

Лечение мышечных травм посредством местного введения аутологичной кондиционированной сыворотки: экспериментальное исследование, проведенное на спортсменах с растяжением мышц

T. Wright-Carpenter^{1,3}P. Klein²P. Schäferhoff²H. J. Appell³L. M. Mir¹P. Wehling⁴

Аннотация

Мышечные травмы представляют собой большую часть спортивных травм, а также сложную проблему в травматологии. Деформационные травмы являются наиболее распространенными травмами мышц после ушибов. Такие травмы могут привести к выраженному болевому синдрому и потере трудоспособности, тем самым теряя время, отведенное для тренировок и соревнований. Несмотря на частоту деформационных травм, доступные средства лечения весьма ограничены, и, как правило, недостаточны для эффективного улучшения регенерации мышц, когда быстрое возобновление спортивной деятельности является основным приоритетом. Ряд факторов роста играет определенную роль в регенерации, и доказано, что представленный ранее способ физико-химической стимуляции цельной крови (для получения аутологичной кондиционированной сыворотки) индуцирует рост концентраций в FGF-2, HGF и TGF- β 1. Предварительное исследование было проведено на деформационных мышечных травмах у профессиональных спортсменов, получающих: 1.

аутологичную кондиционированную сыворотку (АКС) или 2. Actovegin/Traumeel в качестве контрольного экспериментального варианта. Проведена оценка восстановления после травмы: 1. 100%-ная профессиональная способность спортсмена участвовать в соревнованиях в своем виде спорта и 2. магнитно-резонансная томография. Продемонстрирована значительная разница во времени восстановления после травмы: 16.6 ± 0.9 у пациентов, получавших АКС, вместо $22,3 \pm 1,2$ (среднее значение \pm SEM) дней в контрольной группе, получавшей Actovegin/Traumeel ($p = 0,001$). МРТ анализ подтвердил наблюдаемое ускорение во времени восстановления после травмы. Мы пришли к выводу, что инъекции АКС представляют собой перспективный метод лечения, позволяющий сократить время восстановления после мышечной травмы.

Ключевые слова:

факторы роста * регенерация * основной фактор роста фибробластов (FGF-2) * скелетная мышца

Список аббревиатур:

ACS	- аутологичная кондиционированная сыворотка (АКС)
bFGF	- основной фактор роста фибробластов (также FGF-2)
HGF	- фактор роста гепатоцитов
IGF-1	- инсулиноподобный фактор роста -1
IL-1 β	- фактор стимуляции В-клеток 1
IL-1Ra	- антагонист рецептора интерлейкина-1
IL-7	- интерлейкин 7
NGF	- нейрональный ростовой фактор
PDGF-AB	- фактор роста тромбоцитов
TGF- β 1	- трансформирующий ростовой фактор бета 1

Введение

На мышечные травмы приходится более 30% от всех травм, полученных во время различных спортивных мероприятий [7]. Более 90% всех мышечных травм вызваны либо гипертрофированным ушибом, либо напряжением мышц [6, 8]. В профессиональном спорте некоторые из таких травм могут спровоцировать выраженный болевой синдром и потерю трудоспособности, тем самым, теряя время, отведенное для тренировок и соревнований. Напряжение мышц может быть следствием эксцентрического (плиометрического) упражнения, когда мышца сокращается под воздействием внешней нагрузки с увеличением длины [25]. Такие травмы особенно распространены в видах спорта, предусматривающих бег или прыжки [7].

Сведения об авторе

¹ UMR 8121 CNRS, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France

² MediaPark Clinic for Sports Medicine & Orthopaedics, Köln, Germany

³ Department of Physiology & Anatomy, German Sport University, Köln, Germany

⁴ Orthopaedics and Neurosurgery Clinic, Düsseldorf, Germany

Переписка

L. M. Mir · Laboratory of Vectorology and Gene Transfer, UMR 8121 CNRS – Institut Gustave Roussy · 39, rue Camille Desmoulins · 94805 Villejuif Cedex · France · Тел.: + 33(0)142 11 47 92 · Факс: + 33(0)142 11 52 45 · E-mail: luismir@igr.fr

Принят после внесения изменений: 29 июля 2004 г.

