

## Učinki udarnih globinskih valov na tkiva in celice

### Effects of extracorporeal shock wave therapy on tissues and cells

Katarina Fon<sup>1</sup>, Alan Kacin<sup>1</sup>, Daša Weber<sup>1</sup>

#### IZVLEČEK

**Uvod:** Terapija z udarnimi globinskimi valovi velja v medicini in fizioterapij za učinkovito in varno, brez hujših stranskih učinkov. Delovanje udarnih globinskih valov ni le posledica neposrednega mehanskega draženja, temveč tudi različnih bioloških odgovorov na akustični dražljaj. Namen članka je s pomočjo pregleda literature predstaviti znanstvene dokaze o učinkih delovanja udarnih globinskih valov na celice in tkiva. **Metode:** Izbrana metoda dela je pregled literature, ki je bila iskana v Cochrane, ScienceDirect in PubMed junija 2017. **Rezultati:** Vključitvenim in izključitvenim merilom je ustrezalo osem znanstvenih člankov, ki so raziskovali vpliv udarnih globinskih valov na osteoblaste, matične celice, makrofage, kožno tkivo in tenocite. **Zaključek:** Učinki delovanja udarnih globinskih valov so posledica mehanotransdukcije, ki spremeni mehanski dražljaj v elektrokemične signale v celici, kar sproži različne reakcije v tarčnem tkivu. Pravilna izbira parametrov udarnih valov ima pozitivne učinke, nepravilno odmerjanje pa negativne posledice. Potrebne so nadaljnje raziskave *in vivo* pri zdravih ljudeh in ljudeh z okvarami gibalnega sistema, ki bi ovrednotile tudi dolgoročni učinek udarnih globinskih valov.

**Gljučne besede:** proliferacija, diferenciacija, osteoblasti, fibroblasti, tenociti, matične celice.

#### ABSTRACT

**Background:** Extracorporeal shock wave therapy is considered effective, safe, with little to no complications for treatment in medicine and physiotherapy. Its effect is not only an answer of the tissue to mechanical stimulus, but also a cascade of biological reactions of the cell through transduction. The purpose is finding scientific evidence of biochemical effects of extracorporeal shock waves. **Methods:** The chosen method is a literature review. The literature was searched in Cochrane, ScienceDirect and PubMed in June 2017. **Results:** Eight studies fit the inclusion and exclusion criteria and they researched the effect of extracorporeal shock waves on osteoblasts, stem cells, macrophages, skin tissue and tenocytes. **Conclusions:** The mechanism behind the effects of extracorporeal shock wave therapy is mechanotransduction, which transforms mechanical signal into an electrochemical signal in the target tissue. The correct dosage of shockwaves has positive outcomes, but the wrong choice of parameters can lead to negative outcomes. However, long term outcomes and *in vivo* effects on healthy and pathological tissues should be further investigated.

**Key words:** proliferation, differentiation, osteoblasts, fibroblasts, tenocytes, stem cells.

---

<sup>1</sup> Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana

**Korespondenca/Correspondence:** asist. dr. Daša Weber, dipl. fiziot., prof. šp. vzg.; e-pošta: [dasa.weber@zf.uni-lj.si](mailto:dasa.weber@zf.uni-lj.si)

