



Ekstrakorporeal şok dalga tedavisinin tavşan kıkırdak uç plakları üzerindeki etkisi: Öncül bir MRG ve histopatolojik çalışma

Cemil ERTÜRK¹, Mehmet Akif ALTAY¹, İlyas ÖZARDAL², Nuray ALTAY³, Hasan ÇEÇE⁴, Uğur Erdem IŞIKAN¹

¹Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa;

²Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa;

³Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Şanlıurfa;

⁴Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

Amaç: Bu çalışmanın amacı manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve histopatolojik değerlendirme ile farklı enerji seviyelerinde uygulanan ekstrakorporeal şok dalga tedavisi (*extracorporeal shockwave therapy, ESWT*) ile bel bölgesindeki omurlar arası alanda oluşan değişimleri incelemektir.

Çalışma planı: Otuz adet, erkek Yeni Zelanda beyaz tavşanı rastgele beş gruba ayrıldı: Grup A ve C'ye 14 kV ve 1000 vuruşlu şok dalgası, Grup B ve D'ye ise 21 kV ve 1000 vuruşlu şok dalgası uygulandı. Grup E ise kontrol grubu olarak ayrıldı. ESWT uygulamasından bir gün sonra, MRG ile, ESWT'nin cilt altı ve paravertebral yumuşak dokularda yaralanma benzeri yan etkileri incelendi. Histopatolojik inceleme ile omurlar arası alanda yeni damar oluşumu, ödem ve fibroblast etkinliği araştırıldı.

Bulgular: MRG'de deneklerin hiçbirinde herhangi bir değişiklik saptanmadı. Histopatolojik olarak, Grup A ve C'de değişiklik gözlenmezken; Grup B ve D'de omurlar arası uç plaklarda anlamlı derecede yeni damar oluşumu, ödem ve fibroblast etkinliği saptandı ($p<0.05$).

Çıkarımlar: Bulgularımız ESWT'nin omurlar arası uç plaklarda doza bağımlı etkiler gösterdiğini desteklemektedir. Bu çalışma hayvan modelinde, omurlar arası alanda şok dalga tedavisinde bir öncül değerlendirmeden oluşmaktadır. Yüksek doz ESWT tavşan kıkırdak uç plaklarında anjiyogenezi uyandırabilir.

Anahtar sözcükler: Biyolojik etki; ekstrakorporeal şok dalgası; kıkırdak uç plak; omurlar arası disk; tavşan.

Omurlar arası alan, nükleus pulpozus, annulus fibrozus ve kıkırdak uç plaklar olmak üzere üç kısımdan oluşmuştur. Kıkırdak uç plaklar ise, omurlar arası disk ve omur cisimi arasında ince bir tabaka şeklinde hiyalin kıkırdak yapısındadır. Omurlar arası disk bedenin en geniş damarsız dokusudur.^[1,2] Kıkırdak uç plak boyunca uzanan damarsal kanallar ve küçük kan damarları nükleus pulpozusun beslenmesinde önemli görev üstlenirler.^[3-5] Kıkırdak uç plaklarda geçirgenlik azaldığında disklerde dejenerasyon süreci hızlanır.^[6,7] Kıkırdak uç plaklardaki kireçlenme ve omur kemiğindeki sertleşme uç plaklar boyunca besin maddelerinin geçişini azaltabilir.^[1,8] Diskteki dejenerasyonu önlemede, besin maddelerinin artışı artıran büyüme faktörü tedavisi gibi ye-

leus pulpozusun beslenmesinde önemli görev üstlenirler.^[3-5] Kıkırdak uç plaklarda geçirgenlik azaldığında disklerde dejenerasyon süreci hızlanır.^[6,7] Kıkırdak uç plaklardaki kireçlenme ve omur kemiğindeki sertleşme uç plaklar boyunca besin maddelerinin geçişini azaltabilir.^[1,8] Diskteki dejenerasyonu önlemede, besin maddelerinin artışı artıran büyüme faktörü tedavisi gibi ye-

Yazışma adresi: Dr. Cemil Ertürk, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Yenişehir, 63100 Şanlıurfa.