Список литературы

Int J Sports Med 2004; 25: 588–593 © Georg Thieme Verlag KG · Stuttgart · New York · DOI 10.1055/s-2004-821304 · Опубликовано в интернете 5 октября 2004 г. · ISSN 0172-4622

Несмотря на частоту встречаемости мышечных травм, лучший метод лечения растяжения мышц четко не определен. Непосредственное лечение известно как принцип RICE, который включает: отдых, лед, сжатие и возвышение [12]. Целью такого принципа неотложной (первой) помощи является сведение к минимуму образования большой гематомы, которая имеет потенциальное влияние на размер рубцовой ткани в конце восстановительного периода. Дальнейшая терапия зависит от тяжести травмы, но предлагаемые методы лечения в настоящее время включают НПВС (нестероидные противовоспалительные препараты), терапевтический ультразвук, гипербарический кислород и оперативное лечение в случае серьезных разрывов мышц с полной потерей функции (утратой работоспособности) [12]. Предполагается, что предел выносливости поврежденной мышцы должен составлять 90% от неповрежденной контрольной стороны, прежде чем возвращение к спортивным мероприятиям можно считать безопасным [4]. Магнитно-резонансная томография (МРТ) также продемонстрирована как адекватный метод для оценки восстановления после мышечной травмы (мышечного растяжения) [4,19].

Представлены доказательства того, что в процессе регенерации некоторые факторы роста, включая IGF-1, PDGF, FGF-2, HGF, NGF, и TGF- β 1, играют ключевую роль [1,11,14]. Полагают, что из этих трофических субстанций FGF-2, HGF и TGF- β 1 являются ключевыми регуляторами в хемотаксисе и активации мышечных сателлитных клеток [5,16,21,24]. Для FGF-2, в частности, одним из источников являются инфильтрирующие макрофаги в ходе воспалительной реакции [22] и другим источником являются сами [13] мышечные клетки-сателлиты. Доказано, что FGF-2 также ускоряет регенерацию в опытах на животных [14 - 16]. Таким образом, в заключение, FGF-2, по-видимому, играет важнейшую роль в регенерации мышц.

Ранее представленный метод физико-химической стимуляции аутологичной цельной крови при определенных условиях [17] был исследован для ряда факторов роста и цитокинов. Поскольку было установлено, что полученная аутологичная сыворотка (АКС) имеет высотные отметки в исследуемых факторах роста в процессе регенерации, мы решили провести предварительное испытание на профессиональных спортсменах с мышечными травмами (с растяжением мышц). Предварительные многообещающие результаты относительно благоприятного воздействия АКС лечения на регенерацию поврежденной мышцы в экспериментах на животных [23] воодушевили ученых испытать этот новый метод на пациентах.

Материалы и Методы

Аутологичная кондиционированная сыворотка (АКС)

Цельная кровь (50 мл) была взята внутривенно (без антикоагулянтов) у каждого пациента в 60-мл шприцы (Шприцы Perfusor, Vecton Dickinson, США). Шприцы содержали около 200 стеклянных шариков (для медицинского оборудования) каждый 2,5 мм диаметром и площадью поверхности 21 мм², подготовленных, как подробно описано у Мейера (Meijer) и соавт. [17]. Весь забор крови проводили в асептических условиях при температуре 37 ° С, 5% CO₂ (Kendo, Германия). Спустя 24 часа инкубации сыворотка была извлечена и центрифугирована (3500 оборотов в минуту, 10 минут, Megafuge, Kendro, Германия). До момента использования АКС хранили при температуре - 20 ° С. Контрольную сыворотку не инкубировали, но центрифугировали немедленно, как описано выше, и также хранили при температуре -20 ° С, до момента использования в тесте ELISA.

Испытания АКС с помощью иммуноферментного анализа ELISA

Уровни факторов роста и цитокинов в АКС измеряли с помощью иммуноферментного анализа ELISA в предварительном пилотном

исследовании с использованием крови 22 различных участников (пациентов), чтобы узнать эффективность процесса кондиционирования. Наборы ELISA приобретены у НИР систем (США) и Biosource (США) и использованы в соответствии с инструкциями изготовителя. Исследованные факторы роста: PDGF-AB, IGF-1, FGF, TGF- β , HGF, TNF-alpha, IL-7, IL-1Ra и IL-1 β .

Испытания сыворотки АКС (АКС) на безопасность

Наличие микробного заражения (бактерии, грибы и микоплазма) и серологические параметры (вирус иммунодефицита человека [ВИЧ] 1 и 2, вирус гепатита В [ВГВ], вирус гепатита С [ВГС] и сифилис) в сыворотке крови, полученной в шприцах, оценивали независимые аккредитованные экспертные клинические лаборатории.