Prispelo: 24.1.2018

Sprejeto: 23.2.2018

**UVOD**

Udarni globinski valovi se pojavijo pri velikih spremembah tlaka, kar povzroči valove kompresijskih in tenzijskih sil (1). V medicini je uporaba udarnih globinskih valov uveljavljena predvsem v urologiji, kjer se kot učinkovito zdravljenje ledvičnih kamnov uporablja od 80. let 20. stoletja (2). Več kot 20 let se uspešno uporabljajo tudi za obravnavo različnih mišično-skeletnih okvar in veljajo za učinkovito in varno neinvazivno terapijo (3). Natančen mehanizem delovanja udarnih globinskih valov ni popolnoma pojasnjen (3, 4), kljub temu pa se zaradi klinične učinkovitosti povečuje povpraševanje pacientov po tej obliki terapije (5). Poznamo fokusirane in radialne udarne globinske valove. Pri fokusiranih je točka najvišjega tlaka znotraj ciljnega tkiva, pri radialnih pa je točka najvišjega tlaka tik ob aplikatorju na koži (3). Hitre in velike spremembe tlaka v tkivu povzročijo kavitacijo v tekočinah in spremembe sil na prehodu med tkivi z različno impedanco (1, 6). Parametri za aplikacijo udarnih globinskih valov so gostota energijskega toka, izražena v  $\text{mJ}/\text{mm}^2$ , pri fokusiranih oziroma pritisk, izražen v barih, pri radialnih udarnih globinskih valovih, število impulzov in frekvenca ponovitev impulzov (Hz). Zaradi majhnega števila raziskav o učinkih udarnih globinskih valov *in vitro*, pri pregledu nismo posebej ločili raziskav s fokusiranimi in radialnimi valovi. Schmitz in sodelavci (3) so v sistematskem pregledu za najustreznejše odmerjanje pri mišično-skeletnih okvarah opredelili terapijo enkrat na teden z 2000 impulzi pri najvišji gostoti energijskega toka, ki jo pacient lahko prenese brez analgetika. Prepoznane klinične indikacije za terapije z udarnimi globinskimi valovi pri ljudeh so kronične tendinopatije (kalcinirajoča tendinopatija rame, teniški komolec, tendinopatija patelarnega ligamenta ali ahilove tetive, plantarni fasciitis, bolečinski sindrom velikega trohantra), patologije kosti (odloženo celjenje zloma, psevdartroze, stresni zlomi, avaskularna nekroza kosti, disekantni osteohondritis) in kože (odloženo celjenje rane, kožne razjede, opekline) (7). Kontraindikacije za uporabo udarnih globinskih valov so maligna rakava obolenja na področju aplikacije, fetus na področju aplikacije in motnje strjevanja krvi. Terapije ne izvajamo v predelu možganov, hrbtenjače, pljuč in rastne plošče dolgih kosti (7). Kot stranski učinki terapije z udarnimi

globinskimi valovi se lahko pojavijo lokalna rdečica, manjši hematomi, oteklina, bolečina med terapijo in takoj po njej, v nekaterih primerih pa tudi migrena in kratkotrajna izguba zavesti (4, 8). Avtorji navajajo, da sta glavna mehanizma delovanja udarnih globinskih valov hiperstimulacijska analgezija in mehanotransdukcija (sprememba mehanskega dražljaja v elektrokemične signale v celici), kar povzroči proliferacijo in diferenciacijo celic (5, 7). Predvideva se, da terapija z udarnimi globinskimi valovi zmanjša bolečino, pozitivno uravnava vnetni proces, povzroči angiogenezo in spodbudi aktivnost matičnih celic (10). Vse to izboljša regeneracijo in celjenje tkiva (10). Čeprav je terapija z udarnimi globinskimi valovi v zadnjih letih postala uveljavljena na različnih področjih medicine in fizioterapije, natančni učinki delovanja na proces regeneracije celic in tkiv še niso dokazani. Namen članka je s pomočjo pregleda literature predstaviti znanstvene dokaze o učinkih delovanja udarnih globinskih valov na celice in tkiva.

**METODE**

Izbrana metoda dela za članek je pregled literature. Literatura je bila iskana v podatkovnih zbirkah Cochrane, ScienceDirect in PubMed junija 2017. V pregled so bili vključeni članki v angleškem jeziku, v katerih so poročali o raziskavah, opravljenih na človeškem ali živalskem tkivu. Uporabljene so bile besedne zveze v angleščini (extracorporeal shock wave therapy OR ESWT OR shock wave therapy) AND (orthopedic OR mechanisms OR inflammation OR stem cells OR tendon). Članki so morali vsebovati rezultate raziskav, kjer so primerjali učinke udarnih globinskih valov s kontrolno skupino. Izključili smo članke, v katerih niso raziskovali fizioloških učinkov delovanja udarnih globinskih valov, in članke, objavljene pred letom 2007.

Članke smo analizirali glede na vrsto tkiva in uporabljene mere izida posamezne raziskave.

**REZULTATI**

Z izbranimi ključnimi besedami smo v podatkovni bazi Cochrane našli 21, v ScienceDirect 55 in v PubMed 119 člankov. S površinskim pregledom smo glede na naslov in dostopnost v nadaljnji pregled vključili 23 člankov, nato pa je

vključitvenim in izključitvenim merilom ustrezalo osem znanstvenih člankov. V treh člankih so poročali o vplivu udarnih globinskih valov na osteoblaste, matične celice in makrofage, v dveh člankih na kožno tkivo, v treh člankih pa so bili opisani učinki delovanja na tetive.