Tel: 0532 - 213 09 20 e-posta: erturkc@yahoo.com

Başvuru tarihi: 29.05.2012 **Kabul tarihi:** 17.08.2012

©2012 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu
www.aott.org.tr adresinde
doi:10.3944/AOTT.2012.2931
Karekod (Quick Response Code):



ni birtakım yöntemler geliştirilmiştir.^[9] Ayrıca, bazı çalışmalarda omurlar arası dejenerasyonun diskün damarlanmasında artış bildirilmektedir.^[10,11]

Uzun yıllardan beri, ekstrakorporeal şok dalga tedavisi (*extracorporeal shockwave therapy*, ESWT) sadece böbrek ve üriner sistemin taşlarının tedavisinde kullanılmıştır. Son yıllarda ise, ESWT'den, tendon hastalıkları ve uzun kemik kırıklarının kaynamaması gibi birçok kas iskelet sistemi hastalığında da yararlanılmaktadır.^[12-18] ESWT mekanizmasının damardan yoksun kemik ve fibröz dokuların yeniden yaralanması ile yeniden damarlanmanın başlaması şeklinde olduğu düşünülmektedir. ESWT'nin kas iskelet sisteminde kullanılması birincil üstünlüğü invaziv olmaması ve çok az komplikasyona rastlanmasıdır. Son zamanlarda, ESWT'nin dokularda mini travmalar oluşturarak yeni damarların oluşumuna neden olduğu kanıtlanmıştır.^[19] Bununla birlikte, şok dalgaları dokularda yan etkilere de neden olabilir;^[14] yakın tarihli bir çalışmada, böbrek taşlarını kırmak için kullanılan şok dalgalarının yaşamsal organlarda ve damarsal yapılarda yaralanmaya neden olduğu bildirilmiştir.^[20]

Kas iskelet sistemi hastalıklarında sık kullanılmasına karşın, ESWT'nin omurga kolonundaki kullanımı kısıtlıdır.^[21,22] Bildiğimiz kadarıyla, şok dalgalarının omurlar arası alanda uygulanmasını araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, ESWT sonrasında kırıkta uç plaklarda biyolojik değişimlerin olabileceğini varsaydık. Bunu denemek için de, ESWT'yi farklı enerji düzeyleriyle uyguladıktan sonra bel bölgesindeki omurlar arası alanı manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve histopatolojik inceleme ile değerlendirdik.

Gereç ve yöntem

Bu çalışmada, ortalama ağırlıkları 2.5 ila 3.0 kg arasında olan 30 adet 6 aylık erkek Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Çalışma Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun izni ve Laboratuvar Hayvanları Bakımı Değerlendirme ve Akreditasyon Kurumu'nun yönergeleri doğrultusunda uygulandı.

Denekler rastgele ve her grupta 6 adet tavşan bulunacak şekilde 5 gruba ayrıldılar (Tablo 1). Grup A 14 kV ve Grup B 21 kV gücünde 1000 şok dalgası vurusu aldı ve 10 gün sonunda sakrifiye edildi. Grup C 14 kV, Grup D ise 21 kV gücünde 1000 vurulu şok dalgası aldı ve 28 gün sonra sakrifiye edildi. Kontrol grubu (Grup E) ise hiç şok dalgası almadı ve 28 gün sonra sakrifiye edildi.

Şok dalgaları bir elektrohidrolik tip cihazdan (Multimed Ortho; Elmed Elektronik ve Medikal San ve Tic. A.Ş., Ankara, Türkiye) sağlandı. Şok dalga uygulamasından hemen sonra tavşanların sırtı ödem, şişlik ve ka-

nama bulgusu için kontrol edildi. ESWT sonrasında tavşanların hareketleri kısıtlanmadı ve kendi kafeslerine alınıp bir veteriner hekim tarafından bakımları yapıldı.

