

**UNIVERZA V LJUBLJANI  
ZDRAVSTVENA FAKULTETA  
FIZIOTERAPIJA, 1. STOPNJA**

**Katarina Fon**

**MEHANIZMI DELOVANJA UDARNIH GLOBINSKIH  
VALOV NA MIŠIČNO-SKELETNI SISTEM**

**Ljubljana, 2017**







UNIVERZA V LJUBLJANI  
ZDRAVSTVENA FAKULTETA  
FIZIOTERAPIJA, 1. STOPNJA

**Katarina Fon**

**MEHANIZMI DELOVANJA UDARNIH GLOBINSKIH  
VALOV NA MIŠIČNO-SKELETNI SISTEM**

pregled literature

**MECHANISMS OF EXTRACORPOREAL SHOCK  
WAVE THERAPY ON MUSCULOSKELETAL  
SYSTEM**

review of literature

**Mentor: doc. dr. Alan Kacin, dipl. fiziot.**

**Somentorica: asist. dr. Daša Weber, dipl. fiziot., prof. šp. vzg.**

**Recenzent: doc. dr. Miroljub Jakovljević, viš. fiziot., univ. dipl.  
org.**

**Ljubljana, 2017**



## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentorjem za vse nasvete in pomoč pri pisanju diplomskega dela. Hvala mojim domačim in fantu Janu za spodbudo pri pripravi zaključnega dela.





## IZVLEČEK

**Uvod:** Več kot dvajset let se udarni globinski valovi uspešno uporabljajo za obravnavo različnih mišično-skeletnih okvar. Terapija z udarnimi globinskimi valovi pri tendinopatijah in drugih obolenjih gibalnega sistema velja za učinkovito, varno, neinvazivno terapijo in je brez hujših stranskih učinkov. Delovanje udarnih globinskih valov ni samo posledica neposrednega mehanskega draženja, ampak tudi različnih bioloških odgovorov na akustični dražljaj. Natančni mehanizmi delovanja na proces regeneracije tkiv gibalnega sistema še niso znani. **Namen:** Namen diplomskega dela je s pomočjo pregleda literature predstaviti znanstvene dokaze o mehanizmih delovanja udarnih globinskih valov na celice in tkiva. **Metode dela:** Izbrana metoda dela za diplomsko delo je pregled literature. Literatura je bila iskana v podatkovnih zbirkah Cochrane, ScienceDirect, PubMed in Mednar, v obdobju od avgusta 2016 do junija 2017. **Rezultati:** Vključitvenim in izključitvenim kriterijem je ustrezalo osem znanstvenih člankov, ki so raziskovali vpliv udarnih globinskih valov na osteoblaste, matične celice, makrofage, kožno tkivo (kožni presadek in dermalne fibroblaste) in tenocite. V študijah so analizirali vpliv udarnih globinskih valov na proliferacijo in diferenciacijo celic, izražanje genov za sintezo medceličnine, sproščanje dušikovega oksida, rastnih faktorjev in vnetnih citokinov. **Razprava in sklep:** Mehanizmi delovanja udarnih globinskih valov so posledica mehanotransdukcije, ki spremeni mehanski dražljaj v biološke signale v celici, kar sproži različne reakcije v tarčnem tkivu. Pri osteoblastih se po terapiji povečajo njihova proliferacija, diferenciacija, sinteza medceličnine in posledično mineralizacija tarčnega predela. Pri regeneraciji kože terapija z udarnimi globinskimi valovi poveča izražanje vazodilatatorjev v zgodnji fazi in spodbuja angiogenezo v kasnejši fazi. Pri dermalnih fibroblastih spodbudi proliferacijo, diferenciacijo in poveča izražanje genov za tvorbo kolagena. Terapija z udarnimi valovi pri tenocitih spodbudi proliferacijo, diferenciacijo in migracijo, s povečano koncentracijo rastnih faktorjev pa izražanje genov za tvorbo kolagena. Udarni globinski valovi vplivajo tudi na protivnetni odziv tkiva in ohranjajo mezenhimske markerje matičnih celic. Pravilna izbira parametrov udarnih valov ima pozitivne učinke, nepravilno doziranje 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.

**Ključne besede:** udarni globinski valovi, proliferacija, diferenciacija, osteoblasti, fibroblasti, tenociti



## ABSTRACT

**Introduction:** Extracorporeal shockwave therapy has been successfully used for over 20 years to treat different orthopaedic conditions. This form of therapy is considered effective, safe, non-invasive, with little to no complications for treatment of tendinopathies and other conditions of the locomotor system. The effect of extracorporeal shock waves is not only an answer of the tissue to mechanical stimulus, but also a cascade of biological reactions of the cell through transduction of the shockwave signal into biological signals. Biomolecular mechanisms of the shockwave therapy are yet to be completely understood. **Purpose:** The purpose of this literature review is finding scientific evidence of biochemical mechanisms of extracorporeal shock waves on different tissues and types of cells. **Methods:** The method chosen for this thesis is a literature review. The literature was searched in Cochrane, ScienceDirect, PubMed and Mednar databases from August 2016 to 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 (skin flap, dermal fibroblasts) and tenocytes. They analysed proliferation, differentiation, expression of genes responsible for the synthesis of extracellular matrix, the concentration of nitric oxide, growth factors and inflammatory cytokines. **Discussion and conclusion:** The mechanism behind the effects of extracorporeal shock wave therapy is mechanotransduction, which transforms mechanical signal into a biological reaction in the target issue. After the shockwave therapy, there is an increase in proliferation, differentiation, matrix synthesis and consequently an increase in mineralization in osteoblasts. In skin regeneration, shockwaves increase the expression of vasodilatation factors in the early stages, and angiogenesis in late stages of regeneration. In dermal fibroblasts, it promotes proliferation, differentiation and expression of genes for the synthesis of collagen. In tenocytes, shockwave therapy improved proliferation, differentiation and collagen synthesis with increased levels of growth factors. Extracorporeal shockwaves also effect anti-inflammatory response and improve expression of mesenchymal markers of stem cells. 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* mechanisms on healthy and pathological tissues should be further investigated.

