanical loading. *Clin Orthop Rel Res* 1999; 367: 356–370.

Bank RA, TeKoppele JM, Oosting G, et al. Lysylhydroxylation and non-reducible crosslinking of human supraspinatus tendon collagen: changes with age and in chronic rotator cuff tendonitis. *Ann Rheum Dis.* 1999; 58:35-41

Bankart ASB: Recurrent or habitual dislocation of the shoulder joint. *Br Med J* 1923; 2: 1132-1133.

Barrow SE, Dollery CT, Heavey DJ, et al. Effect of vasoactive peptides on prostacyclin synthesis in man. *Br J Pharmacol* 1986; 87: 243–247.

Bartolozzi A, Andreychik D, Ahmad S. Determinants of outcome in the treatment of rotator cuff disease. *Clin Orthop Relat Res* 1994; 308:90-97.

Basset RW, Cofield RH, Acute tears of the rotator cuff. The timing of surgical repair. *Clin Orthop Relat Res,* 1983; 175:18-24.

Beall DP, Williamson EE, Ly JQ. Association of Biceps Tendon Tears with Rotator Cuff Abnormalities: Degree of Correlation with Tears of the Anterior and Superior Portions of the Rotator Cuff. *Am J Roentgenol* 2003; 180(3): 633-9.

Benjamin M and Ralphs JR. Fibrocartilage in tendons and ligaments: an adaptation to compressive load. *J Anat* 1998; 193: 481–494

Berg RA, Prockop DJ: The thermal transition of a non-hydroxylated form of collagen: evidence for a role for hydroxyproline in stabilizing the triple-helix of collagen. *Biochem Biophys Res Comm* 1973;52: 115-120.

Bernard-Beaubois K. In vivo study of cytotoxicity of quinolones on rabbit tenocytes. *Cell Biol. Toxic.* 1998; 14:283-292.

Biberthaler P, Wiedemann E, Nerlich A, et al. Microcirculation associated with degenerative rotator cuff lesions. *J Bone Joint Surg* 2003;85: 475–480.

Bidder M, Towler DA, Gelberman RH, et al. Expression of mRNA for vascular endothelial growth factor at the repair site of healing canine flexor tendon. *J Orthop Res*, 2000; 18: 247–252.

Bigliani LU, Morrison DS, April EW, The morphology of the acromion and its relationship to rotator cuff tears. *Orthop Trans* 1986; 10: 228.

Birch HL, Bailey AJ, Goodship AE. Macroscopic degeneration of equine superficial digital flexor tendon is accompanied by a change in extracellular matrix composition. *Equine Vet J* 1998; 30: 534–539.

Birch HL, Wilson AM, Goodship AE. The effect of exercise-induced localised hyperthermia on tendon cell survival. *J Exp Biol* 1997; 200: 1703–1708.

Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, et al. Matrix metalloproteinases: A review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4:197–250

Bjorn- Ove Ljung, Hakan Alfredson, Sture Forsgren . Neurokinin 1-receptors and sensory neuropeptides in tendon insertions at the medial and lateral epicondyles of the humerus. Studies on tennis elbow and medial epicondalgia. *J Orth Research*. 2004; 22: 321-327.

Bjorn- Ove Ljung ,Sture Forsgren, Jan Friden .Sympathetic and sensory innervations are heterogeneously distributed in relation to the blood vessels at the extensor carpi radialis brevis muscle origin of man. *Cells Tissue Organs* 1999; 165:45-54.

Boileau P, and Neyton L. Arthroscopic tenodesis of the long head of the biceps . *Oper Orthop Traumatol* 2005; 17: 601-623

Bokor DJ, Hawkins RJ, Huckell GH, et al. Results of nonoperative management of full-thickness tears of the rotator cuff *Clin Orthop Relat Res* 1993; 294:103-110.

Boushel R, Langberg H, Gemmer C, et al. Combined blockade of nitric oxide and prostaglandins reduces human skeletal muscle blood flow during exercise. *J Physiol*, 2002; 543: 691–698.

Buja LM, Eigenbrodt ML, Eigenbrodt EH. Apoptosis and necrosis. Basic types and mechanisms of cell death. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 1208-1214.

Buma P, Verschuren C, Versleyen D, et al. Calcitonin gene-related peptide substance P and GAP-43/B-50 immunoreactivity in the normal and arthrotic knee joint of the mouse. *Histochemistry* 1992; 98: 327-339.

Bunker T Rotator cuff disease *Curr Orthop* 2002; 16:223-233.

Busse R and Fleming I. Molecular responses of endothelial tissue to kinins. *Diabetes* 1996;45: 8–13.

Butt RP and Bishop JE. Mechanical load enhances the stimulatory effect of serum growth factors on cardiac fibroblast procollagen synthesis. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 1141–1151.

Buttiglione M, Revest JM, Pavlou O, et al. A functional interaction between the neuronal adhesion molecules TAG-1 and F3 modulates neurite outgrowth and fasciculation of cerebellar granule cells. *J. Neurosci* 1998;18: 6853-6870.

Cain PR, Mutschler TA, Fu FH, et al. Anterior stability of the glenohumeral joint: A dynamic model. *Am J Sport Med* 1987 ;15: 144-148.

Canoso JJ. Aspiration and injection of joints and periarticular tissues. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen J, Weinblatt ME, Weisman MH, ed. *Rheumatology, 3rd edn.* Edinburgh: Mosby, 2003:235.

Canty EG and Kadler KE. Collagen fibril biosynthesis in tendon: a review and recent insights. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 2002; 133: 979–985.

Carr AJ, and Norris SH. The blood supply of the calcaneal tendon. *J Bone Joint Surg Br* 1989;71:100–1.

Chang J, Most D, Thunder R, Mehrara B, et al. Molecular studies in flexor tendon wound healing: the role of basic fibroblast growth factor gene expression. *J Hand Surg* 1998;23: 1052–1058.

Chang S, Rathjen FG, Raper JA. Extension of neurites on axons is impaired by antibodies against specific neural cell surface glycoprotein. *J Cell Biol.* 1987;104: 355-362 .

Chen CH, Hsu KY, Chen WJ et al. Incidence and severity of biceps long head tendon lesion in patients with complete rotator cuff tears. *J Trauma* 2005; 58(6):1189-1193.

Cherdchutham W, Becker C, Smith RK, et al. Age-related changes and effect of exercise on the molecular composition of immature equine superficial digital flexor tendons. *Equine Vet J* 1999;31: 86–94.

Chipman SD, Sweet HO, McBride DJ, et al. Defective pro alpha 2(I) collagen synthesis in a recessive mutation mice: a model of human osteogenesis imperfecta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1701–1705.

Chiquet M. Regulation of extracellular matrix gene expression by mechanical stress. *Matrix Biol* 1999; 18: 417–426.

Clark JM ,Harryman DT 2nd. Tendons, ligaments, and capsule of the rotator cuff. Gross and microscopic anatomy. *J Bone Joint Surg Am.* 1992; 74(5): 713-725.

Clark J, Sidles JA, Matsen FA, et al: The relationship of the glenohumeral joint capsule to the rotator cuff. *Clin Orthop* 1990; 254: 29-34.

Codman EA. The shoulder: rupture of the supraspinatus tendon and other lesions in or about the subacromial bursa. Boston, MA: *Thomas Todd*, 1934.

Cohen JJ. Apoptosis *Immunol Today*. 1994; 14: 126-130.

Collins M, Mokone GG, Gajjar M et al. The alpha 1 type V collagen (COL5A1) gene is associated with chronic Achilles tendinopathy. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35(Suppl 1):S184.

Cooper DE, Arnoczky SP, O' Brien SJ, et al. Anatomy, histology, and vascularity of the glenoid labrum: An anatomical study. *J Bone Joint Surg Am* 1992; 74:46-52.

Cordasco FA, Steinmann S, Flatow EL. Arthroscopic treatment of glenoid labral tears *Am J Sports Med*, 1993;21:425-430.