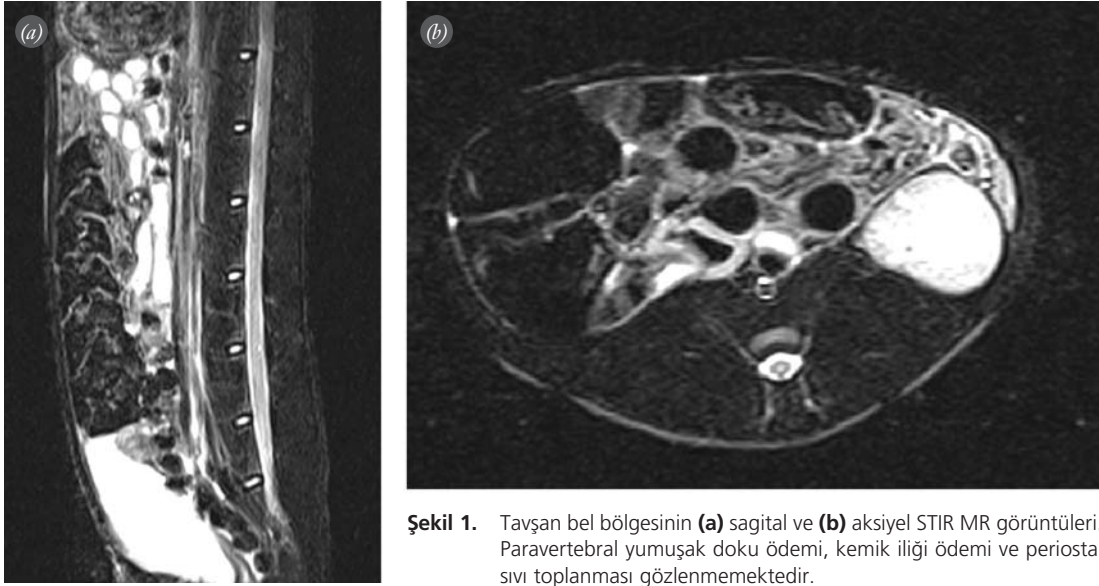
Her tavşan için ksilazin hidroklorid (5 mg/kg; Rompun® 23.32 mg/ml; Bayer Türk Kimya San., İstanbul, Türkiye) ve ketamin hidroklorid (50 mg/kg; Ketalar 50 mg/ml; Parke-Davis, Eczacıbaşı İlaç San., İstanbul, Türkiye) karışımının kas içerisine uygulanmasıyla anestezi sağlandı ve tavşanların sırt tüyleri tıraş edildi. Tavşanlar yüzüstü pozisyonda yatırılıp, bel bölgesi L4-L5 omur aralığına ESWT uygulandı. Şok dalgasının yönü C-kollu skopi cihazının yardımıyla odaklanıp bunların görüntüsü doğrulandı. Şok dalga tüpünün cilt ile temasında cerrahi kayganlaştırıcı jel kullanıldı. Çalışma grupları, L4-L5 omur aralığına iki taraflı olmak üzere (500 vuruluk sağa ve 500 vuruluk sola olmak üzere paravertebral yönde) ESWT ile tedavi edildiler. Tüm çalışma gruplarında, L4-L5 omur aralığına toplam 1000 vuruluk ve 14 ya da 21 kV gücünde tek doz ESWT uygulandı. Kontrol grubundakilerde ise aynı anestetik maddeler (50 mg/kg ketamin HCl ve 5 mg/kg ksilazin) kullanılarak, çalışma gruplarındaki gibi aynı zamanda skopi ile teması sağlandı ve şok dalgası verilmedi. ESWT dozunun ölçütü daha önceki çalışmalarda bildirilen güvenli ve etkin dozaja göre belirlendi.^[23,24] ESWT uygulamasından hemen sonra her tavşanın sırtı kızarıklık, şişlik ya da kanama yönünden kontrol edildi. Daha sonra, tavşanlar kendi kafeslerine götürüldüler.

Her bir tavşanın omurlar arası doku ve bel bölgesindeki yumuşak doku tepkisi 1.5T 16-kanallı sistem (MAGNETOM Symphony. A Tim System; Siemens, Erlangen, Almanya) cihazı kullanılarak değerlendirildi. MRG daha önce yapılan bir çalışmada olduğu gibi,^[14] ESWT uygulamasından 24 saat sonra gerçekleştirildi. A, B ve E grubundaki tavşanlara anestezi uygulandı ve yüzüstü yatırıldı. T1-ağırlıklı spin-ekoda (sagittal planda; *repeat time* (TR) 671 ms; *echo time* (TE) 11 ms; *rectangular field of view* (FOV) 320x320'lik matrisle 250 mm; kesit kalınlığı 3 mm) ve *short tau inversion recovery*

Tablo 1. Çalışma grupları (Her grupta 6 adet tavşan).

Grup	kV	MRG (ESWT sonrası gün)	Histopatolojik değerlendirme (ESWT sonrası gün)
A	14	1	10
B	21	1	10
C	14	-	28
D	21	-	28
E*	-	1	28

*Kontrol grubu. MRG: Manyetik rezonans görüntüleme, ESWT: Ektrakorporeal şok dalga tedavisi.