**Keywords:** extracorporeal shock waves, proliferation, differentiation, osteoblasts, fibroblasts, tenocytes



# KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
1.1	Teoretična izhodišča .....	1
1.2	Indikacije in kontraindikacije .....	3
1.3	Mehanizmi delovanja UGV .....	4
2	NAMEN .....	5
3	METODE DELA.....	6
4	REZULTATI .....	7
4.1	Mehanizmi delovanja UGV na osteoblaste.....	9
4.2	Mehanizmi delovanja UGV na matične celice .....	9
4.3	Mehanizmi delovanja UGV na makrofage .....	9
4.4	Mehanizmi delovanja UGV na kožo.....	10
4.5	Mehanizmi delovanja UGV na tetive .....	10
5	RAZPRAVA.....	12
5.1	Vpliv UGV na kosti .....	12
5.2	Vpliv UGV na matične celice .....	13
5.3	Vpliv UGV na makrofage.....	13
5.4	Vpliv UGV na kožo .....	14
5.5	Vpliv UGV na tetive .....	15
6	ZAKLJUČEK .....	19
7	LITERATURA IN DOKUMENTACIJSKI VIRI.....	20



## KAZALO SLIK

Slika 1: Prikaz točke najvišjega tlaka pri fokusiranih in radialnih udarnih valovih glede na položaj aplikatorja in tarčnega tkiva (prirejeno po Kiessling et al., 2015).....	2
Slika 2: Prikaz kompresijske in tenzijske komponente udarnega vala (prirejeno po Rompe, 2002).....	3





## KAZALO TABEL

Tabela 1: Metode dela v pregledanih raziskavah .....	7
--	---



## **SEZNAM UPORABLJENIH KRATIC IN OKRAJŠAV**

<b>eNOS</b>	Endotelna sintaza dušikovega oksida (Endothelial Nitric Oxide Synthase)
<b>FUGV</b>	Fokusni udarni globinski valovi
<b>IL-1b</b>	Interlevkin 1b
<b>IL-10</b>	Interlevkin 10
<b>NO</b>	Dušikov oksid (Nitric Oxide)
<b>PCNA</b>	Celični jedrni antigen (Proliferating Cell Nuclear Antigen)
<b>RUGV</b>	Radialni udarni globinski valovi
<b>TGF-β1</b>	Transformirajoči rastni dejavnik beta 1 (Transforming Growth Factor beta 1)
<b>UGV</b>	Udarni globinski valovi
<b>VEGF</b>	Žilni endotelijski rastni faktor (Vascular Endothelial Growth Factor)



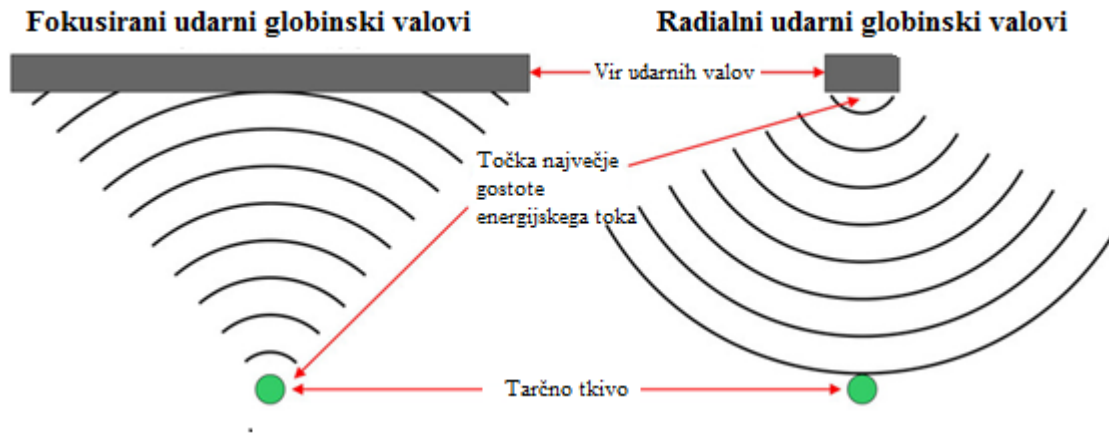
# 1 UVOD

Udarni globinski valovi (UGV) se pojavijo pri velikih spremembah tlaka, prvotno odkritih pri letalih z nadzvočno hitrostjo in nevihtnih strelah. Spremembe v tlaku povzročijo valove kompresijskih in tenzijskih sil, ki potujejo skozi medij, ki je lahko zrak, voda ali določene trdne snovi (Rompe, 2002). V medicini je uporaba UGV uveljavljena predvsem v urologiji, kjer se kot učinkovito zdravljenje ledvičnih kamnov uporablja od osemdesetih let 20. stoletja (Mittermayr et al., 2012).

Več kot dvajset let se UGV uspešno uporabljajo za obravnavo različnih mišično-skeletnih okvar. Terapija z UGV pri tendinopatijah in drugih obolenjih gibalnega sistema velja za učinkovito, varno, neinvazivno terapijo (Schmitz et al., 2015), zapletov pa je malo in so zanemarljivi. Natančen mehanizem delovanja UGV ni popolnoma pojasnjen (Schmitz et al., 2015; Wang, 2012), kljub temu pa se zaradi klinične učinkovitosti povečuje povpraševanje pacientov po tej obliki terapije (Visco et al., 2014).

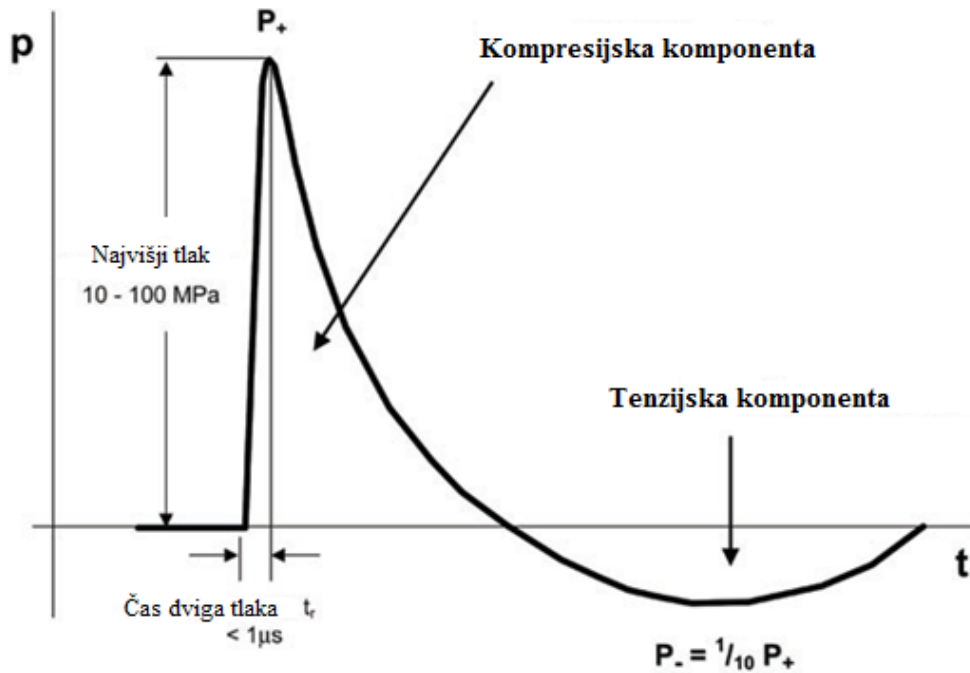
## 1.1 Teoretična izhodišča

Poznamo dve vrsti UGV, in sicer fokusirane udarne globinske valove (FUGV) in radialne udarne globinske valove (RUGV) (Slika 1). Pri FUGV se enkratni akustični pulz generira z elektrohidravličnim, elektromagnetnim ali piezoelektričnim principom. Reflektorji določene oblike nato usmerijo in spremenijo akustične pulze v fokusirane akustične udarne valove, ki imajo točko najvišjega tlaka znotraj ciljnega tkiva. RUGV delujejo na balističnem principu, ki pošlje projektil po cevi znotraj aparata do kovinskega aplikatorja na koži. Le-ta prenese udarne valove v tkivo, točka najvišjega tlaka je tik ob aplikatorju (Schmitz et al., 2015).



