

超声应用于牵张成骨技术的研究进展

黄武综述 曾融生审校

(中山大学光华口腔医学院·附属口腔医院口腔颌面外科 广州 510055)

[摘要] 超声具有机械震荡效应、温热效应，能够促进骨组织的形成，结合牵张成骨技术能够更好地修复骨缺损。本文总结了超声在动物实验、临床工作中的应用，并对其作用机制及其对镍钛记忆合金的作用进行了系统阐述。

[关键词] 超声；牵张成骨；镍钛记忆合金牵张器

[中图分类号] R 782 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2013.02.015

Research progress on ultrasound applied to distraction osteogenesis Huang Wu, Zeng Rongsheng. (Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510055, China)

[Abstract] Ultrasound has the features of mechanical vibration and heating effect, which can enhance osteogenesis. Ultrasound combined application with distraction osteogenesis can repair the bone defect better. This review summarized the application of ultrasound on animal experiment and clinic research. Presented the mechanism of ultrasound and introduced the effect of ultrasound on nitinol shape memory alloy.

[Key words] ultrasound; distraction osteogenesis; nitinol shape memory alloy

牵张成骨技术是指在切开骨段间保留骨膜和软组织及其血供，通过对切开的骨段施加特定大小的牵引和扩张力，使骨段间隙内再生新骨的技术。近年来在颌面部缺损修复中的应用不断增多，而镍钛记忆合金牵张成骨技术是现在颌面部牵张成骨中的最新热点。低强度脉冲超声(low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS)具有促进新骨形成、缩短治疗时间的作用，正逐渐与牵张成骨技术相结合，并在实验和临床研究中取得了一定的成绩，本文就LIPUS温控牵张成骨技术的发展及应用进行系统阐述。

1 超声技术的发展应用过程

LIPUS是一种经皮传递的非侵入性的机械能，在生物器官内产生高频声压波。在医学上，超声早期主要用于诊断，逐渐在药物渗透、雾化吸入、穴位注射、碎石等方面开展起来，形成了一门独立的学科——超声治疗学。近年来超声在骨折及牵张成骨方面的应用正蓬勃发展起来，Chan等^[1]应

用LIPUS与牵张成骨相结合治疗新西兰白兔骨折，发现LIPUS可以明显地促进牵张成骨过程中骨质的愈合。近来，Xie等^[2]在兔牵张成骨实验中应用LIPUS技术，结果证实其具有明显地促进成骨的作用，特别是牵张早期的治疗效果更为明显。这提示LIPUS应用于牵张成骨在促进新骨形成以及缩短治疗时间方面有着很好的应用前景。

2 动物实验

牵张成骨技术的发展使得因创伤、肿瘤、先天性颌面畸形、医源性损伤等导致颌面骨缺损患者的生活质量得到了提高，但是它存在牵张后骨成熟时间偏长的问题，给临床工作和患者带来了诸多不便。鉴于此，许多相关研究人员应用超声技术进行了研究后发现，LIPUS能明显促进骨质形成、缩短治疗时间。Shimazaki等^[3]对兔子进行超声牵张成骨的研究，发现超声治疗组在X线表现、骨密度测量数据、组织切片检查上都要优于对照组，甚至在快速牵张成骨中超声治疗都有很好地促进骨质形成和成熟的作用。El-Bialy等^[4]研究了超声在兔下颌骨牵张成骨过程中的作用，该课题组对新西兰成年白兔进行下颌骨截骨牵张实验，随机分成3组，在牵张的同时分别给予不同方

[收稿日期] 2012-03-17; [修回日期] 2012-11-30

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81070818)

[作者简介] 黄武(1986—)，男，湖南人，硕士

[通讯作者] 曾融生, Tel: 020-87332627

式的超声刺激。第1组下颌骨两侧隔日交替给予 $20 \text{ min} \cdot \text{d}^{-1}$ 的LIPUS处理；第2组左侧予以 $20 \text{ min} \cdot \text{d}^{-1}$ 的LIPUS治疗，而对侧不予超声处理；第3组作为对照组，两侧都不予以超声处理。在牵张后4周进行骨密度、骨连续性、骨硬度测试，结果显示：连续超声治疗成骨效果最好，未行超声处理的牵张器成骨效果最差；超声处理组可见比较成熟的编织骨，而对照组主要由纤维组织组成。这一结果进一步证实了LIPUS在牵张成骨过程中有着良好的作用。