Şekil 1. Tavşan bel bölgesinin (a) sagittal ve (b) aksiyel STIR MR görüntüleri. Paravertebral yumuşak doku ödemi, kemik iliği ödemi ve periostal sıvı toplanması gözlenmemektedir.

(STIR; aksiyel ve sagittal planda; TR 3000 ms; TE 107 ms; inversiyon süresi 150 ms; *rectangular* FOV 320x320'lik matris ile 250 mm; kesit kalınlığı 3 mm) olarak saptandı. MR görüntüleri kas iskelet sistemi konusunda deneyimli iki radyolog tarafından çalışmaya kör bir yöntemle değerlendirildi. Bel bölgesinde yumuşak doku ödemi, kemik iliği ödemi, disk ve uç plak kanaması ya da ödem ile periostal sıvı toplanmasının varlığı ya da yokluğu kaydedildi.

ESWT uygulamasından sonra, Grup A ve B'deki tavşanlar 10 gün sonra, Grup C, D ve E'dekiler ise 28 gün sonra yüksek pentobarbital dozuyla sakrifiye edildiler. L4-L5 omurga dilimleri histopatolojik inceleme için hazırlandı. Tüm parçalar önce, kabaca, yüzeysel görünüm, renk, devamlılık ve yapısal bütünlük bakımından incelendi. Daha sonra, örnekler %10'luk formalin içinde 24 saat süreyle tespit edilip, %3'lük nitrik asit içinde dekalsifiye edildiler. Ardından parafine gömülen örnekler koronal düzlemde bıçakla kesildiler. Standart rotatör mikrotomla 4 µm kalınlığında hazırlanan dilimler hemotoksilen ve eozin boyası ile boyandı. Uç plak dokularındaki değişimi gösteren histopatolojik inceleme daha önce tanımlandığı çalışmalara göre yapıldı.^[23,25] Uç plaklarda hücresel değişim, matriksteki ödemden kaynaklanan miksoid değişim ile yeni damar oluşumunun varlığı gibi histopatolojik değişimler ışık mikroskopunda yarı niceliksel yöntemle değerlendirildi. Her değişken Evre 0, 1, 2 ya da 3 olarak derecelendirilip; sırasıyla, hiç değişikliğin olmaması, hafif değişim, orta derecede değişim ve ileri derecede değişime karşılık gelecek şekilde eşleştirildiler.

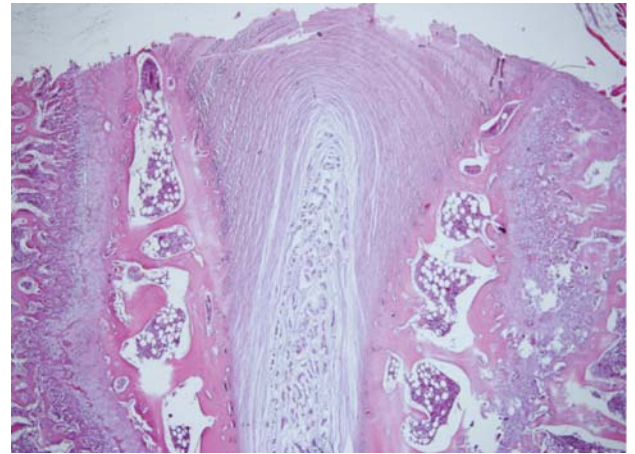
Tüm istatistiksel analizler SPSS for Windows v.16 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) yazılımı kullanılarak

yapıldı. Gruplar arasındaki histopatolojik yönden farklılık ki-kare testi ile kontrol edildi. P<0.05 değeri istatistiksel açıdan anlamlı sayıldı.