*Slika 1: Prikaz točke najvišjega tlaka pri fokusiranih (na sliki levo) in radialnih (na sliki desno) udarnih valovih glede na položaj aplikatorja in tarčnega tkiva (prirejeno po Kiessling et al., 2015)*

Za udarni val je značilno, da traja le nekaj milisekund in deluje s frekvenco 1–35 Hz. V 10 nanosekundah doseže veliko spremembo tlaka (iz vrednosti tlaka v okolju do 500 barov), sledi eksponentni padec tlaka do ničle in negativnih vrednosti (Slika 2). Hitre in velike spremembe tlaka v tkivu povzročijo kavitacijo v tekočinah in spremembe sil na prehodu med tkivi z različno impedanco (Zelle et al., 2010; Rompe, 2002).



Slika 2: Prikaz kompresijske in tenzijske komponente udarnega vala;  $p$  – oznaka za tlak ali pritisk,  $P_+$  – najvišja vrednost tlaka,  $P_-$  – najnižja vrednost tlaka,  $t$  – čas,  $t_r$  – čas dviga tlaka do najvišje vrednosti (prirejeno po Rompe, 2002)

Parametri za aplikacijo UGV so gostota energijskega toka (izražena v  $\text{mJ}/\text{mm}^2$ ) pri FUGV, oziroma pritisk (izražen v bar-ih) pri RUGV, število impulzov in frekvenca ponovitev impulzov (Hz), ki jih določi terapevt glede na pacientove indikacije. Parametri med seboj niso odvisni. Za natančen opis terapije je potrebno podati vse parametre, število terapij in interval med njimi. Schmitz in sodelavci (2015) so v sistematskem pregledu za najbolj optimalno doziranje terapije opredelili UGV enkrat tedensko z 2000 impulzi pri najvišji gostoti energijskega toka, ki jo pacient lahko prenese brez analgetika.

## 1.2 Indikacije in kontraindikacije

Standardne in z dokazi podprte indikacije za izbiro terapije z UGV 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, psevdootroze, stresni zlomi, avaskularna nekroza kosti, disekantni osteohondritis) in kože (odloženo celjenje rane, kožne razjede, opekline) (International Society for Medical Shockwave Treatment, 2016).

Kontraindikacije za uporabo UGV so maligna rakava obolenja na področju aplikacije, nosečnost, motnje strjevanja krvi. Terapije ne izvajamo v predelu možganov, hrbtenjače, pljuč in rastne plošče dolgih kosti (International Society for Medical Shockwave Treatment, 2016).

Kot stranski učinki terapije z UGV se lahko pojavijo lokalna rdečica, manjši hematomi, oteklina, bolečina med in takoj po terapiji, v nekaterih primerih pa tudi migrena in kratkotrajna izguba zavesti (Wang, 2012; Haake et al., 2002).

### **1.3 Mehanizmi delovanja UGV**

Avtorji navajajo, da sta glavna mehanizma delovanja UGV hiperstimulacijska analgezija in transdukcija mehanskega signala v biološkega (mehanotransdukcija), kar povzroči proliferacijo in diferenciacijo celic (Visco et al. 2014; Notarnicola, Moretti 2012). Delovanje UGV ni samo rezultat neposrednega mehanskega učinka, ampak je tudi posledica različnih bioloških odgovorov na akustični dražljaj prek mehanotransdukcije. Predvideva se, da UGV zmanjša bolečino, pozitivno uravnava vnetni proces, povzroči angiogenezo in spodbudi aktivnost matičnih celic. Vse to izboljša regeneracijo in celjenje tkiva (d'Agostino et al., 2015).

Čeprav je terapija z UGV v zadnjih letih postala uveljavljena na področju zdravljenja mišično-skeletnih okvar, natančni mehanizmi delovanja na proces regeneracije gibalnega sistema še niso znani oziroma dokazani.



## **2 NAMEN**

Namen diplomskega dela je s pomočjo pregleda literature predstaviti znanstvene dokaze o mehanizmih delovanja udarnih globinskih valov na celice in tkiva.

### 3 METODE DELA

Za izdelavo diplomskega dela je bila izbrana opisna oziroma deskriptivna metoda. Izbrana metoda dela za diplomsko delo je pregled literature.

Literatura je bila iskana v podatkovnih zbirkah Cochrane, ScienceDirect, PubMed in Mednar, v obdobju od avgusta 2016 do junija 2017. Uporabljene so bile besedne zveze v angleščini ("extracorporeal shock wave therapy" OR "ESWT" OR "shock wave therapy") AND ("orthoepadic" OR "mecanisms" OR "inflammation" OR "stem cells" OR "tendon") in v slovenščini "udarni globinski valovi" OR "udarni valovi".

Vključitveni kriteriji:

- članki v angleščini ali slovenščini, ki so v celoti prosto dostopni;
- raziskave, opravljene na človeškem ali živalskem tkivu;
- primerjava skupine terapije z UGV s kontrolno skupino;
- raziskave, objavljene po letu 2007.

Izključitveni kriteriji:

- članki, ki ne raziskujejo fizioloških mehanizmov delovanja UGV.

Članke smo analizirali glede na vrsto udarnih globinskih valov, vrsto tkiva in glede na uporabljene metode dela.

## 4 REZULTATI

Vključitvenim in izključitvenim kriterijem je ustrezalo osem znanstvenih člankov. Trije članki so raziskovali vpliv UGV na osteoblaste, matične celice in makrofage, dva članka na kožno tkivo (kožni presadek, dermalni fibroblasti), v treh člankih pa so bili opisani mehanizmi delovanja UGV na tetive.

Tabela 1: Metode dela v pregledanih raziskavah

Raziskava	Vrsta UGV	Vrsta celic/tkiva	Metode dela
Chao et al., 2008	FUGV‡	Podganji tenociti	Celice so bile izolirane iz tetiv podgan in razdeljene v kontrolno in eksperimentalno skupino. UGV†† so bili aplicirani z dvema različnima gostotama energijskega toka in štirimi različnimi števili impulzov. 24, 48 in 96 ur po aplikaciji UGV†† so analizirali viabilnost celic, aktivnost mitohondrijev tenocitov ter izražanje genov za kolagen, NO* in TGF-β1†.
Hofmann et al., 2008	/	Osteoblasti človeške gobaste kosti	Izoliralo se je osteoblaste 7 zdravih ljudi. 24 in 96 ur po tretmaju z UGV†† se je analiziralo celično proliferacijo, aktivnost alkalne fosfataze in mineralizacijo. Analiza izražanja genov je bila opravljena 96 ur po izpostavljenosti UGV††. Rezultate se je primerjalo s kontrolno skupino.
Yan et al., 2008	/	Model ishemičnega kožnega presadka podgane	Kožni presadek 42 podgan velikosti 3 krat 10 cm je bil operativno odstranjen in kirurško zašit nazaj na isto mesto, nato izpostavljen UGV††, enako število podgan je sestavljalo kontrolno skupino. Velikost zdrave kože, pretok krvi, razporeditev žil, gostota kapilar in izražanje NO* in VEGF** so bili ocenjeni 1., 3. in 10. dan po operaciji.
Berta et al., 2009	FUGV‡	Človeški dermalni fibroblasti	Človeški fibroblasti so prejeli terapijo z UGV†† s 3 različnimi števili impulzov in 2 različnima gostotama energijskega toka. Pri