Covault J and Sanes JR. Neural cell adhesion molecule (N-CAM) accumulates in denervated and paralyzed skeletal muscles. *Proc. Natl. Acad Sci* 1985; 82: 4544-4548

Crass JR, Craig EV, Thompson RC, et al. Ultrasonography of the rotator cuff: surgical correlation. *J Clin Ultrasound* 1984;12:487-491.

Curtis AS, Snyder SJ. Evaluation and treatment of biceps tendon pathology. *Orthop Clin North Am* 1993; 24(1) 33-43.

Dahm LM. and Landmesser LT. The regulation of intramuscular nerve branching during normal development and following activity blockade. *Dev Biol* 1988;130: 621-644

Dahners LE, Gilbert JA, Lester GE, et al. The effect of a non-steroidal anti-inflammatory drug on the healing of ligaments. *Am J Sports Med* 1988;16: 641-646.

Denaxa M, Chan C-H, Schachner M, et al. The adhesion molecule TAG-1 mediates the migration of cortical interneurons from the ganglionic eminence along the corticofugal fiber system. *Development* 2001; 128: 4635-464.

De Smet AA, Ting YM. Diagnosis of rotator cuff tear on routine radiographs. *J Can Assoc Radiol* 1977; 28:54-57.

Determe D, Rongieres M, Kany J et al. Anatomic study of tendinous rotator cuff of the shoulder. *Surg Radiol Anat.* 1996;18(3):195-200.

Dhar S. Bilateral simultaneous spontaneous rupture of the quadriceps tendon. A report of 3 cases and a review of the literature. *Inj.* 1988; 1: 7-8.

Dinnes J, Loveman E, McIntyre L, et al. The effectiveness of diagnostic tests for the assessment of shoulder pain due to soft tissue disorders: a systematic review. *Health Technol Assess* 2003; 7(29): 1–166.

Duchossoy Y, Arnaud S, Feldblum S. Matrix metalloproteinases: potential therapeutic target in spinal cord injury. *Clin Chem Lab Med* 2001;39: 362–367.

Edwards DAW. The blood supply and lymphatic drainage of tendons. *J Anat* 1946; 80: 147-152.

Elder CL, Dahnert LE, Weinhold PS. A cyclooxygenase-2 inhibitor impairs ligament healing in the rat. *Am J Sports Med* 2001;29: 801–805.

Elliott DH. Structure and function of mammalian tendon. *Biol Rev* 1965;40: 392–421.

Eriksen HA, Pajala A, Leppilahti J, et al. Increased content of type III collagen at the rupture site of human Achilles tendon. *J Orthop Res* 2002; 20: 1352–1357.

Eyre DR, Paz MA, Gallop PM. Cross-linking in collagen and elastin. *Ann Rev Biochem* 1984; 53: 717-748.

Fassina G, Ferrari N, Brigati C, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: regulation and biological activities. *Clin Exp Metast* 2000; 18: 111–120.

Felsenfeld DP, Hynes MA, Skoler KM, et al. TAG-1 can mediate homophilic binding, but neurite outgrowth on TAG-1 requires an L1-like molecule and b1 integrins. *Neuron* 1994;12: 675-690.

- Ferretti A.** Epidemiology of jumper's knee. *Sports Med* 1986; 3:289–95.
- Ford LT, DeBender J.** Tendon rupture after local steroid injection. *South Med J* 1979; 72:827–30.
- Fredberg U.** Local corticosteroid injection in sport: a review of the literature and guidelines for treatment. *Scand J Med Sci Sports* 1997; 7: 131–139.
- Fredberg U, Bolvig L.** Significance of ultrasonically detected asymptomatic tendinosis in the patellar and Achilles tendons of elite soccer players. *Am J Sports Med* 2002; 30:488–91.
- Frey C, Shereff M, Greenidge N.** Vascularity of the posterior tibial tendon. *J Bone Joint Surg Am* 1990; 72:884–888.
- Fu SC, Wang W, Pau HM, et al.** Increased expression of transforming growth factor beta-1 in patellar tendinosis. *Clin Orthop Rel Res* 2002; 400: 174–183.
- Fukuda H, Hamada K, Yamanaka K.** Pathology and pathogenesis of bursal –side rotator cuff tears viewed from en block histologic sections. *Clin Orthop* 1990; 254:75-80.
- Funk DA, Cass JR, Johnson KA.** Acquired flat foot secondary to posterior tibial tendon pathology. *J Bone Joint Surg Am* 1986;68:95–102.
- Gelberman R, Goldberg V, An K.** Tendon .In injury and repair of the musculoskeletal soft tissues (ed. S.-Y Woo and J Buckwalter) *American Academy of Orthopaedic Surgeons , Rosemont, IL;1988: 5-40.*
- Gohle F, Barthel T, Gandorfer A,** The influence of variations of the coracoacromial arch on the development of rotator cuff tears. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery.* 1993; 113: 28-32.

Gosselin LE, Adams C, Cotter TA, et al. Effect of exercise training on passive stiffness in locomotor skeletal muscle: role of extracellular matrix. *J Appl Physiol* 1998; 85: 1011–1016.

Gotoh M, Hamada K, Yamakawa H, et al. Increased substance P in subacromial bursa and shoulder pain in rotator cuff diseases. *J Orthop Res.* 1999; 17: 392-397.

Graham HK, Holmes DF, Watson RB, et al. Identification of collagen fibril fusion during vertebrate tendon morphogenesis. The process relies on unipolar fibrils and is regulated by collagen-proteoglycan interaction. *J Mol Biol* 2000; 295: 891–902.

Grumet M. Nr-CAM: a cell adhesion molecule with ligand and receptor functions. *Cell Tissue Res* 1997; 290: 423-428.

Haas TL, Milkiewicz M, Davis SJ, et al. Matrix metalloproteinase activity is required for activity-induced angiogenesis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H1540–H1547.

Haney A, Sahenk Z, Li C, et al. Heterophilic binding of L1 on unmyelinated sensory axons mediates Schwann cell Adhesion and is required for axonal survival. *J Cell Biol* 1999;146: 1173-1184.

Hannon K, Kudla AJ, McAvoy MJ, et al. Differentially expressed fibroblast growth factors regulate skeletal muscle development through autocrine and paracrine mechanisms. *J Cell Biol* 1996; 132: 1151–1159.

Hanson AN and Bentley JP. Quantitation of type I and type III collagen ratios in small samples of human tendon, blood vessels and atherosclerotic plaque. *Anal Biochem* 1983;130: 32–40.

Harper JMM, Soar JB, Buttery PJ. Changes in protein metabolism of ovine primary muscle cultures on treatment with growth hormone, insulin, insulin-like growth factor-I or epidermal growth factor. *J Endocrinol* 1987;112: 87–96.

Harrell R.M. Fluoroquinolone-induced tendinopathy: What do we know? *South Med J* 1999; 92 (6):622-625.

Harryman DT, Mack LA, Wang KY. Repairs of the rotator cuff. Correlation of functional results with integrity of the cuff. *J Bone Joint Surg Am* 1991; 73: 982-989.

Harvie P, Ostlere SJ, Teh J, et al. Genetic influences in the aetiology of tears of the rotator cuff. Sibling risk of a full-thickness tear. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86(5):696-700.

Hästad K, Larsson LG, Lindholm A. Clearance of radiosodium after local deposit in the Achilles tendon. *Acta Chir Scand* 1958 ;116: 251–255.

Hatstrup SJ. Rotator cuff repair: relevance of patient age *J Shoulder Elbow Surg* 1995; 4: 95-100.

Hay EM, Paterson SM, Lewis M, et al. Pragmatic randomised controlled trial of local corticosteroid injection and naproxen for treatment of lateral epicondylitis in primary care. *Br Med J* 1999; 319:964–8.

Hergrenroeder PT, Gelberman RH, Akerson WH. The vascularity of the flexor pollicis longus tendon. *Clin Orthop* 1982: 162:298-303.

Hertel R, Ballmer FT, Lombert SM, et al. Lag signs in the diagnosis of rotator cuff rupture. *J Shoulder Elbow Surg* 1996; 5:307-313.

Hetts SW. To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA* 1998; 279; 300-307.

