

·临床研究·

低强度脉冲超声用于治疗骨髓连接点损伤及提高骨血管重建相关因子的研究

曹 蕾¹ 谢毅凌² 吴生海³ 周志宏³ 陈志鹏¹

摘要

目的:观察低强度脉冲超声(LIPUS)治疗骨-腱连接点(bone-tendon junction, BTJ)损伤的效果,及对骨血管重建相关因子的促进作用。

方法:选取BTJ损伤患者41例,采用LIPUS治疗2周。采用放射免疫法和酶联吸附免疫法(ELISA)检测碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血小板衍生因子(PDGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子- β (TGF- β)及基质金属蛋白酶-3(MMP-3)。采用疼痛视觉模拟评分(VAS)及功能指标变化,评价LIPUS的治疗效果。

结果:经LIPUS治疗2周后,血清中bFGF、PDGF、VEGF、TGF- β 及MMP-3水平较治疗前均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);VAS评分较治疗前明显下降[(7.42 $\pm$ 1.89) vs (4.00 $\pm$ 1.05)分, $t=8.492$, $P=0.000$], Lysholm膝关节功能评分[(65.74 $\pm$ 4.05) vs (83.69 $\pm$ 8.25)分, $t=5.114$, $P=0.000$], 每分钟上下台阶次数[(24.81 $\pm$ 5.19) vs (40.32 $\pm$ 6.33)次/min, $t=15.333$, $P=0.000$]及每日平均运动时间[(20.25 $\pm$ 2.74) vs (72.30 $\pm$ 8.52) min/d, $t=14.305$, $P=0.000$]均较治疗前明显升高($P=0.000$)。每日平均运动时间随时间呈逐渐增高趋势,由72h开始,与治疗前比较,差异有显著性意义($P < 0.01$)。

结论:LIPUS治疗可提高骨血管重建相关因子水平,促进BTJ损伤恢复,效果显著。

关键词 低强度脉冲超声;骨髓连接点;骨血管重建

中图分类号:R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2017)-02-0178-04

Effects of low intensity pulsed ultrasound stimulation on patella bone-tendon junction injury and vascularized bone reconstruction-related factors/CAO Lei, XIE Yiling, WU Shenghai, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(2): 178—181

Abstract

Objective:To observe the effect of low intensity pulsed ultrasound stimulation(LIPUS) on bone-tendon junction (BTJ) injury and vascularized bone reconstruction-related factors.

Method:A total of 41 patients with bone-tendon junction injury were selected, and the levels of PDGF, VEGF, TGF- β and MMP-3 were tested by radioimmunoassay and ELISA. The treatment effect was evaluated by visual analogue scale(VAS) and function indexes changed.

Result:After two weeks treatment, the serum levels of bFGF, PDGF, VEGF, TGF- β and MMP-3 were increased significantly than that before treatment ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The score of VAS was reduced[(7.42 $\pm$ 1.89) vs (4.00 $\pm$ 1.05) score, $t=8.492$, $P=0.000$], Lysholm knee function score[(65.74 $\pm$ 4.05) vs (83.69 $\pm$ 8.25) score, $t=5.114$, $P=0.000$], the number of steps/min upward and forward[(24.81 $\pm$ 5.19) vs (40.32 $\pm$ 6.33) time/min, $t=15.333$, $P=0.000$] and the average sports time/day[(20.25 $\pm$ 2.74) vs (72.30 $\pm$ 8.52) min/d, $t=14.305$, $P=0.000$] were significantly enhanced ($P=0.000$). Moreover, the average sports time/day was increased along with time, and

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.02.010

1 湖南第一师范学院,长沙,410205; 2 湖南旺旺医院骨科; 3 湖南体育职业学院

作者简介:曹蕾,女,讲师; 收稿日期:2015-11-29

from 72h, the difference has statistic significance compared with that before treatment ($P < 0.01$).

Conclusion: LIPUS can improve the level of bone vascular remodeling-related factors and promote the BTJ injury recovery.

Author's address Hunan First Normal University, Changsha, 410205

Key word low intensity pulsed ultrasound stimulation; Bone-tendon junction; vascularized bone reconstruction