Sakurakichi等^[9]就超声在牵张成骨各时间段的作用做了一系统研究，实验选取日本大耳兔作为研究模型，用单方向牵张器进行右侧胫骨延长实验分别在间歇期、牵张期、牵张后固定期予以超声治疗，并设置对照组，从影像学、组织学、CT测试、骨密度测量进行了全面的系统分析，结果显示在牵张后前3周牵张期照射组和固定期照射组骨痂形成和愈合较好，尤以牵张期照射组效果最佳，骨密度、骨矿化度测试提示，牵张器照射组骨密度明显大于其他实验组；CT检查显示，牵张期照射组间隙愈合完全，有着广泛的骨小梁结构，而其他组则未能完全充满牵张间隙；机械力学测试显示其承受转矩值最大，组织学观察显示其含有较多的成熟骨组织，而间歇期照射组及对照组主要由纤维组织组成。这提示LIPUS在牵张成骨治疗过程中有着广泛的促进成骨作用，其治疗效果在牵张期尤为显著。

吕红斌等^[10]将60只成年新西兰兔随机分为低强度超声治疗组和对照组，所有动物行胫骨中段截骨并以外置牵张器固定，手术7 d后以每12 h 0.5 mm的牵张延长速度维持10 d，超声治疗组在骨延长完成后以超声骨折治疗仪治疗4周，对照组不予治疗，结果发现超声治疗组在X线表现出的骨密度、生物扭转力方面都优于对照组。

Ding等^[7]选取7只狗建立动物模型，在下颌体2个双尖牙间进行骨截开后牵张成骨($1 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1} \times 20 \text{ d}$)，一侧牵张区给予LIPUS处理($10 \text{ min} \cdot \text{d}^{-1} \times 2$ 次)，治疗过程中及治疗后行X线检查、组织学检查，对比显示处理组骨成熟时间更早，⁹⁹锝-亚甲基二磷酸盐成像技术对比超声处理组骨信息比例更高。Shakouri等^[8]以30只兔子建立牵张成骨模型，随机分成2组进行超声治疗对比研究，结果提示超声治疗组的骨痂矿化度明显高于对照组。

近来，Xie等^[2]对兔下颌骨牵张成骨结合超声

治疗进行了研究，实验选取24只成年新西兰白兔，分为2组(即普通牵张组和超声牵张组)，分别在牵张后0、2、4周处死，进行平面影像学、CT、纤维硬度、组织学对比检查，结果显示在0、2周时治疗组在平面影像、显微硬度上都要优于对照组，组织学观察发现，治疗组形成了大量的骨组质，而对照组则较少；但在牵张后4周两组之间的差异无统计学意义，这提示超声主要在牵张成骨的早期有促进骨质形成的作用。

3 临床试验

随着牵张成骨技术的不断成熟，临床应用的病例正在逐渐增多，部分学者将LIPUS应用于牵张成骨患者，其效果存在争议。Schortinghuis等^[9]对一批下颌无牙颌患者在下颌骨牵张成骨时应用超声进行随机双盲试验，设计患者行下颌骨垂直牵张，牵张高度平均6.6 mm；在种植体植入之前分别给予超声治疗和安慰剂对照治疗，经过31 d的固定期后，去除牵张设备，并分别植入2颗种植体，每个患者都很好地完成超声治疗，在植入种植体后1月的时间里，没有出现任何并发症；对牵张区进行显微影像检查发现，在超声治疗组牵张区域的矿化组织大小无明显区别，组织学检查提示对照组和试验组在组织学形态上没有明显区别；由此初步得出，超声并无促进严重吸收的牙槽骨再生的结论。