Hijioka A, Suzuki K, Nakamura T, et al. Degenerative change and rotator cuff tears: an anatomical study in 160 shoulders of 80 cadavers. *Arch Orthop Trauma Surg* 1993; 112:61–64.

Hill RG. The role of CGRP in nociception? *Scientific World J* 2001;18, 1(12Suppl1): 19.

Honing ML, Smits P, Morrison PJ, et al. Bradykinin-induced vasodilation of human forearm resistance vessels is primarily mediated by endothelium-dependent hyperpolarization. *Hypertension* 2000;35:1314–131.

Hukkanen M, Gronblad M, Rees R et al. Regional distribution of mast cells and peptide containing nerves in normal and adjuvant arthritis rat synovium. *J Rheumatology* 1991; 18: 177-183.

Iannotti JP, Chansky HA. The vascularity of the rotator cuff. *Clin Sports Med.* 1991;10:807-22.

Inman VT, Saunders JB, Abbott LC. Observations of the function of the shoulder joint. *J Bone Joint Surg Am*1994; 26: 1-30.

Ireland D, Harrall R, Curry V, Holloway G, Hackney R, Hazleman B, and Riley G. Multiple changes in gene expression in chronic human Achilles tendinopathy. *Matrix Biol* 2001;20: 159–169.

Jamali AA, Afshar P, Abrams RA et al. Differential expression on neural cell adhesion molecule (NCAM) after tenotomy in rabbit skeletal muscles. *J Orthop Res* 2002; 20:364-369.

Järvinen TAH, Jozsa L, Kannus P, et al. Mechanical loading regulates tenascin-C expression in the osteotendinous junction. *J Cell Sci* 1999;112: 3175–3186.

Jih-Yang Ko, Chung Cheng Huang ,Wei-Jen Chen et al Pathogenesis of partial tear of the rotator cuff: A clinical and pathologic study. *J Shoulder Elbow Surg* 2006; 15: 271-278.

Jimenez S, Yankowski R, Bashey R. Identification of two new collagen alpha chains in extracts of lathyrict chick embryo tendons. *Biochem Biophys Res Comm* 1978; 81: 1298-1306.

Jobsis GJ, Keizers H, Vreijling JP, et al. Type VI collagen mutations in Bethlem myopathy, an autosomal dominant myopathy with contractures. *Nature Genet* 1996;14: 113–115.

Johnson DP, Wakeley CJ, Watt I. Magnetic resonance imaging of patellar tendonitis. *J Bone Joint Surg Br* 1996;78:452–457.

Jozsa L, Bailnt JB, Kannus P, et al. Distribution of blood groups in patients with tendon rupture: an analysis of 832 cases. *J Bone Joint Surg Br* 1989;71:272–274.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell T. *Principles of neural science.* 1991;Elsevier, New York

Kannus P, Jozsa LG. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon . A controlled study of 891 patients. *J Bone and Joint Surg Am.* 1991; 73: 1507-1525.

Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26:239-257.

Khan KM, Cook JL, Maffulli N. Patella tendinopathy and patellar tendon rupture. In: Maffulli N, Renstroö m P, Leadbetter WB, ed. *Tendon injuries: basic science and clinical medicine.* London: Springer, 2005:166–77.

Kido T, Itoi E, Konno N, et al. The depressor function of biceps o the head of the humerus in shoulders with tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* 2000; 82: 416-419.

Kiesieer BC, Schneider C, Clements JM, et al. Expression of specific matrix metalloproteinases in inflammatory myopathies. *Brain* 2001;124: 341–351.

Kleinman M, Gross AE. Achilles tendon rupture following steroid injection: report of three cases. *J Bone Joint Surg Am* 1983;65:1345–1347.

Kohls-Gatzoulis J, Angel JC, Singh D, et al. Tibialis posterior dysfunction: a common and treatable cause of adult acquired flatfoot. *Br Med J* 2004; 329:1328–33.

Komi PV, Fukashiro S, Jarvinen M. Biomechanical loading of Achilles tendon during normal locomotion. *Clin Sports Med* 1992;11:521–531.

Komi PV, Hyvarinen T, Gollhofer A, et al. Biomechanical considerations of impact forces and foot stability in running. *Sportverletzung Sportschaden* 1993; 7:179–182.

Koskinen Soa, Athikoski Am, Komoulainen J, et al. Short-term effects of forced eccentric contractions on collagen synthesis and degradation in rat skeletal muscle. *Pflügers Arch* 2002; 444: 59–72.

Kraushaar BS, Nirschl RP. Tendinosis of the elbow (Tennis Elbow). Current concepts review. Clinical features and findings of histological, immunohistochemical, and electron microscopy studies. *J Bone Joint Surg Am* 1999; 81: 259-278.

Kujala UM, Jarvinen M, Natri A et al. ABO blood groups and musculoskeletal injuries. *Injury* 1992;23:131–133.

Kvist M. Achilles tendon injuries in athletes. *Sports Med* 1994; 18: 173–201.

Langberg H, Bjørn C, Boushel R, et al. Exercise-induced increase in interstitial bradykinin and adenosine concentrations in skeletal muscle and peritendinous tissue in humans. *J Physiol* 2002;542: 977–983.

Langberg H, Boushel R, Skovgaard D, et al. Cyclo-oxygenase-2 mediated prostaglandin release regulates blood flow in connective tissue during mechanical loading in humans *J Physiol.* 2003; 55:683-689.

Langberg H, Bulow J, Kjaer M. Blood in the peritendinous space of the human Achilles tendon during exercise. *Acta Physiol Scand* 1998;163:149–53.

Langberg H, Skovgaard D, Petersen LJ, et al. Type-1 collagen turnover in peritendinous connective tissue after exercise determined by microdialysis. *J Physiol* 1999;521: 299–306.

Langberg H, Ellingsgaard H, Madsen T, et al. Eccentric rehabilitation exercise increases peritendinous type I collagen synthesis in humans with Achilles tendinosis. *Scand J Med Sci Sports* 2007; 17:61-66.

Langberg H, Rosendal L, Kjær M. Training induced changes in peritendinous type I collagen turnover determined by microdialysis in humans. *J Physiol* 2001;534: 397–402.

Leadbetter WB. Cell matrix response in tendon injury. *Clin Sports Med* 1992;11: 533-578.

Lee AA, Delhaas T, McCulloch AD, et al. Differential responses of adult cardiac fibroblasts to in vitro biaxial strain patterns. *J Moll Cell Cardiol* 1999;31: 1833–1843.

Lehman C, Cuomo F, Kummer FJ, et al, The incidence of full thickness rotator cuff tears in a large cadaveric population. *Bull Hosp Jt Dis* 1995; 54:30-31.

Liotard J, Cochard P, Walch G. Critical analysis of the supraspinatus outlet view rationale for a standard scapular Y-view. *J Shoulder Elbow Surg* 1998;7: 134–139.

Litaker D, Piro M, El Bilbeisi H, et al. Returning to the bedside: using the history and physical examination to identify rotator cuff tears. *J Am Geriatr Soc* 2000;48:1633–1637.

Lo IK, Hollinshead R, Hart DA, et al. Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase mRNA levels are specifically altered in torn rotator cuff tendons. *Am J Sports Med.* 2004 ;32:1223-1229.

Lohr JF, Uthoff HK. The microvascular pattern of the supraspinatus tendon. *Clin Orthop* 1990;254: 35-38.

Lundborg G, Myrhage R, Rydevik B. The vascularization of human flexor tendons within the digital synovial sheath region : Structural and functional aspects .*J Hand Surg.* 1977;2A: 417-427.

Lundborg G, Rank F. Experimental intrinsic healing of flexor tendons based upon synovial fluid nutrition . *Journal of Hand Surgery* 1978; 3: 21-31.

Lustig M, Sakurai T, Grumet M. Nr-CAM promotes neurite outgrowth from peripheral ganglia by a mechanism involving axonin-1 as a neuronal receptor. *Dev. Biol* 1999; 209: 340-351.