Hofmann in sodelavci (11) so raziskovali z udarnimi globinskimi valovi povezane spremembe proliferacije, diferenciacije in izražanja genov pri osteoblastih človeške gobaste kosti. Glede na gostoto energijskega toka so ugotovili povečane vrednosti alkalne fosfataze in povečanje celične proliferacije. 24 ur po terapiji se je pri 0,06 mJ/mm<sup>2</sup> proliferacija povečala za 68,7 odstotka, pri 0,5 mJ/mm<sup>2</sup> pa do 81,6 odstotka, rezultati so vztrajali do 96 ur po terapiji. Mineralizacija v vzorcu se je najbolj povečala v eksperimentalni skupini 24 ur po udarnih globinskih valovih pri jakostih 0,18 in 0,5 mJ/mm<sup>2</sup>. Tudi štiri tedne po terapiji je bila mineralizacija značilno večja v eksperimentalnih skupinah v primerjavi s kontrolno. V eksperimentalnih skupinah je bilo opaženo povečano izražanje genov za razvoj kosti, diferenciacijo osteoblastov, tvorjenje kolagena in druge proteine medceličnine (11).

Schuh in sodelavci (12) so ugotovili, da večkratna terapija z udarnimi globinskimi valovi pozitivno vpliva na matične celice in ohrani njihovo multipotentnost *in vitro*. Pri človeških in podganjih, iz maščobe pridobljenih matičnih celicah so v skupinah z več terapijami (od dva- do štirikrat) opazili povečanje mezenhimskih markerjev, ki so v primerjavi s kontrolno skupino in enkratno terapijo z udarnimi globinskimi valovi vztrajale do 21 dni po prvi terapiji. Raziskave niso pokazale večjih sprememb pri proliferaciji in aktivnosti mitohondrijev v primerjavi s kontrolno skupino. Tako v človeških kot v podganjih celicah so 20 dni po terapiji v maščobnem diferenciranem mediju opazili akumulacije lipidov, ki v kontrolni skupini niso bili prisotni. V osteogenskem diferenciranem mediju so v vzorcih našli sledi mineralizacije, ki so rasle s številom terapij, in povečano izražanje osteogenih markerjev v primerjavi s kontrolno skupino. Analizirali so tudi zmožnost diferenciacije v celice, podobne Schwannovim, pri čemer so opazili povišane vrednosti markerjev, značilnih za Schwannove

celice. V eksperimentalnih vzorcih je bila prisotna značilna morfologija Schwannovih celic.

Sukubo in sodelavci (13) so raziskovali učinke udarnih globinskih valov na človeške makrofage in ugotovili, da udarni globinski valovi različnih ravni energije niso povzročili aktivacije neaktiviranih makrofagov. Pri nizki gostoti energijskega toka so opazili inhibicijo izražanja genov za makrofage tipa M1 in povečano izražanje za makrofage M2 ter protivnetne citokine. Opazili so tudi povečano produkcijo protivnetnega citokina interleukin 10 (IL-10) in zmanjšano produkcijo vnetnega citokina interleukin 1b (IL-1b).

Yan in sodelavci (14) so pri kožnem presadku podgan v eksperimentalni skupini ugotovili izboljšanje perfuzije medialnega in distalnega dela. V eksperimentalni skupini so opazili vazodilatacijo že obstoječih žil na večjem predelu kot v kontrolni skupini, tvorba novih kapilar se je povečala tretji dan po terapiji in vztrajala tudi deset dni po terapiji. Produkcija dušikovega oksida (NO) in aktivnost endotelne sintaze dušikovega oksida (eNOS) je bila v eksperimentalni skupini občutno višja prvi, tretji in deseti dan po terapiji. Tretji dan so opazili tudi izrazito povečanje izražanja žilnega endotelijskega rastnega dejavnika (VEGF). Izražanje genov za VEGF je bilo največje deseti dan, za eNOS pa tretji dan po terapiji z udarnimi globinskimi valovi. Deseti dan po posegu je bila površina zdravega tkiva kožnega presadka eksperimentalne skupine 77,9 odstotka in 51,3 odstotka v kontrolni skupini.

Berta in sodelavci (15) so pri dermalnih fibroblastih *in vitro* eno uro po terapiji opazili zmanjšanje preživetja celic v povezavi s številom impulzov udarnih globinskih valov (najbolj pri 2000 impulzih). Pri gostoti energijskega toka 0,22 mJ/mm<sup>2</sup> so od šestega do devetega dneva ugotovili povečano rast celic v primerjavi s kontrolno skupino. Izražanje mRNA je bilo v eksperimentalni skupini povečano od šestega do devetega dneva za transformirajoči rastni dejavnik beta 1 (TGF-β1), za kolagen tipa I šesti dan in deveti dan za kolagen tipa III.