			celicah kontrolne skupine in tretiranih celicah so 3., 6., 9. in 12. dan analizirali viabilnost, stopnjo rasti celic in izražanje mRNA za TGF- $\beta$ 1 $\dagger$ in kolagen tipa I in III.
Vetrano et al., 2011	FUGV $\ddagger$	Človeški tenociti zdravih tetiv	Z biopsijo pridobljene celice se je razdelilo v kontrolno skupino in skupino, izpostavljeno UGV $\dagger\dagger$ . Ocenjevalo se je celično viabilnost, morfologijo celic, proliferacijo in sintezo kolagena 1, 4, 8 in 12 dni po terapiji z UGV $\dagger\dagger$ .
Leone et al., 2012	FUGV $\ddagger$	Človeški tenociti zdravih in poškodovanih tetiv	Izoliralo se je celice zdravih in poškodovanih tetiv, ki se jih je pridobilo z biopsijo. Vzorce se je razdelilo v dve skupini: izpostavljene UGV $\dagger\dagger$ in kontrolno skupino. Izvedla se je analiza tradicionalnih markerjev tenocitov, markerjev za kolagen tipa I in III ter analiza proliferacije in migracije celic za 1. in 4. dan po UGV $\dagger\dagger$ .
Schuh et al., 2014	RUGV $\S$	Iz maščobnega tkiva pridobljene matične celice človeka in podgan	Z liposukcijo pridobljene podganje in človeške matične celice se je izoliralo in razdelilo v kontrolno skupino in skupino s terapijo UGV $\dagger\dagger$ . Celice so prejele terapijo z UGV $\dagger\dagger$ 1–4-krat. Analizirali so <i>in vitro</i> diferenciacijo v maščobne, osteogenske celice in celice, podobne Schwannovim, ter izražanje teh fenotipov. Ocenili so tudi celično proliferacijo in viabilnost. Celice so spremljali 36 dni.
Sukubo et al., 2015	RUGV $\S$	Človeški makrofagi	Monociti zdravih darovalcev so bile spremenjene v M1 makrofage (vnetne) in M2 makrofage (protivnetne). Celice so bile razdeljene v kontrolno skupino in skupino, ki je prejela terapijo z UGV $\dagger\dagger$ pri dveh različnih gostotah energijskega toka. Analizirali so izražanje genskih markerjev za aktivacijo makrofagov 4–24 ur po terapiji z UGV $\dagger\dagger$ .

\* – dušikov oksid (Nitric Oxide – NO), \*\* – žilni endotelijski rastni dejavnik (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF),  $\dagger$  – transformirajoči rastni dejavnik beta 1 (Transforming Growth Factor beta 1 – TGF- $\beta$ 1),  $\dagger\dagger$  – udarni globinski valovi,  $\ddagger$  – fokusirani udarni globinski valovi,  $\S$  – radialni udarni globinski valovi

## 4.1 Mehanizmi delovanja UGV na osteoblaste

Hofmann in sodelavci (2008) so raziskovali z UGV povezane spremembe proliferacije, diferenciacije in izražanja genov pri človeških osteoblastih. Glede na gostoto energijskega toka so ugotovili povečane vrednosti alkalne fosfataze in povečanje celične proliferacije. 24 ur po terapiji z UGV se je pri  $0,06 \text{ mJ/mm}^2$  proliferacija povečala za 68,7 %, pri  $0,5 \text{ mJ/mm}^2$  pa do 81,6 %, rezultati so vztrajali do 96 ur po UGV. Mineralizacija v vzorcu se je najbolj povečala v eksperimentalni skupini 24 ur po UGV pri jakostih 0,18 in  $0,5 \text{ mJ/mm}^2$ . Tudi 4 tedne po UGV je bila značilno večja v eksperimentalnih skupinah v primerjavi s kontrolno. V eksperimentalnih skupinah je bilo opaženo povečano izražanje genov za razvoj kosti in diferenciacijo osteoblastov. Povečano je bilo tudi izražanje genov za kolagen in proteine medceličnine. Med različnimi jakostmi UGV ni bilo opaziti razlik v izražanju genov.

## 4.2 Mehanizmi delovanja UGV na matične celice

Schuh in sodelavci (2014) so ugotovili, da večkratna terapija z UGV pozitivno vpliva na matične celice in ohrani njihovo multipotentnost *in vitro*. Pri človeških in podganjih celicah so v skupinah z več terapijami z UGV (2–4-krat) opazili povečanje mezenhimskih markerjev, ki so v primerjavi s kontrolno skupino in enkratno terapijo z UGV vztrajale do 21 dni po prvi terapiji. Raziskave niso pokazale večjih sprememb pri proliferaciji in aktivnosti mitohondrijev v primerjavi s kontrolno skupino. Zmožnost diferenciacije matičnih celic so testirali 20 dni po prvi terapiji z UGV. Tako v človeških kot v podganjih celicah so po terapiji z UGV v maščobnem diferenciranem mediju opazili akumulacije lipidov, ki v kontrolni skupini niso bili prisotni. V osteogenskem diferenciranem mediju so v vzorcih po terapiji z UGV našli sledi mineralizacije, ki so rasle s številom terapij. Prav tako so v vzorcih opazili povečano izražanje osteogenskih markerjev v primerjavi s kontrolno skupino. Analizirali so tudi zmožnost diferenciacije v celice, podobne Schwannovim, pri čemer so v primerjavi s kontrolno skupino opazili povišane vrednosti markerjev, značilnih za Schwannove celice. V eksperimentalnih vzorcih je bila prisotna značilna morfologija Schwannovih celic.

## 4.3 Mehanizmi delovanja UGV na makrofage

Sukubo in sodelavci (2015) so ugotovili, da UGV različnih nivojev energije niso povzročili aktivacije neaktiviranih makrofagov. Pri nizki gostoti energijskega toka UGV so opazili inhibicijo izražanja genov za makrofage tipa M1 in povečano izražanje za makrofage M2 in protivnetne citokine. Opazili so tudi povečano produkcijo protivnetnega citokina interleukin 10 (IL-10) in zmanjšano vnetnega citokina interleukin 1b (IL-1b).