MacDonald PB, Clark P, Sutherland K. An analysis of the diagnostic accuracy of the Hawkins and Neer subacromial impingement signs. *J Shoulder Elbow Surg* 2000; 9:299–301.

Martini, R., Schachner, M. Immunoelectron microscopic localization of neural cell adhesion molecules (L1, N-CAM, and MAG) and their shared carbohydrate epitope and myelin basic protein in developing sciatic nerve. *J. Cell Biol.* 1986;103:2439-2448.

Mach. DB, Rogers SD, Sabino MC, et al. Origins of skeletal pain: Sensory and sympathetic innervation of the mouse femur. *Neuroscience* 2002 ;113 :155-166.

Magnusson SP, Aagaard P, Larsson B, et al. Passive energy absorption by human muscle-tendon unit is unaffected by increase in intramuscular temperature. *J Appl Physiol.* 2000;88:1215-1220.

Manicourt DH, Fujimoto N, Obata KI, et al. Levels of circulating collagenase, stromelysin-1, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 in patients with rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1995; 38: 1031–1039.

Marshal KW, Theriault E, Homonko DA. Distribution of substance P and calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the normal feline knee. *J Rheumatol* 1994; 21: 883-889.

Mauro VP, Krushel LA, Cunningham BA, et al. Homophilic and heterophilic binding activities of Nr-CAM, a nervous system cell adhesion molecule. *J Cell Biol* 1992;119: 191-202.

Mayer U, Saher G, Fässler R, et al. Absence of integrin alpha7 causes a novel form of muscular dystrophy. *Nature Genet* 1997; 17: 318–323.

McLaughlin HL. Recurrent anterior dislocation of the shoulder: I. Morbid anatomy. *Am J Surg* 1960; 99: 628-632.

Meiri KF, Saffell JL, Walsh FS et al. Neurite outgrowth stimulated by neural cell adhesion molecules requires growth-associated protein -43(GAP -43) function in associated with GAP-43 phosphorylation in growth cones. *J Neurosci* 1998;18:10 429-10 437.

Messner K, Wei Y, Andersson B, et al. Rat model of Achilles tendon disorder. *Cells Tissue Org* 1999;165: 30–39.

Middleton WD, Edelstein G, Reinus WR, et al. Ultrasonography of the rotator cuff. *J Ultrasound Med* 1984;3:549–551.

Misamore GW, Ziegler DW, Rushton JL. Repair of the rotator cuff. A comparison of results in tow populations of patients. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77: 1335-1339.

Miura M, Asou H, Kobayashi M, et al. Functional expression of a full-length cDNA coding for rat neural cell adhesion molecule L1 mediates homophilic intercellular adhesion and migration of cerebellar neurons. *J. Biol. Chem* 1992;267: 10752-10758.

Moos M, Tacke R, Scherer H, et al. Neural adhesion molecule L1 as a member of the immunoglobulin superfamily with binding domains similar to fibronectin. *Nature.* 1988;334:701-703.

Mortensen NHM. Early motion of the ankle after operative treatment of a rupture of the Achilles tendon. *J Bone Joint Surg Am* 1999; 81: 1717-1729.

Moseley HF, Goldie I. The arterial pattern of the rotator cuff of the shoulder. *J Bone Joint Surg Br* 1963 ; 45: 780-789.

Moseley HF, Overgaard B. The anterior capsular mechanism in recurrent anterior dislocation of the shoulder: Morphological and clinical studies with special reference to the glenoid labrum and the glenohumeral ligaments. *J Bone Joint Surg Br* 1962; 44: 913-927.

Murrell GA. Understanding tendinopathies. *Br J Sport Med* 2002;36:392-393 .

Murrell GA, Walton JR. Diagnosis of rotator cuff tears (letter). *Lancet* 2001;357:769–770.

Nakagawa Y, Hart DA, Boorman RS, et al. Decorin antisense gene therapy improves functional healing of early rabbit ligament scar with enhanced collagen fibrillogenesis in vivo. *J Orthop Res* 2000;18: 517–523.

Nagase H and Woessner JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491–21494.

Neer CS 2nd. Anterior acromioplasty for the chronic impingement in the shoulder: a preliminary report. *J Bone Joint Surg Am* 1972;54:41–50.

Neer CS 2nd. Impingement lesions. *Clin Orthop Relat Res* 1983;173:70–77.

Neer CS, Craig EV, Fukuda HF. Cuff tear arthropathy. *J Bone Joint Surg Am* 1983; 65: 1232-1244.

Neer CS^{2nd}, Satterlee CC, Dalsey RM, et al. The anatomy of potential effects of contracture of the coracohumeral ligament. *Clin Orthop* 1992; 280:182-185.

Nirschl RP. Mesenchymal syndrome. *Virginia Med, Month* 1969; 96: 659-662.

Nirschl RP. Prevention and treatment of elbow and shoulder injuries in tennis elbow. *Clin Sports Med* 1988; 7: 289-308.

O'Connell PW, Nuber GW, Mileski RA, et al. The contribution of the glenohumeral ligaments to anterior stability of the shoulder joint. *Am J Sports Med* 1990; 18:579-584.

Ogata S, Uhthoff H.K, Acromial enthesopathy and rotator cuff tear a radiologic and histologic postmortem investigation of the coracoacromial arch. *Clin Orthop* 1990; 254:39-48.

O'Kane KP, Webb DJ, Collier JG, et al. Local L-N^G-monomethyl-arginine attenuates the vasodilator action of bradykinin in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol* 1994 ;38: 311-315.

Ovesen J, Nielsen S. Stability of the shoulder joint: Cadaver study of stabilizing structures. *Acta Orthop Scand* 1985; 56:149-51.

Ozaki J, Fujimoto S, Nakagawa Y, et al. Tears of the rotator cuff of the shoulder associated with pathological changes in the acromion. A study in cadavera. *J Bone Joint Surg Am* 1988; 70; 1224-1230.

Parry DA, Craig AS, Barnes GR. Tendon and ligament from the horse: an ultrastructural study of collagen fibres and elastic fibres as a function of age. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1978;203: 293-303.

Patton WC, McClusky GM_{3rd}. Biceps tendinitis and subluxation. *Clin Sports Med* 2001; 20:505-529.

Pearsall AW 4th, Bonsell S, Heitman RJ, et al. Radiographic findings associated with symptomatic rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg* 2003;12: 122-127.

Pedersen- Bjergaard U, Bogeskov Nielsen L, Jensaen K, et al. Calcitonin gene-related peptide neurokinin A and substance P: effects on nociception and neurogenic inflammation in human skin and temporal muscle. *Peptides* 1991; 12:333-337.

Perhonen M, Han X, Wang W, et al. Skeletal muscle collagen type I and II mRNA, prolyl-4-hydroxylase and collagen in hypobaric trained rats. *J Appl Physiol* 1996;80: 2226–2233.

Perry J. Anatomy and biomechanics of the hindfoot. *Clin Orthop Relat Res* 1983;177: 9–15.

Philchenkov A. Caspases: potential targets for regulating cell death . *J Cell Mol Med* 2004;8:432-444.

Planas AM, Justicia C, Sole S, et al. Certain forms of matrix metalloproteinase-9 accumulate in the extracellular space after microdialysis probe implantation and middle cerebral artery occlusion/reperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 918–925.

Ralphs JR, Waggett AD, Benjamin M. Actin stress fibres in cell-cell adhesion molecules in tendons: organization in vivo and response to mechanical loading of tendon cells in vitro. *Matrix Biology* 2001;21:67-74.

Ranganath RM , Nagashere NR. Role of programmed cell death in development. *Int Rev Cytol* 2001;202:159-242.

Rathbun JB, Macnab I. The microvascular pattern of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br.* 1970;52: 540-553.

Reed JC. Bcl-2 and the regulation of the programmed cell death. *J Cell Biol* 1994;124:1-5.

Rees SG, Flannery CR, Little CB, et al. Catabolism of aggrecan, decorin and biglycan in tendon. *Biochem J* 2000;350: 181–188.

Regan W, Wold LE, Coonrad R et al. Microscopic histopathology of chronic refractory lateral epicondylitis . *Am J Sports Med* 1992; 20: 746-749.