Vetrano in sodelavci (16) so pri človeških tenocitih *in vitro* ugotovili, da je terapija z udarnimi globinskimi valovi upočasnila dediferenciacijo

celic četrty in dvanajsti dan po terapiji v primerjavi s kontrolno skupino. Integriteta celične membrane je bila primerljiva s kontrolno skupino, proliferacija pa je bila večja v eksperimentalnih skupinah prvi, četrty, osmi in dvanajsti dan po terapiji. V eksperimentalni skupini so opazili povečano produkcijo kolagena (predvsem tipa I) od prvega do dvanajstega dneva po terapiji in povečan odstotek celic, ki opravljajo sekrecijo kolagena tipa I. 75 odstotkov celic je imelo fenotipsko značilno podolgovato obliko.

Chao in sodelavci (17) so odkrili povezavo med parametri udarnih globinskih valov ter integriteto celične membrane in proliferacijo pri tenocitih podgan. Udarni globinski valovi z nizko gostoto energijskega toka ( $0,36 \text{ mJ/mm}^2$ ) in manjšim številom impulzov (50 ali 100 impulzov) so imeli pozitiven stimulativen učinek na integriteto celične membrane in proliferacijo, pri terapiji z višjo gostoto energijskega toka ( $0,68 \text{ mJ/mm}^2$ ) in večjim številom impulzov (250 in 500 impulzov) pa so imeli značilno inhibitorni učinek. Štiriindvajset ur po terapiji so opazili povečano produkcijo NO pri 50 in 100 impulzih, 48 in 96 ur po terapiji pa povečano produkcijo TGF- $\beta$ 1. Sedmi dan po terapiji z udarnimi globinskimi valovi so opazili povečano sintezo kolagena. Pri  $0,36 \text{ mJ/mm}^2$  in 100 impulzih so ugotovili povečano izražanje genov za celični jedrni antigen (PCNA), kolagen tipa I, tipa III in rastnega faktorja TGF- $\beta$ 1.

Leone in sodelavci (18) so raziskovali *in vitro* učinke udarnih globinskih valov na celicah zdravih in patoloških človeških tetiv. Pri poškodovanih tetivah so ugotovili zmanjšanje izražanja markerjev Col I in Scx, ki je bilo pred terapijo v vzorcih poškodovanih tetiv povišano. Po terapiji z udarnimi globinskimi valovi se je značilno povečala proliferacija v eksperimentalnih skupinah (bolj v vzorcu poškodovanih kot zdravih tetiv). Značilni migracijski fenotip tenocitov so našli v eksperimentalnih skupinah (več v vzorcu poškodovanih kot zdravih tetiv), 24 ur po terapiji so ocenili migracijo celic, ki je bila večja v eksperimentalnih skupinah, še posebej v vzorcu poškodovanih tetiv. Tudi v kontrolni skupini je bila migracija celic poškodovanih tetiv večja od zdravih.

## RAZPRAVA

Iz pregledanih raziskav smo ugotovili, da je bilo dokazanih več učinkov udarnih globinskih valov na različna tkiva, in sicer povečana proliferacija in diferenciacija celic ter sinteza medceličnine. Terapija spodbuja sproščanje NO, rastnih faktorjev in vnetnih citokinov ter ohranja multipotentnost mezenhimskih matičnih celic.

Hofmann in sodelavci (11) so raziskovali vpliv udarnih globinskih valov na kosti in ugotovili, da udarni globinski valovi povečajo proliferacijo osteoblastov in vplivajo na izražanje proteinov medceličnine. Kostno tkivo sestavlja 70 odstotkov mineralov, ki zagotavljajo trdnost, in 30 odstotkov proteinov, ki zagotavljajo prožnost kosti. Velik del proteinov sestavlja kolagen tipa I, ki ga izločajo osteoblasti (19). Terapija z udarnimi globinskimi valovi poveča celično proliferacijo in diferenciacijo v kosteh (11, 20). Gerdesmeyer in sodelavci (21) so raziskovali spremembe kostne gostote petnice pri osebah s kroničnim trnom v peti. Dvanajst tednov po terapiji so opazili povečano kostno gostoto petnice v eksperimentalni skupini, kar potrjuje *in vitro* rezultate. Kostno gostoto so merili tudi na drugih delih telesa, vendar v primerjavi s kontrolno skupino ni bilo sprememb na drugih kosteh, kar nakazuje, da sistemski odgovor nima vloge pri povečanju kostne gostote. Ker mehanski impulz velja za najmočnejši dražljaj, ki spodbudi proliferacijo kosti, lahko udarne globinske valove razlagamo kot mehansko obremenitev z lokalnim fiziološkim učinkom. Opaženo je bilo tudi povečano izražanje temeljnih genov za diferenciacijo in funkcijo osteoblastov, kar lahko razloži njihovo povečano metabolno in proliferacijsko aktivnost po terapiji (11). Večja celična proliferacija je bila pri 500 impulzih ugotovljena v eksperimentalni skupini z najvišjo gostoto energijskega toka ( $0,5 \text{ mJ/mm}^2$ ), kar nakazuje povezavo med odmerjanjem in učinkovitostjo terapije (11). Odloženo celjenje zloma, psevdartroze, stresni zlomi in avaskularna nekroza kosti so najpogostejše patologije kostnega tkiva, pri katerih se uporablja terapija z udarnimi globinskimi valovi. Povečana proliferacija in izločanje medceličnine osteoblastov po terapiji pri pravilnem odmerjanju (11) in izboljšanje krvnega pretoka ter izločanje NO in VEGF, ki spodbujata vazodilatacijo in angiogenezo na področju aplikacije (14), utemeljujejo izbiro terapije za