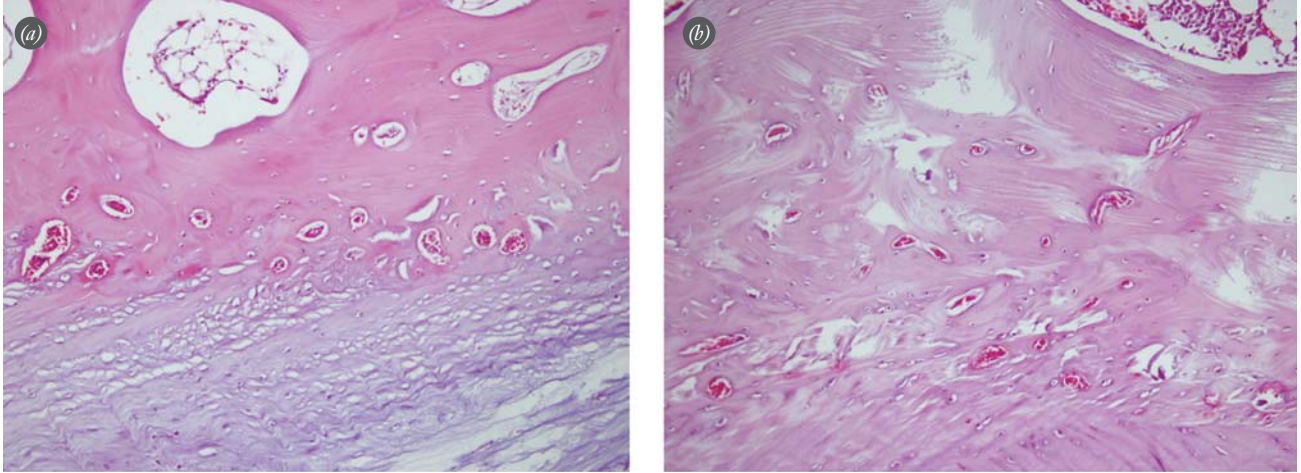
Bulgular

Çalışma süresince cihaza bağlı herhangi bir sorun oluşmadı ve tavşanlarda herhangi bir nörolojik kusur gelişmedi.

STIR MR görüntülerinde, Grup A, B ve E'deki tavşanlarda cilt altı ya da paravertebral yumuşak dokularda ödem, sıvı toplanması ya da kanamaya özgü bulgular izlenmedi. Çalışma grubundaki omurga yapısı kontrol grubundakilerle benzerdi (Şekil 1).



Şekil 2. Tavşan kontrol grubunun (ekstrakorporeal şok dalgası uygulanmayan) L4-L5 bel bölgesinin koronal kesit mikroskopik fotoğrafı. Omurlar arası disk ve kıkırdak uç plaklar normal görülmektedir (H-E x40). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]



Şekil 3. (a, b) Ekstrakorporeal şok dalgası uygulanan tavşanların L4-L5 bel bölgesinin koronal kesit mikroskopik fotoğrafları. Kıkırdak uç plaklarda yeni damar oluşumu izlenmektedir (H-E x200). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]

Her iki düşük doz grubu (Grup A ve C) ile kontrol grubu (Grup E) arasında uç plaklarda herhangi bir histolojik farklılık yoktu. Histopatolojik olarak, bulgular, kontrol grubunun normal uç plaklarına benzerdi (Şekil 2). Buna karşılık, kontrol grubu ile her iki yüksek doz grubundakiler (Grup B ve D) arasında omurlar arası uç plaklarda yeni damar oluşumu bakımından anlamlı farklılıklar bulunmaktaydı ($p<0.05$) (Şekil 3). Histopatolojik değişimler Grup B'de altı çalışmadan ikisinde bulunmakta iken, Grup D'de ise altı çalışmadan dördünde saptanmıştı. Yüksek doz grubunda ödem ve fibroblast etkinliği de vardı (Tablo 2). Ancak hiçbir grupta, nükleus pulpozus ya da annulus fibrozusta herhangi bir histolojik değişim görülmedi.

Tartışma

Bu in vivo çalışmada, tavşanların omurları arasında ESWT'nin biyolojik etkinliği araştırıldı. Histolojik olarak kıkırdak uç plaklarda fibroblast sayısında artış, matrikste ödem ve yeni kılcı damarlanmalar gözlemlendi. Artışlar, 21kV şok dalgası alan grup B ve D'de anlamlı iken kontrol grubundakiler ile 14kV tedavi alan gruplarda, muhtemelen düşük enerji dozundan dolayı, herhangi bir değişim saptanmadı.