Riikonen T, Westermarck J, Koivisto L, et al. Integrin alpha 2 beta 1 is a positive regulator of collagenase (MMP-1) and collagen alpha 1(I) gene expression. *J Biol Chem* 1995; 270: 13548–13552.

Riley GP, Harrall RL, Constant CR, et al. Tendon degeneration and chronic shoulder pain: changes in the collagen composition of the human rotator cuff tendons in rotator cuff tendinitis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 359–366.

Robbins JR, Evanko SP, Vogel KG. Mechanical loading and TGF- β regulate proteoglycan synthesis in tendon. *Arch Biochem Biophys* 1997; 342: 203–211.

Rosager S, Aagaard P, Dyhre-Poulsen P, et al. Load-displacement properties of the human triceps surae aponeurosis and tendon in runners and non-runners. *Scand J Med Sci Sports* 2002; 12: 90–98.

Rousselot P, Lois C, Alvarez-Buylla A. Embryonic (PSA) N-CAM reveals chains of migrating neuroblasts between the lateral ventricle and the olfactory bulb of adult mice. *J. Comp. Neurol* 1995 ; 351: 51-61.

Runyan SA, Roy R, Zhong H. L1 CAM expression in the superficial dorsal horn is derived from the dorsal root ganglion. *J Comp Neuro* 2005 ; 485: 267-279.

Row R. The structure of rat-tail tendon. *Conn Tissue Research* 1985;14:9-20.

Sanes JR, Schachner M, Covault J. Expression of several adhesive macromolecules (N-CAM, L1, J1,NILE, Uvomorulin, Laminin, Fibronectin and Heparin sulfate proteoglycan) in embryonic ,adult and denervated adult skeletal muscle. *J Cell Biol* 1986;102:420-431.

Savolainen J, Komulainen J, Vihko V, et al. Collagen synthesis and proteolytic activities in rat skeletal muscles: effect of cast-immobilization in the lengthened and shortened positions. *Arch Phys Med Rehabil* 1988; 69: 964–969.

Scherping SC, Schmidt CC, Georgescu HI, et al. Effect of growth factors on the proliferation of ligament fibroblasts from skeletally mature rabbits. *Connect Tiss Res* 1997; 36: 1–8.

Schindowski K, Kratzsch T Peters J et al. Impact of aging sporadic , and genetic risk factors on vulnerability to apoptosis in Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med* 2003; 4: 161-178.

Schmid MR, Hodler J, Cathrein P, et al. Is impingement the cause of jumper's knee? Dynamic and static magnetic resonance imaging of patellar tendinitis in an openconfiguration system. *Am J Sports Med* 2002;30:388–95.

Schwab W, Bilgicyldirim A, Funk RHW. Microtopography of the autonomic nerves in the rat knee: A fluorescence microscopic study. *The Anat Rec* 1997; 247: 109-118.

Scott JE. Structure and function in extracellular matrices depend on interactions between anionic glycosaminoglycans. *Pathol Biol* 2001; 49: 284–289.

Sharif M, Whitehouse A, Sharman P et al. Increased apoptosis in human osteoarthritic cartilage corresponds to reduced cell density and expression of caspase-3, *Arthritis Rheum* 2004;50: 507-515.

Sethi N, Wright R, Yamaguchi K. Disorders of the long head of biceps. *J Shoulder Elbow Surg.*1999; 8: 644-654.

Sher JS, Uride JW, Posada A et al. Abnormal findings on magnetic resonance images of asymptomatic shoulders. *J Bone Joint Surg Am* 1995; 77:10-15.

Silvestre JB, Mallat Z, Tamarat R, et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity in ischemic tissue by interleukin-10. Role in ischaemia-induced angiogenesis. *Circ Res* 2001; 89: 259–264.

Skutek M, Van Griensven M, Zeichen J, et al. Cyclic mechanical stretching modulates secretion pattern of growth factors in human fibroblasts. *Eur J Appl Physiol* 2001 ; 86: 48–52.

Snyder SJ, Karzel RP, Del Pizzo W, et al. SLAP lesions of the shoulder. *Arthroscopy* 1990; 6:274-279.

Sommer HM. The biomechanical and metabolic effects of a running regimen on the Achilles tendon in the rat. *Int Orthop* 1987; 11: 71–75.

Soslowsky LJ, Thomopoulos S, Tun S, et al. Overuse activity injures the supraspinatus tendon in an animal model: a histologic and biomechanical study. *J Shoulder Elbow Surg* 2000; 9:79-84.

Splain S.H. Bilateral simultaneous intrapatellar tendon rupture: Support for Davidson's theory. *Ortho Rev* 1988; 17: 802-805.

Stahl S, Kaufman T. The efficacy of an injection of steroids in medial epicondylitis. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:1648–52.

Sullo A, Maffulli N, Capasso G, et al. The effects of prolonged peritendinous administration of PGE₁ to the rat Achilles tendon: a possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. *J Orthop Sci* 2001; 6: 349–357.

Svensson L, Aszodi A, Reinholt FP, et al. Fibromodulin-null mice have abnormal collagen fibrils, tissue organization, and altered lumican deposition in tendon. *J Biol Chem* 1999; 274: 9636–9647.

Swiontkowski MF, Iannotti JP, Boulas HJ, et al. Intraoperative assessment of rotator cuff vascularity using laser Doppler flowmetry In: *Post M, Morrey BF, Hawkins RJ, eds. Surgery of the shoulder St Louis : Mosby –Year Book 1990.*

Takeichi M. Cadherins: A molecular family essential for selective cell-cell adhesion and animal morphogenesis. *Trends Genet* 1987; 3: 213-217.

Tang J, Rutishauser U, Landmesser LT. Polysialic acid regulates growth cone behavior during sorting of motor axons in the plexus region. *Neuron* 1994; 13: 405-414.

Tedd RJ, Norton MR. Bilateral simultaneous traumatic quadriceps tendon ruptures associated with pseudogout. *Injury Int. J. Care Injured* 2000; 31: 467-469.

Teefey SA, Rubin DA, Middleton WD, et al. Detection and quantification of rotator cuff tears: comparison of ultrasonographic, magnetic resonance imaging, and arthroscopic findings in seventy- one consecutive cases. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86:708–716.

Tempelhof S, Rupp S, Seil R. Age-related prevalence of rotator cuff tears in asymptomatic shoulders . *J Shoulder Elbow Surg* 1999;8: 296-299.

Theelin J, Waldenstrom A, Bartsch U Heat nociception is severely reduced in a mutant mouse deficient for the L1 adhesion molecule. *Brain Res.* 2003 7;965:75-82.

Tsiotra P, Theodorakis K, Papamatheakis J, et al. The fibronectin domains of the neural adhesion molecule TAX-1 are necessary and sufficient for homophilic binding. *J Biol Chem* 1996; 271: 29216-29222.

Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, et al. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* 1985; 228; 1440-1443.

Tsuzaki M, Brigman B, Xiao H, et al. IGF-1 and TGF-beta1 drive tendon cell DNA synthesis. *Trans Orthop Res Soc* 1994;19: 18–30.

Tuoheti Y, Itoi E, Pradhan RL. Apoptosis in the supraspinatus tendon with stage II subacromial impingement . *J Shoulder Elbow Surg* 2005;14:535-541.

Uhthoff HK, Hammond DI, Sarkar, GJ et al. The role of the coracoacromial ligament in the impingement syndrome a clinical, bursographic and histologic study, *Int Orthop* 1988; 12: 97–104.

Urwin M, Symmons D, Alison T, et al. Estimating the burden of the of muskuloskeletal disorders in the community : the comparative prevalence of

symptoms at different anatomical sites , and the relation to social deprivation . *Ann Rheum Dis* 1998; 57:649-655.

van der Linden PD, Sturkenboom MC, Herings RM, et al. Increased risk of Achilles tendon rupture with quinolone antibacterial use, especially in elderly patients taking oral corticosteroids. *Arch Intern Med* 2003;163:1801–1807.