Группы пациентов, получивших лечение

Проведено нерандомизированное, неслепое пилотное исследование. В течение многих лет стандартом в нашей практике для лечения растяжения мышц была местная инъекция Актовегина, депротенизированного диализата из бычьей крови, и Траумеля, гомеопатического противовоспалительного лекарственного средства с экстрактом арники, календулы, ромашки. Таким образом, в данном экспериментальном исследовании наша контрольная группа представляет собой ретроспективный анализ 11 пациентов, получивших лечение Актовегином / Траумелем [9,18].

На основе успешных доклинических результатов в экспериментах на животных [23], мы начали использовать АКС в лечении мышечных травм. Число пациентов в этой группе составило 18. Все пациенты, получавшие лечение с АКС, подписали форму информированного согласия. В таблице 1 представлены травмированные группы мышц, а также практикуемый вид спорта для всех пациентов-участников исследования.

Согласно классификации мышечных растяжений, представленных Jarvinen [12], у пациентов, включенных в контрольную группу и группу лечения, наблюдались разрывы мышечных волокон, определенные как «растяжения средней тяжести» (второй степени). Эти умеренно выраженные растяжения характеризуются мышечной травмой с обнаружением кровотечения на снимке МРТ и умеренной, но не полной потерей прочностных свойств.

Терапевтический режим и оценка восстановления

Растяжения мышц диагностировали с помощью МРТ-сканирования (Magnetom Symphony Quantum 1,5 Tesla, Siemens), последний пациент - спустя один день после травмы. Первоначальное лечение проводили в соответствии с принципом RICE. Для группы пациентов, получавших АКС, образцы крови брали у пациента сразу после установления диагноза посредством МРТ-сканирования и подготавливали, как продемонстрировано выше.

Таблица 1. Типы мышечных травм и их лечение

<i>Растянутая мышца</i>	<i>Пациенты, получавшие АКС</i>	<i>Контрольная группа пациентов, получавших Actovegin/Traumeel</i>
<i>ахиллово сухожилие</i>	6 (3 FB, 2 BB, 1 IH)	5 (4 FB, 1 IH)
<i>приводящая мышца (аддуктор)</i>	6 (2 FB, 1 BB, 3 IH)	4 (2 FB, 2 IH)
<i>подвздошно-поясничная мышца</i>	2 (FB)	1 (FB)
<i>ягодичная седалищная мышца</i>	1 (IH)	0
<i>косая мышца живота</i>	1 (IH)	0
<i>икроножная мышца</i>	1 (BB)	1 (FB)
<i>прямая мышца бедра</i>	1 (FB)	0

FB: футбол (соккер); BB: баскетбол; IH: хоккей на льду

Таблица 2. Время восстановления после умеренно выраженного (средней тяжести) растяжения мышц у профессиональных спортсменов

Растянутая мышца	Время восстановления (дни) у пациентов, получавших АКС	Время восстановления (дни) у пациентов контрольной группы, получавших Actovegin/Traumeel
ахиллово сухожилие	12, 14, 16, 17, 18, 21	16, 18, 23, 24, 28
приводящая мышца (аддуктор)	10, 15, 17, 18, 21, 23	19, 24, 25, 26
подвздошно-поясничная мышца	17, 21	24
ягодичная седалищная мышца	20	
косая мышца живота	8	
икроножная мышца	14	18
прямая мышца бедра	16	
среднее значение	16.6	22.3
стандартная погрешность	0.9	1.2

Инъекционное лечение началось спустя два дня после установления диагноза. В 2.5мл АКС был добавлен физиологический раствор 2,5 мл в шприце на 5 мл, чтобы иметь соответствующий объем для распределения в травмированной области. Бактериальный фильтр (Millex-MP, 0.22 µm Filter Unit, Millipore S.A., Molsheim, Франция) был помещен между шприцем и иглой. Другой шприц на 5 мл был заполнен местным анестетиком (Meaverin 0,5%). После того, как поврежденные мышцы были пальпированы и было диагностировано растяжение, местный анестетик вводили порциями по 1 мл путем размещения пяти игл (27G x 1 1/2 ") по всей травмированной области. Местный анестетик использовали, чтобы минимизировать тонус мышц, прилегающих к травмированному участку, и с тем, чтобы предотвратить сокращение мышечных волокон. Затем, используя эти же иглы, сыворотку вводили в порциях по 1мл. Лечение началось спустя два дня после постановки диагноза, а затем вводили каждый второй день. Среднее количество процедур на одного пациента составило 5,4.