#### **4.4 Mehanizmi delovanja UGV na kožo**

Yan in sodelavci (2008) so pri kožnem presadku podgan v eksperimentalni skupini ugotovili izboljšanje perfuzije medialnega in distalnega dela. Le-ta je bila slaba v medialnem delu in odsotna v distalnem delu presadka pri kontrolni skupini. V eksperimentalni skupini so opazili vazodilatacijo že obstoječih žil na večjem področju kot v kontrolni skupini. Tvorba novih kapilar se je povečala 3. dan po terapiji z UGV in vztrajala tudi 10 dni po UGV. Produkcija dušikovega oksida (Nitric Oxide – NO) in aktivnost endotelne sintaze dušikovega oksida (Endothelial Nitric Oxide Synthase – eNOS) je bila v eksperimentalni skupini občutno višja 1., 3. in 10. dan po UGV v primerjavi s kontrolno skupino. 3. dan so opazili tudi izrazito povečanje izražanja žilnega endotelijskega rastnega dejavnika (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF). Izražanje genov za VEGF je bilo največje 10. dan, za eNOS pa 3. dan po UGV. 10. dan po posegu je bila površina zdravega tkiva kožnega presadka eksperimentalne skupine 77,9 % in 51,3 % v kontrolni skupini.

Berta in sodelavci (2009) so pri dermalnih fibroblastih *in vitro* 1 uro po terapiji z UGV opazili zmanjšanje preživetja celic v povezavi s številom impulzov UGV (najbolj pri 2000 impulzih). Pri gostoti energijskega toka  $0,22 \text{ mJ/mm}^2$  so od 6. do 9. dneva ugotovili povečano rast celic v primerjavi s kontrolno skupino. Izražanje mRNA je bilo v eksperimentalni skupini povečano od 6. do 9. dneva za transformirajoči rastni dejavnik beta 1 (Transforming Growth Factor beta 1 – TGF- $\beta$ 1), za kolagen tipa I 6. dan in 9. dan za kolagen tipa III.

#### **4.5 Mehanizmi delovanja UGV na tetive**

Vetrano in sodelavci (2011) so pri človeških tenocitih *in vitro* ugotovili, da je terapija z UGV upočasnila dediferenciacijo celic 4. in 12. dan po terapiji v primerjavi s kontrolno skupino.

Celična viabilnost je bila primerljiva s kontrolno skupino, proliferacija pa je bila večja v eksperimentalnih skupinah 1., 4., 8. in 12. dan po terapiji. V eksperimentalni skupini so opazili povečano produkcijo kolagena (predvsem tipa I) od 1. do 12. dneva po UGV. Ugotovili so tudi, da se je v eksperimentalnih vzorcih povečal odstotek celic, ki opravljajo sekrecijo kolagena tipa I, 75 % celic je imelo fenotipsko značilno podolgovato obliko.

Chao in sodelavci (2008) so odkrili povezavo med parametri UGV ter celično viabilnostjo in proliferacijo pri tenocitih podgan. UGV z nizko gostoto energijskega toka ( $0,36 \text{ mJ/mm}^2$ ) in manjšim številom impulzov (50 ali 100 impulzov) je imel pozitiven stimulativen učinek na celično viabilnost in proliferacijo, UGV z višjo gostoto energijskega toka ( $0,68 \text{ mJ/mm}^2$ ) in večjim številom impulzov (250 in 500 impulzov) pa je imel značilno inhibitorni učinek. 24 ur po UGV so opazili povečano produkcijo NO pri 50 in 100 impulzih, 48 in 96 ur po UGV pa povečano produkcijo TGF- $\beta$ 1. 7. dan po terapiji z UGV so opazili povečano sintezo kolagena v eksperimentalni skupini. Pri  $0,36 \text{ mJ/mm}^2$  in 100 impulzih so ugotovili povečano izražanje genov za celični jedrni antigen (Proliferating Cell Nuclear Antigen – PCNA), kolagen tipa I, tipa III in rastnega faktorja TGF- $\beta$ 1.

Leone in sodelavci (2012) so raziskovali *in vitro* učinke UGV na celicah zdravih in patoloških človeških tetiv. Pri poškodovanih tetivah so ugotovili zmanjšanje izražanja markerjev Col I in Scx, ki je bilo pred terapijo z UGV v vzorcih poškodovanih tetiv povišano. Po terapiji z UGV se je značilno povečala proliferacija v eksperimentalnih skupinah (bolj v vzorcu poškodovanih kot zdravih tetiv) v primerjavi s kontrolno. Značilni migracijski fenotip tenocitov so našli v eksperimentalnih skupinah (več v vzorcu poškodovanih kot zdravih tetiv), 24 ur po terapiji z UGV 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.

## 5 RAZPRAVA

Iz pregledanih raziskav smo ugotovili, da je bilo dokazanih več učinkov UGV na različna tkiva, in sicer povečana proliferacija in diferenciacija celic ter sinteza medceličnine. UGV spodbudijo sproščanje dušikovega oksida, rastnih faktorjev in vnetnih citokinov ter ohranjajo multipotentnost mezenhimskih matičnih celic.

### 5.1 Vpliv UGV na kosti

Kostno tkivo sestavlja 70 % mineralov, ki zagotavljajo trdnost, in 30 % proteinov, ki zagotavljajo prožnost kosti. Velik del proteinov sestavlja kolagen tipa I, ki ga izločajo osteoblasti (Lodish et al., 2004). Hofmann in sodelavci (2008) so ugotovili, da UGV povečajo proliferacijo osteoblastov in vplivajo na izražanje proteinov medceličnine. UGV so pri človeških osteoblastih povzročili povečano aktivnost alkalne fosfataze in povečano koncentracijo mineralov v medceličnini. Alkalna fosfataza je vezana v plazmalemo osteoblastov in pomaga pri tvorbi medceličnine. Ti rezultati nakazujejo, da terapija z UGV poveča celično proliferacijo in diferenciacijo v kosteh (Hofmann et al., 2008; Cammack et al., 2006). Gerdesmeyer in sodelavci (2015) so raziskovali spremembe kostne gostote petnice pri osebah s kroničnim trnom v peti. Takoj po terapiji z UGV in 6 tednov po terapiji ni bilo razlike s kontrolno skupino, 12 tednov po terapiji pa 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 ostalih kosteh, kar nakazuje, da sistemski odgovor nima vloge pri povečanju kostne gostote. Ker mehanski impulz velja za najmočnejši dražljaj, ki spodbudi proliferacijo kosti, lahko UGV 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 z UGV. Večja celična proliferacija je bila pri 500 impulzih zabeležena v eksperimentalni skupini z najvišjo gostoto energijskega toka ( $0,5 \text{ mJ/mm}^2$ ), kar nakazuje povezavo med doziranjem in učinkovitostjo terapije (Hofmann et al., 2008).