Varela-Echavarria A, Guthrie S. Molecules making waves in axon guidance. *Genes Dev* 1997; 11: 545-557.

Vaux D, Cory S, Adams J. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988; 335:440-442.

Viidik A. The effect of training on the tensile strength of isolated rabbit tendons. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1967; 1: 141–147.

Viidik A. Tensile strength properties of Achilles tendon systems in trained and untrained rabbits. *Acta Orthop Scand* 1969; 40: 261–272.

Vogel H. Influence of maturation and age on mechanical and biomechanical parameters of connective tissue of various organs in the rat. *Connective Tissue Res*, 1978; 6: 161-166.

Vogel, KG, Heinegard, D. Characterization of proteoglycans from adult bovine tendon. *J. Biol. Chem.* 1985; 260: 9298-9306.

Vogel KG, Koob TJ. Structural specialization in tendons under compression. *Int Rev Cytol* 1989; 115:267-293.

Waldt S, Burkart A, Lange P, et al. Diagnostic performance of MR arthrography in the assessment of superior labral anteroposterior lesions of the shoulder. *Am J Roentgenol* 2004;182:1271–1278.

Wallis GA, Rash B, Sykes B, et al. Mutations within the gene encoding the alpha 1 (X) chain of type X collagen (COL 10A1) cause metaphyseal chondrodysplasia type

Schmid but not several other forms of metaphyseal chondrodysplasia. *J Med Genet* 1996; 33: 450–457.

Williams IF, McCullagh KG, Silver IA. The distribution of types I and III collagen and fibronectin in the healing equine tendon. *Connect Tissue Res* 1984; 12:211-222.

Williams RJ. The effect of ciprofloxacin on tendon, paratenon , and capsular fibroblast metabolism. *Am J Sport Med* 2000; 28: 364-369.

With MA, Basamania C, Rockwood CA Jr. Nonoperative management of full – thickness tears of the rotator cuff. *Ortho Clin North Am* 1997; 28:59-67.

Woo S-Y, Gomez M, Amiel D, et al. The effects of exercise on the biomechanical and biochemical properties of swine digital flexor tendons. *J Biomechanical Engineering.* 1981;103: 51-6.

Woo S-Y, Gomez M, Woo Y-K et al. Mechanical properties of tendons and ligaments II: The relationships of immobilization and exercise on tissue remodeling. *Biorheology,* 1982; 19:397-408.

Wu Z, Wong K, Glogauer M, et al. Regulation of stretch activated intracellular calcium transients by actin filaments. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261: 419–425.

Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death : the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68:251-306.

Yamaguchi K, Sher JS, Andresen WK, et al. Glunohumeral motion in patients with rotator cuff tears: A comparison of asymptomatic and symptomatic shoulders. *J Shoulder Elbow Surg* 2000; 9: 6-11.

Yamanaka H, Obata K, Kobayashi K et al. Alteration of the cell adhesion molecule L1 expression in a specific subset of primary afferent neurons contributes to neuropathic pain . *Eur J Neuroscience* 2007; 25: 1097-1111.

Yuan J, Murrell GA, Wei AQ et al. Apoptosis in rotator cuff tendinopathy. *J Orthop Res* 2002; 20: 1372-1379.

Zaslav KR. Internal rotation resistance strength test: a new diagnostic test to differentiate intraarticular pathology from outlet (Neer) impingement syndrome in the shoulder. *J Shoulder Elbow Surg* 2001; 10:23–27.

Zernicke RF, Garhammer J, Jobe FW. Human patella-tendon rupture. *J Bone Joint Surg Am* 1977; 59:179–83.

Zin I, Offen D, Haviv R, et al The proto-oncogene Bcl-2 inhibits cellular toxicity of dopamine possible implications for Parkinson's disease. *Apoptosis* 1997;2:149-155.

Zobrodowski A, Gajisin S, Grodecki J. Vascularization of the tendons of the extensor pollicis longus , extensor carpi radialis longus and extensor carpi radialis brevis. *J Anat* 1982; 135:235-244.

Zuckerman JD, Kummer FJ, Cuomo F, et al. Interobserver reliability of acromial morphology classification; an anatomic study. *J Shoulder Elbow Surg* 1997;6:286–287.

THE JOURNAL OF BONE & JOINT SURGERY

JB&JS

This is an enhanced PDF from The Journal of Bone and Joint Surgery

The PDF of the article you requested follows this cover page.

Sympathetic and Sensory Neural Elements in the Tendon of the Long Head of the Biceps

Kalliopi Alpantaki, David McLaughlin, Domna Karagogeos, Alexander Hadjipavlou and George Kontakis
J. Bone Joint Surg. Am. 87:1580-1583, 2005. doi:10.2106/JBJS.D.02840

This information is current as of March 29, 2007

Subject Collections

Articles on similar topics can be found in the following collections

[Adult Disease](#) (1282 articles)

[Shoulder/Elbow](#) (361 articles)

[Shoulder](#) (260 articles)

[Anatomy](#) (65 articles)

Reprints and Permissions

Click here to [order reprints or request permission](#) to use material from this article, or locate the article citation on [jbjs.org](#) and click on the [Reprints and Permissions] link.

Publisher Information

The Journal of Bone and Joint Surgery
20 Pickering Street, Needham, MA 02492-3157
[www.jbjs.org](#)

SYMPATHETIC AND SENSORY NEURAL ELEMENTS IN THE TENDON OF THE LONG HEAD OF THE BICEPS

BY KALLIOPI ALPANTAKI, MD, DAVID MCLAUGHLIN, PHD, DOMNA KARAGOGEOS, PHD,
ALEXANDER HADJIPAVLOU, MD, AND GEORGE KONTAKIS, MD

*Investigation performed at the Department of Orthopaedics-Traumatology and Neurosciences Laboratory,
University of Crete, Heraklion, Crete, Greece*

Background: Although the tendon of the long head of the biceps is a well-known source of shoulder pain, the pathophysiological basis of this pain has yet to be explained. The aim of this study was to detect and characterize any nervous element of the tendon and to determine a possible explanation for pain originating from this structure.

Methods: The nature of the neuronal innervation of the tendon of the long head of the biceps was studied immunohistochemically, in four tendons from different human cadavers, with use of neurofilament antibody 2H3, neurofilament-like antibody 3A10, calcitonin gene-related peptide, substance P, and tyrosine hydroxylase.

Results: A large neuronal network, asymmetrically distributed along the length of the tendon with a higher degree of innervation at the tendon origin, was identified by the neurofilament and neurofilament-like antibodies 2H3 and 3A10. This innervation was found to be positive for calcitonin gene-related peptide and substance P, suggesting the presence of thinly myelinated or unmyelinated sensory neurons. It was also positive for tyrosine hydroxylase, suggesting a postganglionic sympathetic origin.

Conclusions and Clinical Relevance: These findings demonstrate that the tendon of the long head of the biceps is innervated by a network of sensory sympathetic fibers, which may play a role in the pathogenesis of shoulder pain.

Currently, the pathophysiology of chronic tendon pain is not fully understood¹⁻³. Overuse tendon injuries are infrequently characterized by the presence of inflammatory cells. Instead, degenerative changes resulting from a failure at self-repair are commonly found^{2,4}. Several authors have presented data suggesting that the nervous system plays a major role not only in nociception but also in communication with the immune system with regard to degeneration and inflammation^{3,4}. A large number of studies have demonstrated that the sympathetic innervation of the musculoskeletal system is involved in the regulation of blood flow and may participate in the inflammatory reaction⁵⁻⁷. In addition, the role of neuropeptides in the process of healing has recently been recognized^{8,9}. Besides transmitting pain, neuropeptides such as substance P and calcitonin gene-related peptide, which are present in sensory nerves, are responsible for vasodilation and plasma extravasation. This process leads to so-called neurogenic inflammation^{5-7,10}.

Immunohistochemical studies of the nerve distribution in the shoulder joint capsule^{8,11}, in the subacromial bursa⁹, and in the coracoacromial ligament¹² have been published, but we are not aware of any investigations of the neural structures innervating the tendon of the long head of the biceps. The aim

of the present study was to detect and characterize the nervous elements of the long head of the biceps and to determine a possible explanation for pain originating from this structure.