В контрольной группе 3мл Актовегина смешивали с 2 мл Траумеля в шприце на 5 мл. Принципы применения были такими же, как в группе пациентов, получавших АКС, начиная лечение через два дня после установления диагноза и с периодичностью каждый второй день. Среднее число процедур с Актовегином / Траумелем составило 8,3.

В дополнение к инъекции пациенты обеих групп прошли ту же программу реабилитации с лимфодренажем, мягкой растяжкой и массажем. Упражнения были разрешены только в «безболезненном динамическом диапазоне». Кроме того, пациенты принимали орально противовоспалительные препараты на натуральной основе (таблетки "Phlogenzym" от MUCOS Pharma, их компоненты: Bromelain 90 мг, Trypsin 48 мг; Rutosid 3H₂O 100 мг).

Успех лечения оценивали по физической способности спортсмена принимать 100%-ное участие в соревнованиях в соответствующих (своих) видах спорта. Решение принималось в сочетании стандартного обследования физиотерапевтом и субъективным мнением каждого индивидуального спортсмена. Осмотр физиотерапевтом включал изокинетические тесты для подтверждения того, что дисбалансы мышечной силы скорректированы, и сила поврежденной конечности восстановлена, по меньшей мере, на 90% от количества непораженной мышцы. Чтобы визуализировать успех лечения, контрольное сканирование МРТ было назначено и реализовано между 14-м и 16-м днем после травмирования для пациентов обеих групп.

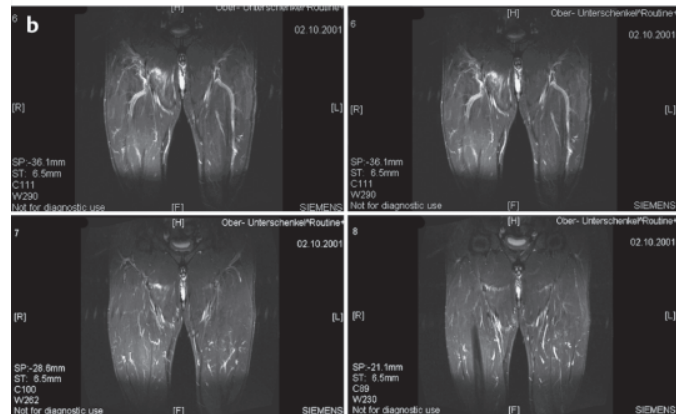
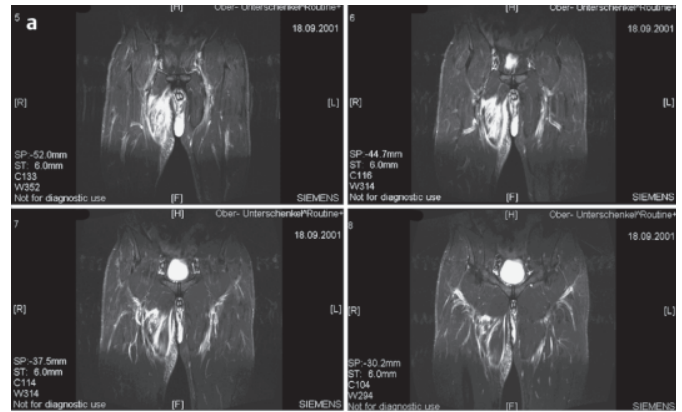


Рис.1. а и б Снимки МРТ пациента, получавшего лечение АКС.

а. При постановке диагноза у пациента наблюдалось растяжение приводящей мышцы с сильным отеком и кровоизлиянием в мышцы. б МРТ через 14 дней после курса лечения показала почти полную регрессию первоначальных диагностических данных и реституцию (полную регенерацию) мышечной ткани. Кроме того, мышечная функция у данного спортсмена восстановилась на 100%.

Статистический анализ

Все результаты, приведенные в настоящей статье, представляют собой средний коэффициент \pm SEM. Статистическая значимость различий определялась параметрическими t-критериями Стьюдента.

Результаты

Группа пациентов, получавших АКС

В этой группе мы пролечили 18 профессиональных спортсменов с растяжением мышц, как представлено выше. Таблица 2 показывает количество дней до полного выздоровления и возвращения к 100%-ному уровню работоспособности.