zdravljenje naštetih patologij kostnega tkiva. To potrjuje tudi vpliv na mezenhimske matične celice, saj udarni globinski valovi povečajo možnost njihove diferenciacije v kostno ali maščobno tkivo (12). Izbiro oblike mehanoterapije za zdravljenje poškodb in bolezni kosti utemeljuje tudi učinek mehanskega dražljaja, ki pozitivno vpliva na proliferacijo osteoblastov.

Vpliv udarnih globinskih valov na matične celice so raziskovali Schuh in sodelavci (12). V matičnih celicah ljudi in podgan, pridobljenih iz maščobnega tkiva, so opazili povečano izražanje mezenhimskih markerjev. Ti omogočajo prepoznavanje matične celice in njeno diferenciacijo v celice različnih vrst. Mezenhimske matične celice se tako lahko diferencirajo v celice kosti, dermisa in vezivnega tkiva, zato so pomembne pri regeneraciji mišično-skeletnih obolenj (19, 22). Pri tem terapija ni pomembno vplivala na celično proliferacijo in integriteto celične membrane. Ta ugotovitev se sklada z diferenciacijo eksperimentalnih skupin v osteogenskem in adipogenskem mediju. Raabe in sodelavci (22) so pri matičnih celicah konj, pridobljenih iz maščobnega tkiva, po terapiji z udarnimi globinskimi valovi opazili povečanje proliferacije v primerjavi s kontrolno skupino in boljši potencial za diferenciacijo v maščobne, kostne in hrustančne celice, kar potrjuje ugotovitve raziskave Schuhove in sodelavcev (12). Te ugotovitve nakazujejo tudi uporabnost pri celičnem inženirstvu. Učinki udarnih globinskih valov, ki preprečujejo dediferenciacijo celic *in vitro*, ohranjajo izražanje mezenhimskih markerjev in multipotentnost matičnih celic ter nakazujejo na uporabnost terapije v regenerativni medicini in pri transplantacijah.

Sukubo in sodelavci (13) so raziskovali vpliv udarnih globinskih valov na klasične vnetne makrofage M1 in alternativne protivnetne makrofage M2. Ugotovili so, da terapija z nižjo gostoto energijskega toka ( $0,03 \text{ mJ/mm}^2$ ) inhibira genske markerje za M1 in spodbudi izražanje genskih markerjev za M2. Terapija sicer ni sprožila aktivacije že obstoječih makrofagov, je pa povečala koncentracijo protivnetnih citokinov. Vse to nakazuje, da udarni globinski valovi pozitivno vplivajo na protivnetni odziv tkiva, treba bi bilo

raziskati njihov učinek *in vivo* v akutni fazi poškodb ali bolezni.