Çalışmada kullanılacak standart ESWT dozunun belirlenmesinde başlangıçta bazı zorluklar yaşadık. Bazı çalışmalarda tendon ve kemikte uygulanacak ESWT dozu için değerler bildirilmişken,^[13,26-29] anatomik ve mekanik yapısı itibarıyla ciddi derecede farklılık gösteren omurlar arası bölge için kullanılacak standart doz ile ilgili herhangi bir yayın bulunmamaktadır. Bu nedenle, biz, Wang ve ark.'nın kullandığı 14 ve 24kV ESWT dozuna benzer dozu kullandık.^[23,24]

Çalışmamızda, nükleus pulpozus ve annulus fibrozus dokularının avasküler yapıda olmasından dolayı hiçbir histolojik değişim gözlemlememize karşın, kıkırdak uç plaklarda yeni kan damarlarının oluşumunu izledik. İnsan embriyosunda omurlar arası diskte annulus fibrozusun tabakaları boyunca damarsal kanallar bulunmaktadır. Doğumdan hemen sonra bu kanallar gözden kaybolur.^[1] Disk hücrelerinin aktivitesi kıkırdak uç plaklarındaki kan damarlarından besin geçişine bağlıdır.^[6] Dolayısıyla, kıkırdak uç plakta kıkırdağın hemen altındaki sertleşme ve kireçlenme nükleus pulpozusun dejenerasyonunu tetikleyebilir.^[1,8]

Tendonların ve omurgadaki uç plakların fonksiyonları birbirinden farklıdır. Tendonlar çoğunlukla gerilme güçleriyle, uç plaklar ise basınç güçleriyle karşılaşılır. Bununla birlikte, her ikisi de avasküler yapıda ve bağ dokusundan oluşmuştur. Bu nedenle, kıkırdak uç plaklardaki dejenerasyon, tendinozisteki patolojiye benzerdir. Tendinozisin etiyolojisi çok yönlü olup, de-

Tablo 2. Histopatolojik değişikliklerin evresi. Hayvanlar 21kV ekstrakorporeal şok dalga uygulamasından sonraki 10. günde (Grup B) ve 28. günde (Grup D) sakrifiye edildiler.

Olgu numarası	Ödem (evre)	Fibroblast etkinliği (evre)	Yeni damar oluşumu (evre)
Grup B			
21	1	1	2
24	1	1	1
Grup D			
8	0	2	2
9	1	1	1
10	0	2	2
11	0	2	2

neratif değişimler, yangısal süreçler, damar sayısında sayısal azalma ile birlikte metabolik bozukluklar, nöronal nedenler ve yeniden damarlanma kaynaklı olabilir.^[19] Yeniden damarlanma kanlanmayı geliştirebilir ve dokulardaki kan akımındaki artış, doku rejenerasyonu, osteogenez ve yerel büyüme faktörü salınımını içeren iyileşme süreçlerinde bir rol oynayabilir.^[19,25,30] Wang ve ark., ESWT'nin kemik iyileşmesindeki biyolojik etkisinin anjiyogenik ve osteojenik büyüme faktörlerinin yeniden düzenlenmesi yanında kemik içine doğru yeni damar oluşumu ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir.^[24] Ayrıca, bazı çalışmalarda, ESWT'nin osteoblastik hücrelerde osteojenik transkripsiyon faktörü ile osteogenezin basamaklarını uyardığı ve serum nitrik oksit ve osteojenik büyüme faktörlerini önemli derecede artırmasıyla kemik iyileşmesini kolaylaştırdığı bildirilmiştir.^[31-33] Şok dalga tedavisinin dokularda mikro travmalar oluşturarak, kan damarlarının oluşması ve etkilediği bölgede beslenmenin artışına neden olması sonucu iyileşmeyi artırdığı da rapor edilen sonuçlar arasındadır. Böylece, ESWT az damarlı dokularda yeni kan damarları oluşumuna neden olarak onarım sürecini kolaylaştırabilir. Disk dejenerasyonunun tedavisi uç plaklarda damarlanmadaki bu artış ile sağlanabilir. ESWT ile tersi duruma getirilebilen Modic değişiklikleri gelecekteki disk dejenerasyonlu hayvan modelindeki bir çalışmada saptanabilir. Maier ve ark., ESWT'den bir gün sonra MRG ile tavşanların femur alt ucunda yumuşak dokularda ödem, periost çevresinde sıvı ve kemik iliği ödemi bulmuşlardır.^[14] Buna karşın, çalışmamızda hiçbir grupta patoloji saptamadık. Bunun nedeni, diz ile bel bölgesinin farklı anatomik yapıda olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca, çalışmamızda hiçbir nörolojik kusur da izlenmemiştir. Nörolojik yan etki görmememizin nedeni ESWT uygulama yönünün paravertebral yönden olmasıyla ilişkili olabilir. Düşük enerjili ESWT'nin doğrudan interspi-nöz aralıktan nöral kanala sırt taraftan uygulanmasıyla da fare omuriliğinde herhangi bir nörolojik yan etkiye rastlanmamıştır.^[34]