Среднее время восстановления составило 16,6 дней (\pm 0,9). Контрольное МРТ сканирование, проведенное спустя 14 - 16 дней после травмирования, показало почти полный регресс результатов, обнаруженных при первом сканировании: отек / кровотечение в мышцы; и полное восстановление мышечной структуры (рис.1). Не отмечены ни местные (аллергические реакции, воспаление), ни системные побочные эффекты, наблюдаемые во время лечения пациентов с АКС.

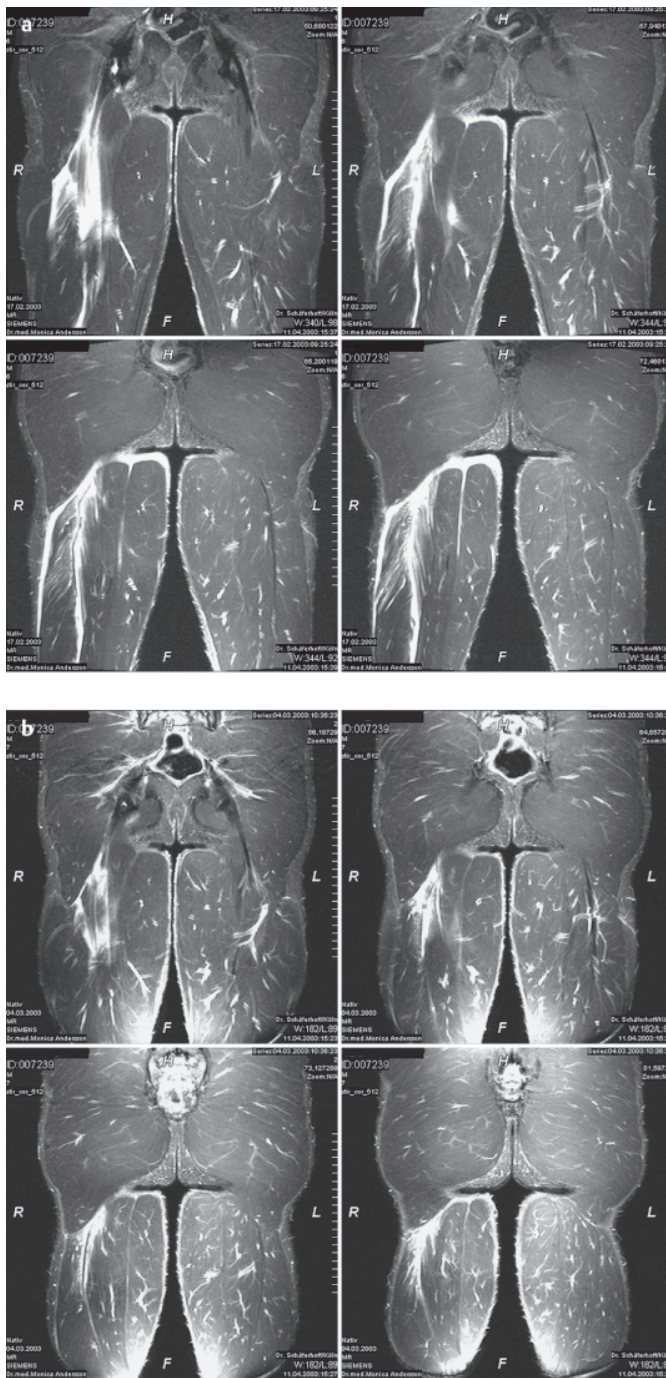


Рис. 2 а и б Снимки МРТ пациента, получавшего лечение Actovegin/Traumeel в контрольной группе.

а При постановке диагноза у пациента наблюдалось растяжение подколенного сухожилия с сильно выраженным отеком и кровоизлиянием в мышцы. б МРТ через 15 дней после лечения с Actovegin/Traumeel показал лишь умеренную регрессию первоначальных диагностических результатов. У спортсмена восстановилось только 70% мышечной функции.

Контрольная группа

В этой группе мы пролечили 11 профессиональных спортсменов с растяжением мышц, как представлено выше. Среднее время восстановления составило 22,3 дней ($\pm 1,2$) (таблица 2). Контрольные снимки МРТ спустя 14 - 16 дней после травмирования показали лишь умеренно выраженный регресс результатов при первом сканировании в отношении отеков /кровоизлияния в мышцу (рис.2). Ни местные (аллергические реакции, воспаление), ни систематические побочные эффекты не наблюдались у пациентов, получавших лечение Актовегин /Траумель.