Vpliv udarnih globinskih valov na kožo so raziskovali Yan in sodelavci (14). Pri kožnem presadku podgan v eksperimentalni skupini so ugotovili, da se je perfuzija povečala že od 2 do 8 ur po posegu, kar lahko zagotovi minimalno oskrbo tkiva s kisikom in hranili. Terapija spodbuja izražanje NO in VEGF. NO je biološki reagent, ki v telesu povzroči vazodilatacijo, inhibira delovanje trombocitov in zmanjša adhezije endotelija, deluje tudi kot antikoagulant. VEGF je protein, ki sodeluje pri angiogenezi, proliferaciji endotelnih celic in permeabilnosti ožilja (20). Povečano perfuzijo v zgodnji fazi povzroči vazodilatacija že obstoječih žil, kar je posledica povečanega izražanja vazodilatatorjev NO in VEGF. Pozitivno vplivata tudi na neovaskularizacijo, ki je bila opažena v pozni fazi, in sicer na večjem območju v eksperimentalni skupini, kjer je bilo večje število večjih žil in povečana gostota kapilar v histološkem preparatu. Oboje poveča perfuzijo tkiva v pozni fazi regeneracije (14). Berta in sodelavci (15) so raziskovali učinke udarnih globinskih valov na normalne fibroblaste dermisa. Proliferacija fibroblastov je prvi učinek v eksperimentalni skupini, poveča se tudi izražanje mRNA za TGF- $\beta$ 1. To je rastni faktor, ki nadzira proliferacijo, diferenciacijo in druge funkcije številnih celic (20). Po terapiji je bilo povečano tudi izražanje mRNA za kolagena tipa I in III (15). Pozitivni učinki so povezani s pravilnim odmerjanjem, saj je večje število impulzov povzročilo uničenje celic v vzorcu (15). Najmanjša integriteta celične membrane je bila pri 2000 impulzih, pri različnih gostotah energijskega toka ( $0,11$  ali  $0,22 \text{ mJ/mm}^2$ ) pa sprememb integritete celične membrane ni bilo (15). Uporaba udarnih globinskih valov za zdravljenje kožnega tkiva je novejši pristop, ki se uporablja predvsem za zdravljenje kroničnih ran in opeklin, za katere je pomembno najti neinvazivne terapije za pospešitev njihovega zdravljenja (2). S povečanim izražanjem NO in VEGF so udarni globinski valovi v zgodnji fazi regeneracije spodbudili vazodilatacijo že obstoječih žil in neovaskularizacijo v poznejši fazi, kar izboljša perfuzijo tkiva in poveča možnost preživetja prizadetega tkiva (14). Povzročijo tudi povečanje proliferacije in migracije dermalnih fibroblastov

ter povečanje izražanja mRNA za kolagen, ki je glavna komponenta medceličnine vezivnega tkiva (15). Aplikacija je enostavna, zapleti so redki, terapija je neinvazivna in brez uporabe anestezije, zato bi udarni globinski valovi lahko bili varna alternativa zdravljenja kožnega tkiva v klinični praksi (2). Protivnetni in antibakterijski učinek udarnih globinskih valov zmanjša tudi možnost za kronično vnetje ali okužbo, ki sta najpogostejša zapleta pri celjenju ran (2).

Tetive spadajo med vezivna tkiva, tenociti pa so vrsta fibroblastov, zato ugotovitve raziskave Berte in sodelavcev (15) nakazujejo tudi vpliv udarnih globinskih valov na tetive. Vetrano in sodelavci (16) so raziskovali *in vitro* odziv človeških tenocitov na udarne globinske valove. V kontrolni skupini je med raziskavo potekla dediferenciacija večine celic, v eksperimentalni skupini pa so celice ohranile značilni fenotip tenocitov tudi dvanajst dni po terapiji. Povečala se je tudi sinteza kolagena (predvsem tipa I) v primerjavi s kontrolno skupino. Povečana proliferacija v vzorcih se je opazila od štiri do dvanajst dni po terapiji, kar skupaj s povečano sintetsko dejavnostjo izboljša regeneracijo v tkivu (16). To potrjujejo ugotovitve Chaa in sodelavcev (17), ki so prav tako raziskovali učinke delovanja na zdrave tenocite. Terapija je pozitivno vplivala na proliferacijo tenocitov in sintezo kolagena pri optimalnem odmerjanju – 0,36 mJ/mm<sup>2</sup> in 100 impulzov. Višja gostota energijskega toka in večje število impulzov sta negativno vplivala na integritete celične membrane, kar nakazuje, da lahko nepravilno odmerjanje povzroči apoptozo oziroma celično smrt. Nižje gostote energijskega toka in manjše število impulzov niso imele učinka na celice. Povečana vrednost NO 24 ur po terapiji in TGF- $\beta$ 1 48 in 96 ur po terapiji lahko vodi k povečanemu izražanju genov za kolagen in povečani sintezi kolagena. Povečano izražanje mRNA za PCNA 6 in 24 ur po aplikaciji udarnih globinskih valov lahko razloži poznejšo povečano proliferacijo tenocitov. Leone in sodelavci (18) so v svoji raziskavi primerjali učinke udarnih globinskih valov na zdrave in patološke tetive. V zgodnji fazi terapija spodbudi proliferacijo in migracijo tenocitov, kar je bolj očitno v vzorcih patoloških kot zdravih tetiv. Kratkoročni pozitivni učinek na metabolne procese in strukturo tetiv so potrdili tudi Bosch in sodelavci (23) na vzorcih zdravih tetiv pri