Bu çalışmanın zayıf yönü, teknik olanaksızlıklar nedeniyle immünohistokimyasal çalışmaları gerçekleştirilememiş olmamızdır. Bu nedenle, çalışmamız, yeni damarlanmalar yönünden diğer boyamalarla doğrulanmamıştır.

Sonuç olarak, çalışmamızda ESWT'nin kıkırdak uç plaklarda yeni kan damarları oluşumunu kolaylaştırabileceği ve omurlar arası alanda etkili olduğu görüldü. Çalışmamızı doğrulamak için farklı hayvan modellerinde, uç plaklardaki damarlanmada ESWT'nin rolünü değerlendirmek için mikroanjiyografi ve immünohistokimyasalların kullanıldığı gelecek çalışmalara gereksinim vardır.

Teşekkür

Bu proje Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Çıkar Örtüşmesi: Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

1. Roberts S, Evans H, Trivedi J, Menage J. Histology and pathology of the human intervertebral disc. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 Suppl 2:10-4.
2. Rodriguez AG, Rodriguez-Soto AE, Burghardt AJ, Berven S, Majumdar S, Lotz JC. Morphology of the human vertebral endplate. *J Orthop Res* 2012;30:280-7.
3. Oki S, Matsuda Y, Itoh T, Shibata T, Okumura H, Desaki J. Scanning electron microscopic observations of the vascular structure of vertebral end-plates in rabbits. *J Orthop Res* 1994; 12:447-9.
4. Van der Werf M, Lezuo P, Maissen O, van Donkelaar CC, Ito K. Inhibition of vertebral endplate perfusion results in decreased intervertebral disc intranuclear diffusive transport. *J Anat* 2007;211:769-74.
5. Kobayashi S, Baba H, Takeno K, Miyazaki T, Uchida K, Kokubo Y, et al. Fine structure of cartilage canal and vascular buds in the rabbit vertebral endplate. Laboratory investigation. *J Neurosurg Spine* 2008;9:96-103.
6. Urban JP, Smith S, Fairbank JC. Nutrition of the intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004;29:2700-9.
7. Moore RJ. The vertebral end-plate: what do we know? *Eur Spine J* 2000;9:92-6.
8. Roberts S, Menage J, Eisenstein SM. The cartilage end-plate and intervertebral disc in scoliosis: calcification and other sequelae. *J Orthop Res* 1993;11:747-57.
9. Masuda K, An HS. Prevention of disc degeneration with growth factors. *Eur Spine J* 2006;15 Suppl 3:S422-32.
10. Turgut M, Uysal A, Uslu S, Tavus N, Yurtseven ME. The effects of calcium channel antagonist nimodipine on endplate vascularity of the degenerated intervertebral disc in rats. *J Clin Neurosci* 2003;10:219-23.
11. Karamouzian S, Eskandary H, Saeed A, Reihani-Kermani H, Aboosaeedi HR, Malekpoor-Afshar R, et al. Effect of atorvastatin on angiogenesis in degenerated intervertebral disc in rat. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2011;36:1824-8.
12. Delius M, Draenert K, Al Diek Y, Draenert Y. Biological effects of shock waves: in vivo effect of high energy pulses on rabbit bone. *Ultrasound Med Biol* 1995;21:1219-25.
13. Rompe JD, Kirkpatrick CJ, Küllmer K, Schwitalle M, Krischek O. Dose-related effects of shock waves on rabbit tendo Achillis. A sonographic and histological study. *J Bone Joint Surg Br* 1998;80:546-52.
14. Maier M, Milz S, Fischer T, Münzing W, Manthey N, Stäbler A, et al. Influence of extracorporeal shock-wave application on normal bone in an animal model in vivo. *Scintigraphy, MRI and histopathology*. *J Bone Joint Surg Br* 2002;84:592-9.
15. Speed CA. Extracorporeal shock-wave therapy in the management of chronic soft-tissue conditions. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86:165-71.
16. Wang CJ. An overview of shock wave therapy in musculoskeletal disorders. *Chang Gung Med J* 2003;26:220-32.