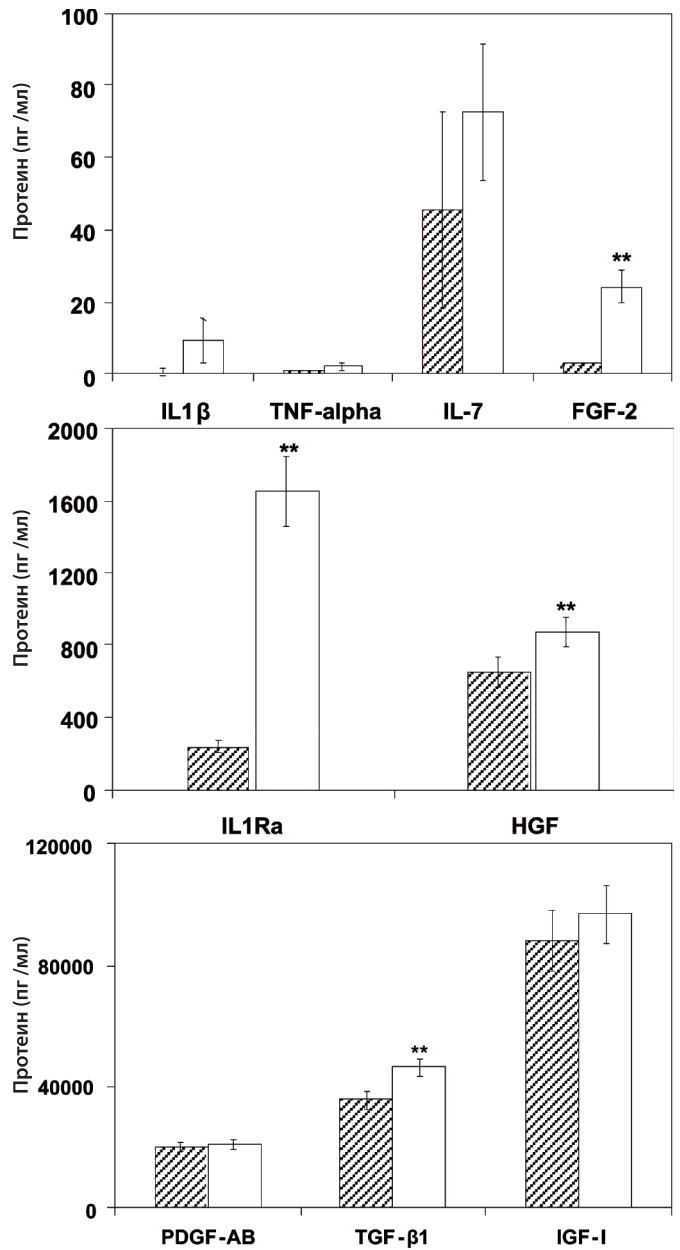


Рис. 3 Уровни факторов роста в кондиционированной сыворотке человека. Уровни (пг /мл) IL1-β, TNF-alpha, IL-7, FGF-2, IL-1Ra, HGF, PDGF-AB, TGF-β1 и IGF-1 в образцах сыворотки человека (n = 22), измеренные перед (закрашенные столбцы) и после (незакрашенные столбцы) 24-часовой инкубации в шприцах, содержащих шарики, представлены в виде среднего значения \pm SEM. ** P <0,001, * p <0,05.

Иммуноферментный анализ ELISA

Результаты ELISA-тестов (Рис.3), выполненных на АКС человека, показали увеличение концентрации FGF-2 (750%), IL-1Ra (600%), HGF (35%) и TGF-β (31%). IGF-1, PDGF, IL1β и IL7 концентрации были также немного увеличены, но не существенно. Никаких изменений в концентрации TNF-alpha не обнаружено.

Обсуждение

Данное предварительное исследование показывает, что функциональный срок восстановления после деформации мышечных волокон средней тяжести (растяжение второй степени) уменьшается при использовании АКС по сравнению с использованием терапии Актовегином /Траумелем. Основной задачей лечения этих травм стало сокращение времени восстановления и, соответственно, быстрое возвращение к нормальному уровню 100% работоспособности.

Несомненно, было бы желательно собрать данные о восстановлении мышечной функции, однако показания о прочностных свойствах в течение периода восстановления включали бы риск повторного травмирования. Поэтому мы полагались на субъективную оценку спортсменов о своей готовности возобновить спортивные мероприятия на конкурентоспособном уровне.