Odloženo celjenje zloma, psevdootroze, stresni zlomi in avaskularna nekroza kosti so najpogostejše patologije kostnega tkiva, pri katerih se uporablja terapija z UGV. Povečana proliferacija in izločanje medceličnine osteoblastov po terapiji z UGV pri pravilnem



doziranju (Hofmann et al., 2008) in izboljšanje krvnega pretoka ter izločanje NO in VEGF, ki spodbujata vazodilatacijo in angiogenezo na področju aplikacije UGV (Yan et al., 2008), utemeljujejo izbiro UGV za zdravljenje naštetih patologij kostnega tkiva. To potrjuje tudi vpliv UGV na mezenhimske matične celice, saj poveča možnost diferenciacije le-teh v kostno ali maščobno tkivo (Schuh et al., 2014). Izbiro oblike mehanoterapije za zdravljenje poškodb in bolezni kosti utemeljuje tudi učinek samega mehanskega dražljaja, ki pozitivno vpliva na proliferacijo osteoblastov.

## **5.2 Vpliv UGV na matične celice**

Multipotentne matične celice se lahko diferencirajo v različne tipe celic, ki ustrezajo vrsti matične celice. Mezenhimske matične celice se tako lahko diferencirajo v celice kosti, dermisa in vezivnega tkiva, zato so ključne pri regeneraciji mišično-skeletnih obolenj (Raabe et al. 2013; Lodish et al., 2004). Po terapiji z UGV so Schuh in sodelavci (2014) v matičnih celicah ljudi in podgan, pridobljenih iz maščobnega tkiva, opazili povečano izražanje mezenhimskih markerjev. Le-ti omogočajo prepoznavanje matične celice in njeno diferenciacijo v celice različnih vrst. Pri tem pa UGV niso pomembno vplivali na celično proliferacijo in viabilnost. Opazili so tudi zmanjšanje nove sintetizirane DNA v primerjavi s kontrolno skupino (bolj izrazito pri človeških kot pri podganjih vzorcih), posledično je bila v vzorcu zmanjšana proliferacija, kar pozitivno vpliva na diferenciacijo celic. Ta ugotovitev se sklada z diferenciacijo eksperimentalnih skupin v osteogenskem in adipogenskem mediju. Raabe in sodelavci (2013) so pri matičnih celicah konj, pridobljenih iz maščobnega tkiva, po terapiji z UGV opazili povečanje proliferacije v primerjavi s kontrolno skupino in boljši potencial za diferenciacijo v maščobne, kostne in hrustančne celice, kar potrjuje ugotovitve študije Schuh in sodelavcev (2004). Te ugotovitve nakazujejo tudi na uporabnost UGV pri celičnem inženirstvu. Učinki UGV, ki preprečujejo dediferenciacijo celic *in vitro*, ohranjajo izražanje mezenhimskih markerjev in multipotentnost matičnih celic, nakazujejo na uporabnost UGV v regenerativni medicini in pri transplantacijah.

## **5.3 Vpliv UGV na makrofage**

UGV zmanjša vnetni odziv tkiva, tak protivnetni odziv pa omogoči boljše celjenje ran in regeneracijo drugih tkiv (Notarnicola, Biaglo, 2012; Mittermayr et al. 2012). Pomemben del

nespecifičnega vnetnega odziva so makrofagi. To so celice mononuklearnega fagocitoznega sistema, ki lahko fagocitirajo tujke v telesu in maščobne kapljice v krvi (Cammack et al., 2006). Na mestu vnetja ali poškodbe monociti migrirajo v tkivo, kjer poteče diferenciacija v makrofage. Receptorji na membrani makrofagov nase vežejo tujke, ki jih celica fagocitira (Lodish et al., 2004). Sukubo in sodelavci (2015) so v svoji študiji raziskovali vpliv UGV na klasične vnetne makrofage (v nadaljevanju M1) in alternativne protivnetne makrofage (v nadaljevanju M2). Ugotovili so, da UGV z nižjo gostoto energijskega toka ( $0,03 \text{ mJ/mm}^2$ ) inhibirajo genske markerje za M1 in spodbudijo izražanje genskih markerjev za M2. UGV niso sprožili aktivacije počivajočih makrofagov, povečala pa se je koncentracija protivnetnih citokinov. Vse to nakazuje, da UGV vplivajo na vnetni odziv tkiva, potrebno bi bilo raziskati njihov učinek *in vivo* v akutni fazi poškodb ali bolezni.

## 5.4 Vpliv UGV na kožo

Pri uporabi UGV za zdravljenje ran se nastavi drugačne parametre kot za mišično-skeletne okvare. Zdravljenje z UGV izzove fiziološke odgovore kožnega tkiva, ki spodbudijo celjenje tkiva in hitrejšo regeneracijo. Terapija spodbudi sproščanje rastnih faktorjev in citokinov, ki izboljšujejo perfuzijo tkiva in spodbudijo angiogenezo. Obe sta ključni za celjenje, UGV dodatno delujejo protivnetno in antibakterijsko, kar zmanjšuje možnosti za zaplete (Mittermayr et al., 2011). Yan in sodelavci (2008) so v svoji raziskavi pri kožnem presadku podgan ugotovili pozitivne učinke terapije z UGV. V eksperimentalni skupini se je perfuzija povečala že 2–8 ur po posegu, kar lahko zagotovi minimalno oskrbo tkiva s kisikom in hranili. UGV očitno spodbuja izražanje NO in VEGF, kar vpliva na regeneracijo v zgodnji in v pozni fazi. 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 (Cammack et al., 2006). Povečano perfuzijo v zgodnji fazi povzroči vazodilatacija že obstoječih žil, kar je posledica povečanega izražanja vazodilatatorjev NO in VEGF. Tkivo tako lahko preživi do formacije novih žil v kasnejši fazi regeneracije. NO in VEGF pozitivno vplivata tudi na neovaskularizacijo, ki je bila opažena v pozni fazi, in sicer na večjem območju v eksperimentalni skupini v primerjavi s kontrolno. Vidno je bilo večje število večjih žil in povečana gostota kapilar v histološkem preparatu. Oboje poveča perfuzijo tkiva v pozni fazi regeneracije (Yan et al., 2008). Berta in sodelavci (2009) so raziskovali učinke UGV na

normalne fibroblaste dermisa, ki proizvajajo največ snovi medceličnine. Proliferacija fibroblastov je prvi učinek UGV v eksperimentalni skupini, poveča se tudi izražanje mRNA za TGF- $\beta$ 1, kar nakazuje močan regenerativni odziv tkiva. TGF- $\beta$ 1 je rastni faktor, ki nadzira proliferacijo, diferenciacijo in druge funkcije številnih celic (Cammack et al., 2006). Po terapiji z UGV je bilo povečano tudi izražanje mRNA za kolagen tipa I in III (Berta et al., 2009). Kolagen je fibrilni protein, ki je najbolj zastopan v medceličnini v vezivnem tkivu (Lodish et al., 2004). Vse ugotovitve pa potrjujejo, da UGV izboljša proces celjenja. Pozitivni učinki so povezani s pravilnim doziranjem UGV, saj je večje število impulzov povzročilo uničenje celic v vzorcu (Berta et al., 2009). Najmanjša viabilnost celic je bila pri 2000 impulzih, pri različnih gostotah energijskega toka (0,11 ali 0,22 mJ/mm<sup>2</sup>) pa sprememb viabilnosti celic ni bilo (Berta et al., 2009).