Schortinghuis等^[10]也对下颌骨牵张患者进行超声治疗时设计了一个随机双盲实验，牵张高度平均为5.1 mm，牵张后固定期平均46 d，结果显示对照组和超声治疗组无明显区别，差异无统计学意义。Lubbert等^[11]对锁骨骨折行超声牵张成骨治疗，选取101个患者进行多中心随机双盲实验，患者都为锁骨新鲜骨折患者，52个患者进行超声治疗，其余49个患者为安慰剂治疗，数据显示两组之间的差异无统计学意义。El-Mowafi等^[12]对20位胫骨骨折患者进行外置牵张器牵张，其中10个患者接收 $20 \text{ min} \cdot \text{d}^{-1}$ 的LIPUS治疗，在治疗完成时，课题组发现LIPUS对促进骨成熟、缩短治疗时间有着明显的效果。Rutten等^[13]对腓骨切开延迟愈合的患者根据是否进行超声治疗分为2组，在接受2~4个月的治疗后就骨组织结构、骨松质、骨密质的组织形态学进行对比，结果发现超声治疗组直接形成骨组织，没有软骨形成或间接成骨的过程，而对照组则可见间接成骨的组织成分；并且

超声治疗组新形成的骨组织中厚度、矿化比例、骨容积增长明显,但是血管变化并不明显。

4 生物学作用机制

LIPUS已经被证明在骨折修复的各个阶段具有促进成骨的作用,部分学者发现LIPUS能增加骨钙蛋白、碱性磷酸酶、血管内皮生长因子和基质金属蛋白酶-13的表达,从而加速了骨质的矿化^[14-15]。另有研究^[16-20]发现,机械性感受器结合素在超声治疗骨折愈合过程中有着活跃的表达,伴随着结合素的表达,细胞通过其胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、1-磷脂酰肌醇3-激酶、细胞核因子 $\kappa\beta$ 等信号传导系统促使其表面黏着物质的表达,而这些信号传导通路与环氧化酶-2和前列腺素的产生直接相关联,这是在骨折愈合过程中促进骨质矿化和软骨内成骨的关键。Unsworth等^[21]培养了MC3T3-E1亚克隆成骨细胞(小鼠原成骨细胞),对部分细胞培养基给予LIPUS处理,第10天时检测发现,碱性磷酸酶和基质金属蛋白酶-13信使RNA升高显著,这提示LIPUS促进成骨主要是通过促进软骨内成骨,从而使软骨痂转化为矿化的硬骨痂这一方式。Mukai等^[22]研究发现,LIPUS提高了软骨细胞的增殖能力,而转化生长因子- β_1 的表达在软骨形成过程中有着重要的作用。

现阶段对于LIPUS在牵张成骨过程中的机制并未完全明确,大部分学者认为其机械效应相比温热效应来说,起着更为关键的作用,研究成果主要涉及促进软骨细胞、改变基因调节、调节信使通路等,但是具体机制仍有待进一步研究。

5 对镍钛记忆合金牵张器的作用

在现代牵张成骨技术中,许多专家、学者对牵张器进行了不同形式的设计改进,近来镍钛记忆合金牵张器成为了最新的研究热点,利用镍钛记忆合金的形状记忆效应进行温控牵张成骨的技术正蓬勃发展起来,它具有操作简单、便于使用、成骨效果好等许多优点,而超声本身就有促进成骨的作用,同时在控制镍钛记忆合金形变方面具有其独特的优势,因此引起了大家的关注。部分研究人员应用超声技术作用于镍钛记忆合金,对其形变规律和作用机制进行了初步的研究探讨。

早在1999年,Breczko等^[23]就超声对镍钛记忆合金的作用进行了研究,他们采用直径0.5 mm的

镍钛记忆合金丝(镍钛比例1:1)进行超声作用试验,超声频率为22 kHz,振幅5 μm ,诱导记忆合金恢复形状,结果发现与普通加热方式产生的相变相比,其马氏体母相转变温度存在一些差异,由此提出,超声对镍钛记忆合金的作用不是单纯的热效应,而是一个综合因素作用的结果,并能使记忆合金的屈服应力减小。