Materials and Methods

The tendon of the long head of the biceps was harvested from the shoulders of four fresh male cadavers (age range at the time of death, fifty-five to eighty-one years). We did not include tissue from female cadavers only because they were unavailable. The tendons showed no signs of degeneration on hematoxylin and eosin staining and viewing under normal light microscopy. Each tendon was divided into three equal parts (Fig. 1), which were marked, fixed overnight in a solution of 4% paraformaldehyde, and embedded in paraffin. Longitudinal 10- μ m tissue sections were cut with a microtome, mounted on super-frost glass slides, and immunostained with the avidin-biotin system according to the manufacturer's instructions (Vector Laboratories, Burlingame, California). The sections were washed twice, for ten minutes each time, with phosphate-buffered saline solution plus 0.1% Triton X. Subsequently, the sections were incubated with 10% fetal calf serum in phosphate-buffered saline solution for sixty minutes to block nonspecific binding before incubation with primary antibodies

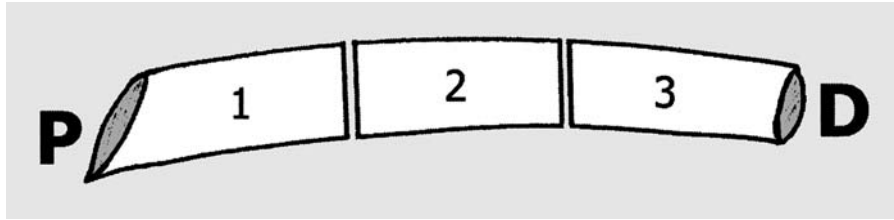


Fig. 1

Drawing showing a sample of the tendon of the long head of the biceps. P = proximal cut (insertion); D = the distal cut; and 1, 2, and 3 = proximal, middle, and distal parts, respectively, which were cut longitudinally for staining.

for substance P (1:5000 rabbit polyclonal; Chemicon International, Temecula, California), calcitonin gene-related peptide (1:100 rabbit polyclonal; Abcam, Cambridge, United Kingdom), tyrosine hydroxylase (1:100 mouse monoclonal; Biotrend Chemikalien, Cologne, Germany), neurofilament-like antibody 3A10 (1:100 mouse monoclonal; Developmental Studies Hybridoma Bank, Iowa City, Iowa), and neurofilament antibody 2H3 (1:100 mouse monoclonal; Developmental Studies Hybridoma Bank) overnight at 4°C.

After incubation with primary antibody, the sections were washed three times, for ten minutes each time, with phosphate-buffered saline solution plus 0.1% Triton X and then incubated with the secondary antibody (1:100 anti-mouse IgM-biotinylated [Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, Pennsylvania] for the neurofilament antibody and tyrosine hydroxylase and 1:250 anti-rabbit IgG-biotinylated [Vector Laboratories] for substance P and calcitonin gene-related peptide) for two hours at room temperature.

After completion of the staining steps for both primary and secondary antibody, the sections were washed three times, for ten minutes each time, with phosphate-buffered saline solution plus 0.1% Triton X and incubated with avidin-biotinylated enzyme complex (ABC) solution (Vector Laboratories) for thirty minutes. After the sections were washed again three times, for ten minutes each time, with phosphate-buffered saline solution plus 0.1% Triton X, they were stained in diaminobenzidine- H_2O_2 solution (DAB peroxidase substrate; Sigma Chemical, St. Louis, Missouri) for fifteen minutes. Immunohistochemical controls were prepared by incubating sections with 10% fetal calf serum in phosphate-buffered saline solution instead of the primary antibody. The following steps were identical to those previously described for the experimental sections. Each section was observed with light microscopy, and all structures were photographed with use of a reversal camera.

Results

Both the neurofilament (2H3) and the neurofilament-like (3A10) antibodies revealed a rich innervation, which was more common at the proximal insertion to the bone than at the distal musculotendinous junction. The staining patterns with the two antibodies appeared to be identical, showing a thin interconnected network of nerve fibers (described as a “net-like pattern”) with neuronal buttons, suggesting termi-

nal/secretory endings. These nerve-fiber bundles, which made up the main trunk of the network, gave rise to smaller bundles and fine individual nerves (Figs. 2-A and 2-B).

When a number of different antibodies were used on consecutive sections, positive labeling was found, in overlapping positions of each section, for calcitonin gene-related peptide, substance P, and tyrosine hydroxylase. In each case, a net-like pattern that was identical to that seen with the neurofilament antibody was observed. Staining of consecutive sections with hematoxylin and eosin revealed no defects in tissue integrity. The morphological structure of this network of nerve fibers was similar in the four tendons that we studied. A more prominent neural network was found in the proximal third than in the middle third, and the network was even less prominent in the distal third of each specimen.

Discussion

The neurofilament antibody 2H3 and neurofilament-like antibody 3A10 that were used as general neuronal markers in this study revealed a prominent neuronal structure. The two antibodies displayed an identical net-like pattern, which was not observed in any of our control specimens (in which the primary antibody was omitted).

To explain the nature of this nerve network, we examined the expression of calcitonin gene-related peptide, which is colocalized with substance P in sensory nerve fibers⁵⁻⁷, in consecutive sections. The autonomic innervation was visualized by the use of tyrosine hydroxylase antibodies. An identical net-like pattern of innervation, in which thick and coarse-appearing nerve fibers gave rise to thinner ones, was displayed.

Trophic effects of autonomic and sensory innervation on tendon origin have previously been described^{4,7}. A growing number of studies have raised the question of whether the nervous system plays a functional role in the pathogenesis of pain and degeneration in this area^{6-8,13-17}. These studies have shown that tendons are supplied by nerve fibers containing sensory and sympathetic neurotransmitters, which, apart from nociception, participate in vasoregulation and immune responses. However, these nerve fibers were detected in association with blood vessels and within nerve bundles⁵⁻⁷.

Substance P and calcitonin gene-related peptide are considered to be the most important mediators of neurogenic inflammation^{6,7,13,18}. Substance P is involved in vascular perme-

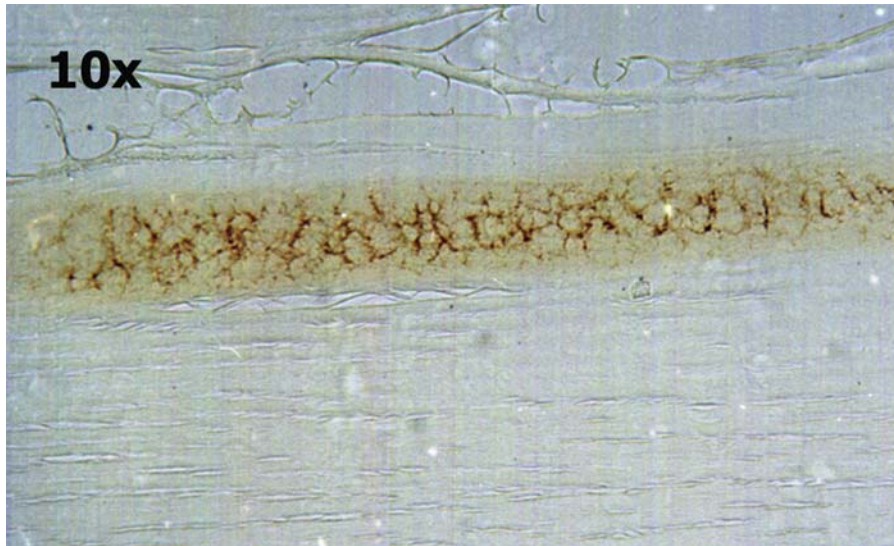


Fig. 2-A
Neurofilament immunoreactive fibers localized into the long head of the biceps ($\times 10$).

ability, vasodilation, and the release of cytokines and growth factors from immune cells. Calcitonin gene-related peptide plays an important vasoactive role, leading to vasodilation and plasma extravasation. It also enhances the vasodilatory effect of substance P^{4,7,14-18}. Substance P coexists with calcitonin gene-related peptide in tendons and ligaments⁵⁻⁷, and both have been implicated in the healing process of ruptured tendons in association with new nerve ingrowth and a specific temporal pattern of neuropeptide occurrence¹⁸. On the other hand, there is evidence that sympathetic innervation participates in the pathogenesis of both skeletal and tendon pain by interacting with sensory afferent nerve fibers and immune cells¹⁹.