17. Wang L, Qin L, Lu HB, Cheung WH, Yang H, Wong WN, et al. Extracorporeal shock wave therapy in treatment of delayed bone-tendon healing. *Am J Sports Med* 2008;36:340-7.
18. Furia JP, Rompe JD, Cacchio A, Maffulli N. Shock wave therapy as a treatment of nonunions, avascular necrosis, and delayed healing of stress fractures. *Foot Ankle Clin* 2010;15:651-62.
19. Wang CJ, Wang FS, Yang KD, Weng LH, Hsu CC, Huang CS, Yang LC. Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon-bone junction. A study in rabbits. *J Orthop Res* 2003;21:984-9.
20. Skolarikos A, Alivizatos G, de la Rosette J. Extracorporeal shock wave lithotripsy 25 years later: complications and their prevention. *Eur Urol* 2006;50:981-90.
21. Lee TC, Huang HY, Yang YL, Hung KS, Cheng CH, Chang NK, et al. Vulnerability of the spinal cord to injury from extracorporeal shock waves in rabbits. *J Clin Neurosci* 2007;14:873-8.
22. Lee TC, Huang HY, Yang YL, Hung KS, Cheng CH, Lin WC, et al. Application of extracorporeal shock wave treatment to enhance spinal fusion: a rabbit experiment. *Surg Neurol* 2008;70:129-34.
23. Wang CJ, Huang HY, Pai CH. Shock wave-enhanced neovascularization at the tendon-bone junction: an experiment in dogs. *J Foot Ankle Surg* 2002;41:16-22.
24. Wang CJ, Wang FS, Yang KD. Biological effects of extracorporeal shockwave in bone healing: a study in rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg* 2008;128:879-84.
25. Orhan Z, Ozturan K, Guven A, Cam K. The effect of extracorporeal shock waves on a rat model of injury to tendo Achillis. A histological and biomechanical study. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86:613-8.
26. Orhan Z, Alper M, Demirkaya M, Özturan K. The effect of extracorporeal shockwave treatment (ESWT) on the albino rat tendon tissue. [Article in Turkish] *Acta Orthop Traumatol Turc* 2000;34:308-11.
27. Orhan Z, Alper M, Şenel F, Yılmaz N, Sayar Ü. The effect of extracorporeal shockwave treatment on the healing of experimental rat tibial fractures. [Article in Turkish] *Acta Orthop Traumatol Turc* 2001;35:351-7.
28. Wang CJ, Yang KD, Wang FS, Hsu CC, Chen HH. Shock wave treatment shows dose-dependent enhancement of bone mass and bone strength after fracture of the femur. *Bone* 2004;34:225-30.
29. Orhan Z, Cam K, Alper M, Ozturan K. The effects of extracorporeal shock waves on the rat Achilles tendon: is there a critical dose for tissue injury? *Arch Orthop Trauma Surg* 2004;124:631-5.
30. Wang CJ, Huang KE, Sun YC, Yang YJ, Ko JY, Weng LH, et al. VEGF modulates angiogenesis and osteogenesis in shock-wave-promoted fracture healing in rabbits. *J Surg Res* 2011;171:114-9.
31. Wang FS, Wang CJ, Sheen-Chen SM, Kuo YR, Chen RF, Yang KD. Superoxide mediates shock wave induction of ERK-dependent osteogenic transcription factor (CBFA1) and mesenchymal cell differentiation toward osteoprogenitors. *J Biol Chem* 2002;277:10931-7.
32. Wang FS, Wang CJ, Chen YJ, Chang PR, Huang YT, Sun YC, et al. Ras induction of superoxide activates ERK-dependent angiogenic transcription factor HIF-1alpha and VEGF-A expression in shock wave-stimulated osteoblasts. *J Biol Chem* 2004;279:10331-7.
33. Wang CJ, Yang KD, Ko JY, Huang CC, Huang HY, Wang FS. The effects of shockwave on bone healing and systemic concentrations of nitric oxide (NO), TGF-beta1, VEGF and BMP-2 in long bone non-unions. *Nitric Oxide* 2009;20:298-303.
34. Haake M, Thon A, Bette M. No influence of low-energy extracorporeal shock wave therapy (ESWT) on spinal nociceptive systems. *J Orthop Sci* 2002;7:97-101.