Buchelnikov等^[24]应用频率为33 kHz的超声对镍锰铁镓的混合记忆合金进行试验时发现,马氏体—奥氏体的双向相变都因为超声的诱导而出现,同时敏感性低磁场测量值和光学检测双子领域升高,最终导致马氏体转变表现在原位,光学显微镜观察在高于马氏体转变温度的某一恒定温度有马氏体结构的存在,从而确认超声对记忆合金的作用不是单纯的热效应。

Rubanik等^[25]对记忆合金超声振动作用下的性能和规律进行了比较系统的研究,他们将热电偶焊接在实验用仪器上控制温度,对镍钛记忆合金丝(钛含量50.4%)进行研究,超声频率为22.2 kHz,振幅为5 μm ,加热使镍钛合金样品恢复奥氏体状态,在As—Af(奥氏体转变开始温度到奥氏体转变完成温度区间)(Mf为马氏体结束温度,Ms为马氏体开始温度,As为奥氏体开始温度,Af为奥氏体结束温度)阶段予以超声刺激,同时测量其形变、温度和时间相互之间的关系;与此同时进行反向相变的动力学研究,在超声作用下实现形状恢复,同时测量合金表面的温度变化和形状回复程度。正反向相变的动力学检测结果显示,超声影响了记忆合金的形变储存。在反向相变冷却过程中产生了短暂的形状回复,并且由于超声的热效应,观察到样品温度上升;当超声关闭的时候,根据马氏体直接相变的动力学规律,随后的冷却产生形变存储;而在样品升温时由于超声热效应促使形状回复短暂的加快,当超声关闭以后,根据动力学的反向形变规律,记忆合金继续原来的形变回复过程,在负载的样品中进行As—Af阶段超声刺激致使形变回复速度加快。由此得出,超声在冷却过程中影响了Ms—Mf过程中的形变,并且伴随着样品温度的短暂上升,超声作用的时间越接近于Mf,则形变反弹越多,而在没有超声作用后则继续形变存储,因为整个实验过程都是伴随着超声加热,在直接相变过程中可以观察到热机械应力滞后线(对启动记忆合金的回复很有价值意义),超声影响镍钛合金的直接相变温度范围,从

而使形变储存恢复,同时伴有热机械应力滞回圈,这一效用可以应用于驱动调节记忆合金,在As—Af过程中,超声振动加强了记忆合金的形变回复,并且在整个过程中能够诱导形变回复效应,同时减低了奥氏体完成Af温度。综上所述,超声对记忆合金牵张器的形变控制存在独特的优势,但其相关作用机制研究还需更深层次的剖析。