Imbalances between vasoconstrictor mediators (tyrosine hydroxylase) and vasodilator mediators (substance P and calcitonin gene-related peptide) may lead to abnormal perfusion, nutritional deficiency, ischemia, and hypoxic degeneration⁵⁻⁷.

The current study demonstrated that the tendon of the long head of the biceps in humans contains a network of sensory and sympathetic nerve fibers. Additionally, it appears that these structures are not distributed homogeneously throughout the tendon body, but rather are primarily located in its proximal part. The reason for this heterogeneity is not clear.

In conclusion, the major new findings of this study were (1) the tendon of the long head of the biceps contains a large

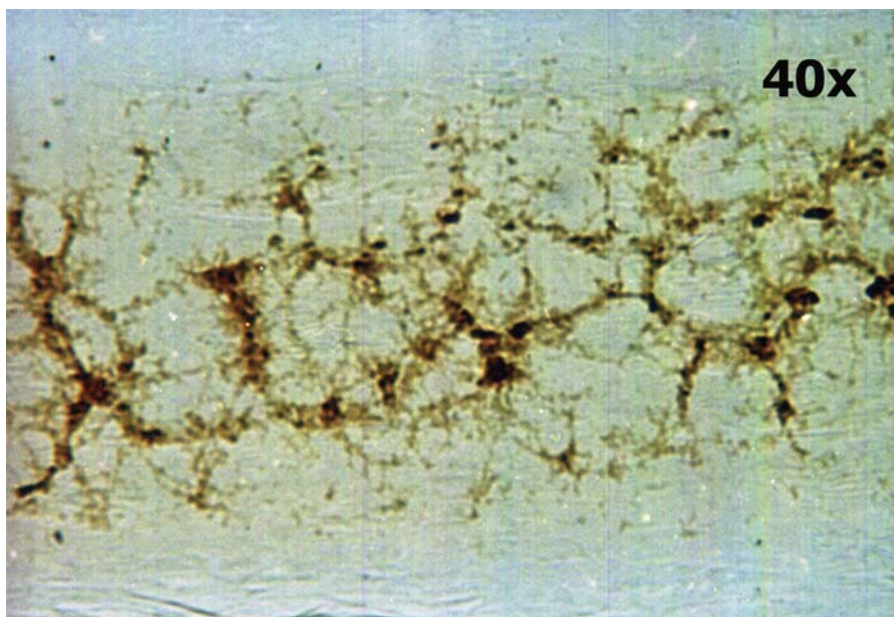


Fig. 2-B
Magnification highlights the net-like pattern of the neurofilament-positive fibers ($\times 40$).

network of sensory and sympathetic nerve fibers, (2) this type of innervation is not associated with blood vessels (as it was described to be in previous studies^{3,6,7}), and (3) the innervation is not distributed evenly throughout the tendon but rather is found predominantly near its insertion. ■

Kalliopi Alpantaki, MD
David McLaughlin, PhD
Domna Karageorgos, PhD
Alexander Hadjipavlou, MD
Department of Orthopaedics-Traumatology (K.A. and A.H.) and Neurosciences Laboratory (D.McL. and D.K.), University of Crete, 711 10, Heraklion, Crete, Greece

George Kontakis, MD
1 Pindarou Street, 713 05 Heraklion, Crete, Greece. E-mail address: kontak@med.uoc.gr

The authors did not receive grants or outside funding in support of their research or preparation of this manuscript. They did not receive payments or other benefits or a commitment or agreement to provide such benefits from a commercial entity. No commercial entity paid or directed, or agreed to pay or direct, any benefits to any research fund, foundation, educational institution, or other charitable or nonprofit organization with which the authors are affiliated or associated.

doi:10.2106/JBJS.D.02840

References

- Sethi N, Wright R, Yamaguchi K. Disorders of the long head of the biceps tendon. *J Shoulder Elbow Surg.* 1999;8:644-54.
- Patton WC, McCluskey GM 3rd. Biceps tendinitis and subluxation. *Clin Sports Med.* 2001;20:505-29.
- Curtis AS, Snyder SJ. Evaluation and treatment of biceps tendon pathology. *Orthop Clin North Am.* 1993;24:33-43.
- Kraushaar BS, Nirschl RP. Tendinosis of the elbow (tennis elbow). Clinical features and findings of histological, immunohistochemical, and electron microscopy studies. *J Bone Joint Surg Am.* 1999;81:259-78.
- Ljung BO, Alfredson H, Forsgren S. Neurokinin 1-receptors and sensory neuropeptides in tendon insertions at the medial and lateral epicondyles of the humerus. Studies on tennis elbow and medial epicondylalgia. *J Orthop Res.* 2004;22:321-7.
- Schwab W, Bilgicyildirim A, Funk RH. Microtopography of the autonomic nerves in the rat knee: a fluorescence microscopic study. *Anat Rec.* 1997;247:109-18.
- Ljung BO, Forsgren S, Friden J. Sympathetic and sensory innervations are heterogeneously distributed in relation to the blood vessels at the extensor carpi radialis brevis muscle origin of man. *Cells Tissues Organs.* 1999;165:45-54.
- Tarumoto R, Murakami M, Imai S, Maeda T, Hukuda S. A morphometric analysis of protein gene product 9.5-, substance P-, and calcitonin gene-related peptide immunoreactive innervation in the shoulder joint of the Japanese macaque. *J Shoulder Elbow Surg.* 1998;7:522-8.
- Soifer TB, Levy HJ, Soifer FM, Kleinbart F, Vigorita V, Bryke E. Neurohistology of the subacromial space. *Arthroscopy.* 1996;12:182-6.
- Ackermann PW, Finn A, Ahmed M. Sensory neuropeptidergic pattern in tendon, ligament and joint capsule. A study in the rat. *Neuroreport.* 1999;10:2055-60.
- Hashimoto T, Hamada T, Sasaguri Y, Suzuki K. Immunohistochemical approach for the investigation of nerve distribution in the shoulder joint capsule. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;305:273-82.
- Timai M, Okajima S, Fushiki S, Hirasawa Y. Quantitative analysis of neural distribution in human coracoacromial ligaments. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;373:125-34.
- Marshall KW, Theriault E, Homonko DA. Distribution of substance P and calcitonin gene related peptide immunoreactivity in the normal feline knee. *J Rheumatol.* 1994;21:883-9.
- Pedersen-Bjergaard U, Nielsen LB, Jensen K, Edvinsson L, Jansen I, Olesen J. Calcitonin gene-related peptide neurokinin A and substance P: effects on nociception and neurogenic inflammation in human skin and temporal muscle. *Pep-tides.* 1991;12:333-7.
- Hill RG. The role of CGRP in nociception? *Scientific World.* 2001;1(Suppl 1):19.
- Aiyar N. Overview of calcitonin gene-related peptide and its receptor. *Scientific World.* 2001;1(Suppl 1):1.
- Buma P, Verschuren C, Versleyen D, Van der Kraan P, Oestreicher AB. Calcitonin gene-related peptide, substance P and GAP-43/B-50 immunoreactivity in the normal and arthrotic knee joint of the mouse. *Histochemistry.* 1992;98:327-39.
- Ackermann PW, Li J, Lundeberg T, Kreicbergs A. Neuronal plasticity in relation to nociception and healing of rat achilles tendon. *J Orthop Res.* 2003;21:432-41.
- Mach DB, Rogers SD, Sabino MC, Luger NM, Schwei MJ, Pomonis JD, Keyser CP, Clohisy DR, Adams DJ, O'Leary P, Mantyh PW. Origins of skeletal pain: sensory and sympathetic innervation of the mouse femur. *Neuroscience.* 2002;113:155-66.