Снимки МРТ показали почти полный регресс отека и кровоизлияния, а также восстановление мышечной ткани у пациентов, получавших АКС, спустя 2 недели после травмы. С другой стороны, в контрольной группе наблюдался лишь слабо выраженный регресс отека/кровоизлияния на снимках МРТ в тот же период времени. Что касается возвращения к 100%-ному уровню работоспособности, пролеченная группа пациентов показала сокращение временного периода восстановления до 6 дней или 30%-ное преимущество по сравнению с контрольной группой ($16,6 \pm 0,9$ против $22,3 \pm 1,2$ дней). Тем не менее, следует отметить: несмотря на то, что контрольная МРТ (магнитно-резонансная томография) в период времени с 14 по 16 день показала отек/кровоизлияние, эти пациенты могут выполнять до 70 - 80% своего уровня работоспособности, который они демонстрировали до получения травмы. Тем не менее, полное восстановление конкурентоспособности в таких условиях может подразумевать риск повторного травмирования.

Клинические функциональные характеристики также подтверждаются данными анализа ELISA в отношении АКС и гистологическими результатами исследований, проведенных на мышцах, о которых мы уже сообщали [23]. Особый интерес представляет значительное увеличение в FGF-2 (750%, $p > 0,05$), TGF- β 1 (31%, $p > 0,05$), и HGF (35%, $p > 0,05$) концентраций, которые были обнаружены в кондиционированной сыворотке крови. IL-1Ra также был значительно увеличен (600%, $p > 0,05$), и, хотя этот цитокин не упоминается в литературе как представляющий интерес для регенерации мышц, мы могли бы предположить его вероятную роль в конкурентном ингибировании воспалительного цитокина IL-1 α , таким образом, в пользу миогенной дифференциации [10].

Подобные значительные увеличения концентрации FGF-2 и аналогичные, слабо выраженные увеличения концентрации TGF- β 1, также наблюдались на модели травмированной мышцы, пролеченной АКС [23]. Мы предполагаем, что такой рост концентрации представляет собой результат манипуляции крови со стеклянными шариками [17]. IGF и PDGF-AB, которые также играют определенную роль в регенерации мышц [11], не показали значительного увеличения концентрации. Аналогичные результаты получены и для цитокинов, IL- β , TNF-alpha и IL-7, для которых, однако, никакого особого влияния на процесс регенерации до сих пор не отмечено.

Таким образом, вследствие подробно представленных свойств FGF-2 в мышечной регенерации, в частности, в качестве хемоаттрактанта и митогена миосателлитогитов [2,20,24], важное увеличение концентрации FGF-2 (750%), наблюдаемой в АКС, может объяснить эффективность подобного местного инъекционного лечения.

В заключение, мы сообщаем, что аутологичная кондиционированная сыворотка способствует сокращению восстановительного периода после деформационной травмы (растяжения) в соответствии с результатами предварительного исследования группы профессиональных спортсменов. Эти результаты были подтверждены МРТ-сканированием. Кондиционированная сыворотка содержит повышенные уровни факторов роста, которые участвуют в регенерации, в основном, FGF-2, со слабовыраженным повышением HGF и TGF- β 1. Результаты подтверждены проведенными экспериментами на животных: на модели мышцы с поврежденной мышцей [23], которые продемонстрировали гистологически, что спустя 1 неделю после травмы АКС увеличивает диаметр центроядросодержащих регенерирующих клеток, что является признаком более быстрого восстановления.

Поэтому лечение деформационных травм (растяжений) с применением АКС, наряду с использованием адекватной посттравматической реабилитационной программы по укреплению мускулатуры, может стать перспективным способом возвращения спортсменов к полной активности и полной мышечной функциональности в течение более короткого периода времени, чем при использовании обычных методик лечения. Кроме того, этот метод является практически осуществимым, простым, и благодаря аутологичной характерной особенности не имеет побочных эффектов.

Выражение признательности (благодарственное слово):

Выражаем искреннюю признательность S. Drewlo и B. Dröschel за отличную техническую поддержку в тестах ELISA. T. Wright-Carpenter – получатель стипендии им. Марии Кюри, европейский научно-исследовательский грант (5^o PCRA, контракт QLGA-1999 - 50406).