Uporaba UGV za zdravljenje kožnega tkiva je novejši pristop, ki se uporablja predvsem za zdravljenje kroničnih ran in opeklin. Kronične rane zmanjšajo kakovost življenja pacientov, zato je ključno najti neinvazivne terapije za pospešitev njihovega zdravljenja (Mittermayr et al., 2012). S povečanim izražanjem NO in VEGF so UGV pri kožnem presadku podgane v zgodnji fazi regeneracije spodbudili vazodilatacijo že obstoječih žil in neovaskularizacijo v kasnejši fazi, kar izboljša perfuzijo tkiva in poveča možnost preživetja prizadetega tkiva (Yan et al., 2008). UGV povzroči tudi povečanje proliferacije in migracije dermalnih fibroblastov ter povečanje izražanja mRNA za kolagen, ki je glavna komponenta medceličnine vezivnega tkiva (Berta et al., 2009). Izražanje faktorjev, ki spodbujajo angiogenezo in povečajo perfuzijo tkiva, je nujno potrebno za kaskado reakcij v tkivu, ki so potrebne za celjenje ran. Aplikacija UGV je enostavna, zapleti so redki, terapija je neinvazivna in brez rabe anestezije, zato bi UGV lahko bili varna alternativa zdravljenja kožnega tkiva v klinični praksi (Mittermayr et al., 2012). Protivnetni in antibakterijski učinek UGV zmanjša tudi možnost za kronično vnetje ali okužbo, ki sta najpogostejša zapleta pri celjenju ran.

## **5.5 Vpliv UGV na tetive**

Tetive spadajo med vezivna tkiva, tenociti pa so vrsta fibroblastov, zato ugotovitve raziskave Berte in sodelavcev (2009) nakazujejo tudi vpliv UGV na tetive. Vetrano in sodelavci (2011) so raziskovali *in vitro* odziv človeških tenocitov na UGV. V kontrolni skupini je med raziskavo potekla dediferenciacija večine celic, v eksperimentalni skupini pa so celice

oхранile značilni fenotip tenocitov tudi 12 dni po aplikaciji UGV. Povečala se je tudi sinteza kolagena (predvsem tipa I) v primerjavi s kontrolno skupino, kar pozitivno vpliva na regeneracijo tetiv. V poškodovani tetivi se na mestu poškodbe v zgodnji fazi najde več kolagena tipa III, ki je tanjši kot kolagen tipa I, kar vodi v šibkost tkiva v začetni fazi regeneracije (Eriksen et al., 2002). Povečana proliferacija v vzorcih se je opazila 4–12 dni po terapiji z UGV, povečala pa se je tudi koncentracija markerjev za proliferacijo. Vse to kaže na povečano rast celic, kar skupaj s povečano sintetsko dejavnostjo izboljša regeneracijo v tkivu (Vetrano et al., 2011). To potrjujejo ugotovitve Chaa in sodelavcev (2008), ki so prav tako raziskovali mehanizme delovanja UGV na zdrave tenocite. Regeneracija tetive je kompleksen proces, ki vključuje vnetni odziv tkiva, proliferacijo tenocitov in izoblikovanje medceličnine. UGV so pozitivno vplivali na proliferacijo tenocitov in sintezo kolagena pri optimalnem doziranju – 0,36 mJ/mm<sup>2</sup> in 100 impulzov. Višja gostota energijskega toka in večje število impulzov sta negativno vplivala na viabilnost celic, kar nakazuje, da lahko nepravilno doziranje UGV povzroči apoptozo oziroma celično smrt. Nižje gostote energijskega toka in manjše število impulzov pa niso spremenile celične viabilnosti, pri le-teh so bili opaženi tudi pozitivni stimulatorni učinki na celice. Mehanizem delovanja UGV je verjetno transdukcija mehanske obremenitve v celične signale, ki koordinirajo spremembe v celici in medceličnini. Povečana vrednost NO 24 ur po aplikaciji UGV in TGF- $\beta$ 1 48 in 96 ur po UGV lahko vodi k povečanemu izražanju genov za kolagen in povečani sintezi kolagena. Povečano izražanje mRNA za PCNA 6 in 24 ur po aplikaciji UGV pa lahko razloži kasnejšo povečano proliferacijo tenocitov. PCNA je protein, ki sodeluje pri podvajanju DNA (Lodish et al., 2004). Leone in sodelavci (2012) so v svoji raziskavi primerjali učinke UGV na zdrave in patološke tetive v primerjavi s kontrolno skupino. Po aplikaciji UGV se je pri vzorcu patoloških tetiv znižal nivo markerjev za kolagen tipa I in markerja tenocitov Scx, kar nam nakazuje na zmanjšano možnost poškodovanih tetiv za diferenciacijo v zgodnji fazi. Omejena diferenciacija je možni vzrok za povečanje proliferacije in migracije na področje poškodbe po terapiji z UGV, kar so potrdili kasnejši testi. UGV v zgodnji fazi namreč spodbudi proliferacijo in migracijo tenocitov, kar je bolj očitno v vzorcih patoloških kot zdravih tetiv. Kratkoročni pozitivni učinek UGV na metabolne procese in strukturo tetiv so potrdili tudi Bosch in sodelavci (2007) na vzorcih zdravih tetiv pri konjih. 6 tednov po terapiji pa so opazili znižanje aktivnosti metabolizma tenocitov in koncentracije glukozaminoglikanov v primerjavi z nezdravljenimi udi, kar kaže na negativen dolgoročni učinek UGV. *In vitro* raziskave nakazujejo, da UGV pozitivno vpliva na proliferacijo in migracijo tenocitov, spodbuja neovaskularizacijo in sintezo

kolagena ter izražanje različnih genov, ki so ključni za regeneracijo. Ena teh snovi je NO, ki sodeluje v procesih neovaskularizacije in sinteze proteinov. Zmanjšanje koncentracij vnetnih citokinov dokazuje tudi protivnetni učinek UGV. Potrebne so nadaljnje študije *in vivo*, saj učinkov UGV *in vitro* ne moremo posplošiti na delovanje v živem organizmu. Določiti je potrebno tudi optimalne parametre, saj neprimerno doziranje negativno vpliva na celično viabilnost (Visco et al., 2014; Notarnicola, Moretti, 2012).