konjih. Šest tednov po terapiji so opazili znižanje aktivnosti metabolizma tenocitov in koncentracije glukozaminoglikanov v primerjavi z nezdravljenimi udi, kar kaže na negativen dolgoročni učinek. Zmanjšanje koncentracij vnetnih citokinov dokazuje tudi protivnetni učinek. Potrebne so nadaljnje študije *in vivo*, saj učinkov udarnih globinskih valov *in vitro* ne moremo posplošiti na delovanje v živem organizmu. Določiti je treba tudi optimalne parametre, saj neprimerno odmerjanje negativno vpliva na integriteto celične membrane (5, 9). *In vitro* študije potrjujejo pozitiven učinek udarnih globinskih valov na tetive, saj se je v vzorcih povečala proliferacija tenocitov (16, 17, 18), migracija tenocitov (18), sinteza kolagena (15, 16, 17) in rastnega faktorja TGF- $\beta$ 1 in NO (15, 17). Vpliv terapije na vnetne citokine pozitivno vpliva na zmanjšanje otekline in deluje lokalno protivnetno, kar pripomore k regeneraciji (9).

## ZAKLJUČEK

Na podlagi pregledane literature lahko povzamemo, da so učinki delovanja udarnih globinskih valov posledica mehanotransdukcije, ki spremeni mehanski dražljaj v elektro-kemične signale v celici, kar sproži različne reakcije v tarčnem tkivu. Po terapiji se povečajo celična proliferacija, diferenciacija in sinteza medceličnine. Poveča se sproščanje protivnetnih citokinov, dejavnikov za vazodilatacijo in angiogenezo, spodbudi pa se tudi delovanje matičnih celic ter se ohrani njihova multipotentnost. Ugotovitve pregledanih raziskav kažejo na povezavo med odmerjanjem in učinkovitostjo udarnih globinskih valov, saj sta imela višja gostota energijskega toka in večje število impulzov pogosto negativen učinek na integriteto celične membrane.

Vse te ugotovitve kažejo, da so udarni globinski valovi primerni tudi za klinično prakso. Pozitivni vidiki uporabe terapije za zdravljenje mišično-skeletnih okvar so varnost, neinvazivnost terapije in dejstvo, da za aplikacijo ni potrebna uporaba anestezije. Negativen vidik je nepoznavanje učinkov delovanja *in vivo*, dolgoročnih učinkov na tarčno tkivo in optimalnih parametrov za odmerjanje. Ugotovitve nakazujejo na uporabnost terapije v regenerativni medicini, predvsem v tkivnem inženirstvu in različnih transplantacijah. V

fizioterapiji lahko uporabimo radialne udarne globinske valove za zdravljenje poškodb in okvar tetiv, pri zdravljenju zlomov in drugih patologij kosti, ob primernem odmerjanju je terapija primerna tudi za zdravljenje kroničnih ran. Za uporabo udarnih globinskih valov v klinični praksi so potrebne nadaljnje raziskave *in vivo* na zdravih ljudeh in pri ljudeh z mišično-skeletnimi okvarami, ki bi spremljale tudi dolgoročni učinek terapije. Za popoln pregled učinkov delovanja na gibalni sistem bi bilo treba opisati tudi učinke delovanja na mišično, hrustančno in živčno tkivo, vendar takih raziskav med pisanjem dela nismo našli. Raziskave o učinkovitosti udarnih globinskih valov imajo pogosto nasprotujoče si rezultate in pomanjkljive podatke o odmerjanju, zato je na tem področju potrebno nadaljnje kakovostno raziskovanje.