Список литературы

- Allen RE, Boxhorn LK. Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor I, and fibroblast growth factor. *J Cell Physiol* 1989; 138: 311 – 315
- Allen RE, Dodson MV, Luiten LS. Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation by bovine pituitary fibroblast growth factor. *Exp Cell Res* 1984; 152: 154 – 160
- Allen RE, Sheehan SM, Taylor RG, Kendall TL, Rice GM. Hepatocyte growth factor activates quiescent skeletal muscle satellite cells in vitro. *J Cell Physiol* 1995; 165: 307 – 312
- Best TM. Soft-tissue injuries and muscle tears. *Clin Sports Med* 1997; 16: 419 – 434
- Bischoff R. Chemotaxis of skeletal muscle satellite cells. *Dev Dyn* 1997; 208: 505 – 515
- Canale ST, Cantler ED, Sisk TD, Freeman BL. A chronicle of injuries of an American intercollegiate football team 3rd. *Am J Sports Med* 1981; 9: 384 – 389
- Garrett WE, Jr. Muscle strain injuries. *Am J Sports Med* 1996; 24: S2 – 8
- Garrett WE, Jr. Muscle strain injuries: clinical and basic aspects. *Med Sci Sports Exerc* 1990; 22: 436 – 443
- Grunitz B, Krause W. On the application of Traumeel ointment in the orthopedic clinic. *Dt Med J* 1968; 19: 245 – 248
- Harrington MA, Daub R, Song A, Stasek J, Garcia JG. Interleukin 1 alpha mediated inhibition of myogenic terminal differentiation: increased sensitivity of Ha-ras transformed cultures. *Cell Growth Differ* 1992; 3: 241 – 248
- Husmann I, Soulet L, Gautron J, Martelly I, Barritault D. Growth factors in skeletal muscle regeneration. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996; 7: 249 – 258
- Jarvinen TA, Kaariainen M, Jarvinen M, Kalimo H. Muscle strain injuries. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 155 – 161
- Joseph-Silverstein J, Consigli SA, Lyser KM, Ver Pault C. Basic fibroblast growth factor in the chick embryo: immunolocalization to striated muscle cells and their precursors. *J Cell Biol* 1989; 108: 2459 – 2466
- Kasemkijwattana C, Menetrey J, Bosch P, Somogyi G, Moreland MS, Fu FH, Buranapanitkit B, Watkins SS, Huard J. Use of growth factors to improve muscle healing after strain injury. *Clin Orthop* 2000; (370): 272 – 285
- Kasemkijwattana C, Menetrey J, Somogyi G, Moreland MS, Fu FH, Buranapanitkit B, Watkins SC, Huard J. Development of approaches to improve the healing following muscle contusion. *Cell Transplant* 1998; 7: 585 – 598
- Lefaucheur JP, Sebillle A. Muscle regeneration following injury can be modified in vivo by immune neutralization of basic fibroblast growth factor, transforming growth factor beta 1 or insulin-like growth factor I. *J Neuroimmunol* 1995; 57: 85 – 91

- ¹⁷ Meijer H, Reinecke J, Becker C, Tholen G, Wehling P. The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physico-chemical induction. *Inflamm Res* 2003; 52: 404–407
- ¹⁸ Pfister A, Koller W. Treatment of fresh muscle injury. *Sportverletz Sportschaden* 1990; 4: 41–44
- ¹⁹ Pomeranz SJ, Heidt RS, Jr. MR imaging in the prognostication of hamstring injury. Work in progress. *Radiology* 1993; 189: 897–900
- ²⁰ Sheehan SM, Allen RE. Skeletal muscle satellite cell proliferation in response to members of the fibroblast growth factor family and hepatocyte growth factor. *J Cell Physiol* 1999; 181: 499–506
- ²¹ Sheehan SM, Tatsumi R, Temm-Grove CJ, Allen RE. HGF is an autocrine growth factor for skeletal muscle satellite cells in vitro. *Muscle Nerve* 2000; 23: 239–245
- ²² Tidball JG. Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27: 1022–1032
- ²³ Wright-Carpenter T, Opolon P, Appell HJ, Meijer H, Wehling P, Mir LM. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: animal experiments using a muscle contusion model. *Int J Sports Med* 2004; 25: 583–588
- ²⁴ Yablonka-Reuveni Z, Seger R, Rivera AJ. Fibroblast growth factor promotes recruitment of skeletal muscle satellite cells in young and old rats. *J Histochem Cytochem* 1999; 47: 23–42
- ²⁵ Zarins B, Ciullo JV. Acute muscle and tendon injuries in athletes. *Clin Sports Med* 1983; 2: 167–182