Pri tetivah so zaradi prevelikih obremenitev in poškodb pogoste tendinopatije, ki vključujejo lokalno vnetje, degeneracijo in šibkost tetive, kar lahko vodi do pretrganja le-te. Med regeneracijo tetiv je značilno povečano izražanje več rastnih faktorjev, med njimi tudi VEGF in TGF- $\beta$ 1 (Notarnicola, Moretti, 2012). Študije potrjujejo pozitiven učinek UGV na tetive, saj se je v vzorcih povečala proliferacija tenocitov (Leone et al., 2012; Vetrano et al., 2011; Chao et al., 2008), migracija tenocitov (Leone et al., 2012), sinteza kolagena (Vetrano et al., 2011; Berta et al., 2009; Chao et al., 2008), rastnega faktorja TGF- $\beta$ 1 in NO (Berta et al., 2009; Chao et al., 2008). Slednja imata pomembno vlogo tudi pri neovaskularizaciji, izboljšanje preskrbe poškodovane tetive s krvjo pa pri regeneraciji. Vpliv UGV na vnetne citokine pozitivno vpliva na zmanjšanje oteklina in deluje lokalno protivnetno, kar pripomore k regeneraciji (Notarnicola, Moretti, 2012). Schmitz in sodelavci (2015) so v sistematskem pregledu literature ugotovili, da je terapija z UGV za zdravljenje mišično-skeletnih obolenj (večina študij je obravnavala tendinopatije) varna in učinkovita. Histološka dezorganizacija kolagenskih vlaken 3 ure po terapiji z UGV, ki je vztrajala tudi 6 tednov po terapiji, kaže, da je v klinični praksi pacientom po zdravljenju tendinopatije z UGV priporočljivo omejiti aktivnost med regeneracijo (Bosch et al., 2009).

Glavne točke regeneracije tkiva so ustavitev vnetnega odziva, ki vodi v fibrozo, diferenciacija matičnih celic tarčnega tkiva in njihova migracija na mesto poškodbe ter tvorba medceličnine. Terapija z UGV ob primernem doziranju *in vitro* vpliva na vse naštetе točke, kar je razvidno iz prikazanih študij. *In vitro* študije so nujno potrebne za razumevanje osnovne reakcije celic in bioloških učinkov UGV na tkivo, ne moremo pa jih uporabiti za postavljanje kliničnih protokolov in kot vodilo pri postavljanju parametrov *in vivo* (d'Agostino et al., 2015). Zbranih rezultatov ne moremo posplošiti na delovanje UGV v človeškem telesu, kar je največja pomanjkljivost izbranih raziskav. Potrebne so nadaljnje študije, ki bodo raziskovale mehanizme delovanja UGV v zdravih in patoloških človeških

tkivih ter ugotovile pravilno doziranje, ki bo doseglo optimalni učinek zdravljenja pri različnih tkivih in diagnozah (Notarnicola, Moretti, 2012; Visco et al., 2014).

## 6 ZAKLJUČEK

Na podlagi pregledane literature lahko povzamemo, da so mehanizmi delovanja UGV posledica mehanotransdukcije, ki spremeni mehanski dražljaj v biološke signale v celici, kar sproži različne reakcije v tarčnem tkivu. Po terapiji z UGV 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 doziranjem in učinkovitostjo UGV, saj sta imela višja gostota energijskega toka in večje število impulzov pogosto negativni učinek na celično viabilnost.

Vse te ugotovitve kažejo, da so UGV primerni tudi za klinično prakso, saj spodbudijo zdravljenje različnih tkiv, vplivajo na vnetni odziv in mezenhimske matične celice. Pozitivni vidiki uporabe UGV za zdravljenje mišično-skeletnih okvar so varnost, neinvazivnost terapije in dejstvo, da za aplikacijo ni potrebna uporaba anestezije. Negativni vidiki so nepoznavanje mehanizmov delovanja UGV *in vivo*, nepoznavanje dolgoročnih učinkov na tarčno tkivo in optimalnih parametrov za doziranje UGV. Lastnost UGV, da zaustavi dediferenciacijo celic v *in vitro* okolju in ohranja multipotentnost matičnih celic v primerjavi s kontrolnimi skupinami, kaže na uporabnost terapije v regenerativni medicini, predvsem v tkivnem inženirstvu in različnih transplantacijah. V fizioterapiji pa lahko uporabimo UGV za zdravljenje poškodb in okvar tetiv, pri zdravljenju zlomov in drugih patologij kosti, ob primernem doziranju so UGV primerni tudi za zdravljenje kroničnih ran, ki jih pogosto srečamo pri sladkornih bolnikih in v geriatrici. V diplomskem delu smo povzeli ugotovitve raziskav, ki so ugotavljale mehanizme delovanja UGV *in vitro* in na živalskih modelih, ki kažejo obetavne rezultate za uporabo terapije v klinični praksi. Potrebne so nadaljnje raziskave *in vivo* na zdravih ljudeh in pri ljudeh z mišično-skeletnimi okvarami, ki bi spremljale tudi dolgoročni učinek UGV. Za popoln pregled mehanizmov delovanja UGV na gibalni sistem, bi bilo potrebno opisati tudi mehanizme delovanja UGV na mišično, hrustančno in živčno tkivo, vendar takšnih raziskav tekom pisanja dela nismo našli. Raziskave o učinkovitosti UGV imajo pogosto nasprotujoče si rezultate in pomanjkljive podatke o doziranju UGV, zato je na tem področju potrebno nadaljnje kakovostno raziskovanje.

## 7 LITERATURA IN DOKUMENTACIJSKI VIRI

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.

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.

Bosch G, Mos MD, Binsbergen RV, Schie HV, Lest CHA, Weeren PV (2009). The effect of focused extracorporeal shock wave therapy on collagen matrix and gene expression in normal tendons and ligaments. *Equine Vet J* 41(4): 335–41.

Cammack R, Attwood TK, Campbell PN, Parish JH, Smith JL, Vella F, eds. (2006). *Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Oxford University Press, 27, 399, 461, 695.

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.

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.

Eriksen HA, Pajala A, Leppilahti J, Risteli J (2002). Increased content of type III collagen at the rupture site of human Achilles tendon. *J Orthop Res* 20(6): 1352–7.

Haake M, Böddeker 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.

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.



International Society for Medical Shockwave Treatment (2016). Consensus on ESWT indications and contraindications. Naples.

Dostopno na: <https://www.shockwavetherapy.org/about-eswt/> <11. 7. 2017>.

Kiessling MC, Milz S, Frank HG, Korbel R, Schmitz C (2015). Radial extracorporeal shock wave treatment harms developing chicken embryos. *Sci Rep*, 5.

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, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky SJ, Darnell J, eds. (2004). *Molecular cell biology*. 5<sup>th</sup> eds. New York: W.H. Freeman and Company, 48, 91, 218.

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.

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.

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.

Reznik JE, Milanese S, Golledge J, Biros E, Gordon S, Galea MP (2013). Extracorporeal shock wave therapy as a treatment for heterotopic ossification. *Phys Ther Rev* 18 (4): 300–7.

Rompe JD (2002). *Shock wave application in musculoskeletal disorders*. Stuttgart: Thieme Verlag, 2–4.

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: 115–38.

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. *Cytotherapy* 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 remodeling. *Int J Surg* 24: 124–30.

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.

Visco V, Vulpiani MC, Torrisi MR, Ferretti 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.

Wang CJ (2012). Extracorporeal shockwave therapy in musculoskeletal disorders. *J Orthop Surg Res* 7: 1–11.

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.

Zelle BA, Gollwitzer H, Zlowodzki M, Bühren V (2010). Extracorporeal shock wave therapy: current evidence. *J Orthop Trauma* 24: 66–70.