## LITERATURA

- Rompe JD (2002). Shock wave application in musculoskeletal disorders. Stuttgart: Thieme Verlag, 2–4.
- Mittermayr R, Antonic V, Hartinger J, et al. (2012). Extracorporeal shock wave therapy (ESWT) for wound healing: technology, mechanisms, and clinical efficacy. *Wound Repair Regen* 20 (4): 456–65.
- Schmitz C, Csaszar NBM, Milz S et al. (2015). Efficiency and safety of extracorporeal shock wave therapy for orthopedic conditions: a systematic review on studies listed in the PEDro database. *Br Med Bull* 116 (1): 115–38.
- Wang CJ (2012). Extracorporeal shockwave therapy in musculoskeletal disorders. *J Orthop Surg Res* 7: 11.
- Visco V, Vulpiani MC, Torrisi MR, Ferreti A, Pavan A, Vetrano M (2014). Experimental studies on the biological effects of extracorporeal shock wave therapy on tendon models. A review of the literature. *Muscles Ligaments Tendons J* 4 (3): 357–61.
- Zelle BA, Gollwitzer H, Zlowodzki M, Bühren V (2010). Extracorporeal shock wave therapy: current evidence. *J Orthop Trauma* 24: 66–70.
- International Society for Medical Shockwave Treatment (2016). Consensus on ESWT indications and contraindications. Naples. [www.shockwavetherapy.org/about-eswt/](http://www.shockwavetherapy.org/about-eswt/) <11. 7. 2017>.
- Haake M, Bölddeker I, Decker T et al. (2002). Side-effects of extracorporeal shock wave therapy (ESWT) in the treatment of tennis elbow. *Arch Orthop Trauma Surg* 122(4): 222–8.
- Notarnicola A, Moretti B (2012). The biological effects of extracorporeal shock wave therapy (eswt) on tendon tissue. *Muscles Ligaments Tendons J* 2 (1): 33–7.
- d'Agostino MC, Craig K, Tibalt E, Respizzi S (2015). Shock wave as biological therapeutic tool: from mechanical stimulation to recovery and healing, through mechanotransduction. *Int J Surg* 24: 147–53.
- Hofmann A, Ritz U, Hessmann MH, Alini M, Rommens PM, Rompe JD (2008). Extracorporeal shock wave-mediated changes in proliferation, differentiation, and gene expression of human osteoblasts. *J Trauma Acute Care Surg* 65 (6): 1402–10.
- Schuh CMAP, Heher P, Weihs AM, et al. (2014). In vitro extracorporeal shock wave treatment enhances stemness and preserves multipotency of rat and human adipose-derived stem cells. *Cytherapy* 16 (12): 1666–78.
- Sukubo NG, Tibalt E, Respizzi S, Locati M, d'Agostino MC (2015). Effect of shock waves on macrophages: a possible role in tissue regeneration and remodelling. *Int J Surg* 24: 124–30.
- Yan X, Zeng B, Chai Y, Luo C, Li X (2008). Improvement of blood flow, expression of nitric oxide, and vascular endothelial growth factor by low-energy shockwave therapy in random-pattern skin flap model. *Ann Plast Surg* 61 (6): 646–53.
- Berta L, Fazzari A, Ficco AM, Enrica PM, Catalano MG, Frairia R (2009). Extracorporeal shock waves enhance normal fibroblast proliferation in vitro and activate mRNA expression for TGF- $\beta$ 1 and for collagen types I and III. *Acta Orthop* 80 (5): 612–7.
- Vetrano M, d'Alessandro F, Torrisi MR, Ferretti A, Vulpiani MC, Visco V (2011). Extracorporeal shock wave therapy promotes cell proliferation and collagen synthesis of primary cultured human tenocytes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19 (12): 2159–68.
- Chao YH, Tsuang YH, Sun JS, et al. (2008). Effects of shock waves on tenocyte proliferation and extracellular matrix metabolism. *Ultrasound Med Biol* 34 (5): 841–52.
- Leone L, Vetrano M, Ranieri D, et al. (2012). Extracorporeal Shock Wave Treatment (ESWT) improves in vitro functional activities of ruptured human tendon-derived tenocytes. *PLoS One* 7 (11): 1–9.
- Lodish H, Berk A, Matsudaira P, et al., eds (2004). *Molecular cell biology*. 5th ed. New York: W.H. Freeman and Company, 48, 91, 218.
- Cammack R, Attwood TK, Campbell PN, Parish JH, Smith JL, Vella F, eds. (2006). *Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology*.

- 2nd ed. New York: Oxford University Press, 27, 399, 461, 695.
21. Gerdemeyer L, Schaden W, Besch L, et al. (2015). Osteogenetic effect of extracorporeal shock waves in human. *Int J Surg* 24: 115–9.
  22. Raabe O, Shell K, Goessl A, et al. (2013). Effect of extracorporeal shock wave on proliferation and differentiation of equine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Am J Stem Cells* 2 (1): 62.
  23. Bosch G, Lin YL, Schie HV, Lest CHA, Barneveld A, Weeren PV (2007). Effect of extracorporeal shock wave therapy on the biochemical composition and metabolic activity of tenocytes in normal tendinous structures in ponies. *Equine Vet J* 39 (3): 226–31.