6 参考文献

- [1] Chan CW, Qin L, Lee KM, et al. Low intensity pulsed ultrasound accelerated bone remodeling during consolidation stage of distraction osteogenesis[J]. J Orthop Res, 2006, 24(2):263-270.
- [2] Xie LK, Wangrangsimakul K, Suttapreyasri S, et al. A preliminary study of the effect of low intensity pulsed ultrasound on new bone formation during mandibular distraction osteogenesis in rabbits[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2011, 40(7):730-736.
- [3] Shimazaki A, Inui K, Azuma Y, et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits[J]. J Bone Joint Surg Br, 2000, 82(7):1077-1082.
- [4] El-Bialy TH, Royston TJ, Magin RL, et al. The effect of pulsed ultrasound on mandibular distraction[J]. Ann Biomed Eng, 2002, 30(10):1251-1261.
- [5] Sakurakichi K, Tsuchiya H, Uehara K, et al. Effects of timing of low-intensity pulsed ultrasound on distraction osteogenesis[J]. J Orthop Res, 2004, 22(2):395-403.
- [6] 吕红斌, 杨颖, 曾驰, 等. 低强度脉冲超声对新生骨成熟过程的影响[J]. 中南大学学报: 医学版, 2009, 34(10):984-990.
- [7] Ding Y, Li G, Ao J, et al. ^{99m}Tc-methylene diphosphonate bone imaging using low-intensity pulsed ultrasound: Promotion of bone formation during mandibular distraction osteogenesis in dogs[J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2010, 48(2):94-99.
- [8] Shakouri K, Eftekharsadat B, Oskuie MR, et al. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on fracture callus mineral density and flexural strength in rabbit tibial fresh fracture[J]. J Orthop Sci, 2010, 15(2):240-244.
- [9] Schortinghuis J, Bronckers AL, Stegenga B, et al. Ultrasound to stimulate early bone formation in a distraction gap: A double blind randomised clinical pilot trial in the edentulous mandible[J]. Arch Oral Biol, 2005, 50(4):411-420.
- [10] Schortinghuis J, Bronckers AL, Gravendeel J, et al. The effect of ultrasound on osteogenesis in the vertically distracted edentulous mandible: A double-blind trial[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2008, 37(11):1014-1021.
- [11] Lubbert PH, van der Rijt RH, Hoorntje LE, et al. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) in fresh clavicle fractures: A multi-centre double blind randomised controlled trial[J]. Injury, 2008, 39(12):1444-1452.
- [12] El-Mowafi H, Mohsen M. The effect of low-intensity pulsed ultrasound on callus maturation in tibial distraction osteogenesis[J]. Int Orthop, 2005, 29(2):121-124.
- [13] Rutten S, Nolte PA, Korstjens CM, et al. Low-intensity pulsed ultrasound increases bone volume, osteoid thickness and mineral apposition rate in the area of fracture healing in patients with a delayed union of the osteotomized fibula[J]. Bone, 2008, 43(2):348-354.
- [14] Nolte PA, Klein-Nulend J, Albers GH, et al. Low-intensity ultrasound stimulates endochondral ossification *in vitro*[J]. J Orthop Res, 2001, 19(2):301-307.
- [15] Korstjens CM, Nolte PA, Burger EH, et al. Stimulation of bone cell differentiation by low-intensity ultrasound—a histomorphometric *in vitro* study[J]. J Orthop Res, 2004, 22(3):495-500.
- [16] Zhou S, Schmelz A, Seufferlein T, et al. Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts[J]. J Biol Chem., 2004, 279(52):54463-54469.
- [17] Sena K, Leven RM, Mazhar K, et al. Early gene response to low-intensity pulsed ultrasound in rat osteoblastic cells[J]. Ultrasound Med Biol, 2005, 31(5):703-708.
- [18] Reher P, Harris M, Whiteman M, et al. Ultrasound stimulates nitric oxide and prostaglandin E2 production by human osteoblasts[J]. Bone, 2002, 31(1):236-241.
- [19] Warden SJ, Favaloro JM, Bennell KL, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates a bone-forming response in UMR-106 cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 286(3):443-450.
- [20] Naruse K, Miyauchi A, Itoman M, et al. Distinct anabolic response of osteoblast to low-intensity pulsed ultrasound[J]. J Bone Miner Res, 2003, 18(2):360-369.
- [21] Unsworth J, Kaneez S, Harris S, et al. Pulsed low intensity ultrasound enhances mineralisation in preosteoblast cells[J]. Ultrasound Med Biol, 2007, 33(9):1468-1474.
- [22] Mukai S, Ito H, Nakagawa Y, et al. Transforming growth factor- β_1 mediates the effects of low-intensity pulsed ultrasound in chondrocytes[J]. Ultrasound Med Biol, 2005, 31(12):1713-1721.
- [23] Brezcko TM, Rubanick VV. Behavior of NiTi alloy under action of ultrasound[J]. Proc SPIE, 1999, 3687:310-312.
- [24] Buchelnikov V, Dikstein I, Grechishkin R, et al. Ultrasound-induced martensitic transition in ferromagnetic Ni₂₅Mn_{0.81}Fe_{0.04}Ga shape memory alloy[J]. J Magn Mater, 2004, 272:2025-2026.
- [25] Rubanik VV Jr, Rubanik VV, Klubovich. The influence of ultrasound on shape memory behavior[J]. Mater Sci Eng: A, 2008, 481/482:620-622.