骨-腱连接点(bone-tendon junction, BTJ)具有独特的结构特点,并广泛存在于人体各个关节周围,临床上多数损伤均涉及BTJ的损伤,其损伤修复一直是运动医学领域里的难题。髌骨-髌腱连接点损伤常见于足、篮、排球运动员及跳远专项运动员,多由于长期专项训练负荷过大所致,严重影响运动员的寿命,亦给治疗带来极大的困难。低强度超声(low intensity pulsed ultrasound stimulation, LIPUS)通常指应用强度为1—50mW/cm²,频率为1—3MHz的脉冲超声波,是近年来运动医学和骨骼康复领域研究的热点^[1-2]。LIPUS有别于其他促进损伤愈合方法,具有非侵入性、治疗效果良好、对治疗的局部和全身均无损害、操作方便及治疗时间短等特点,已广泛用于运动系统损伤的修复中^[3]。本课题组前期研究^[4]已证实,LIPUS具有促进BTJ损伤修复的作用,该作用可能是通过促进血管发生而实现,但具体机制仍不十分明确。因此,本研究选择髌骨-髌腱连接点损伤的体校运动员作为研究对象,比较LIPUS治疗前后相关指标的变化,观察该方法在促进骨血管重建中的作用,旨在为此类患者寻找有效的治疗手段提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2011年5月至2015年5月因BTJ损伤而进行LIPUS治疗者41例,年龄16—24岁,平均年龄(18.32±2.14)岁。其中,男33例,女8例,均为来自湖南第一师范学院和湖南体育职业学院的学生,主要包括足球运动员11例、篮球运动员14例、跳远运动员7例及其他项目运动员9例,参照国际上通用的运动损伤调查问卷进行诊断,并行磁共振确诊^[5-6]。排除标准:合并心、脑、肾等严重疾病者;合并糖尿病等影响治疗效果疾病者;6个月内使用皮质醇(全身或损伤局部)治疗者;合并骨折患者;精神障碍者;不能配合治疗者。本研究经过我院伦理委员会审核,

患者均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 LIPUS治疗:低强度脉冲超声治疗仪采用Nexsound-the-C4骨科超声治疗仪,购自北京益来科技有限公司。超声波参数设置:超声波形为正弦脉冲波;超声强度为30mW/cm²;超声频率为1.5MHz;脉冲宽度为200μs;重复频率为1kHz。LIPUS将通过一个直径2.5cm的超声探头贴合耦合凝胶将信号传递至髌骨-髌腱连接点处,每天治疗1次,每次20min,持续2周。

1.2.2 临床资料及骨血管重建指标收集:收集患者一般资料,包括年龄、所学专业、既往病史及吸烟饮酒史等,测量身高、体重,并计算体重指数。治疗开始前,采集患者空腹静脉血5ml,置于不加抗凝剂的干燥无菌玻璃管中,温室静置30min,离心取血清后,置于-80℃冰箱中保存待测。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)采用放射免疫法检测,试剂盒购自美国凤凰公司;血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)及基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinase-3, MMP-3)均采用酶联吸附免疫法检测,试剂盒分别购自武汉博士德公司、北京鑫方程生物科技有限公司及上海沪尚生物工程研究所。所有检测严格按照说明书进行操作,批内变异系数5%—9%,批间变异系数10%—14%。治疗2周后复测上述血液指标。

1.2.3 治疗效果评价指标:①疼痛视觉模拟评分(VAS):采用一条长约10cm的游动标尺,共10等分,两端分别为“0”分端和“10”分端,患者在其中标出疼痛程度。0分为无痛;<3分为有轻微疼痛,能忍受,不影响休息;4—6分为疼痛并影响睡眠,尽管尚能忍受,但应给与一定的处理;7—10分为有渐强烈的疼痛,且疼痛难忍,同时影响食欲及睡眠;②膝

关节功能评分:采用 Lysholm 膝关节功能评分进行患者膝关节功能评定,包括跛行 5 分、支撑 5 分、绞锁 15 分、不稳定 25 分、疼痛 25 分、肿胀 10 分、爬楼梯 10 分、下蹲 5 分,满分为 100 分。分值越高膝关节功能越好^[7];③功能性测试:每分钟上下楼梯次数及每天平均运动时间。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均值±标准差表示,非正态分布资料以中位数(四分位距)[M(QL,QU)]表示。治疗前后各数据比较采用配对样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 治疗前后骨血管重建指标变化的比较

经过 2 周 LIPUS 治疗,血清中 bFGF、PDGF、VEGF、TGF- β 及 MMP-3 水平较治疗前均明显升高,差异有显著性意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 1。

2.2 治疗前后效果评价指标的比较

经 LIPUS 治疗 2 周后,VAS 评分较治疗前明显下降,而 Lysholm 膝关节功能评分、每分钟上下台阶次数及每日平均运动时间均较治疗前明显升高($P = 0.000$)。观察治疗后效果发现,每日平均运动时间随治疗后时间呈逐渐增高趋势,由 72h 开始,与治疗前比较,差异有显著性意义($P < 0.01$),图 1。

表 1 治疗前后骨血管重建指标变化的比较

$[\bar{x} \pm s, M(QL, QU), n=41]$

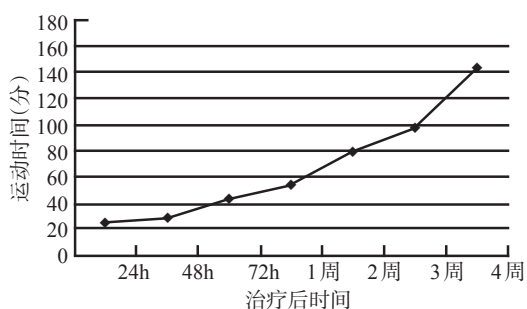
时间	bFGF(pg/ml)	VEGF(ng/ml)	PDGF(pg/ml)	TGF- β (ng/ml)	MMP-3(μ g/ml)
治疗前	36.14(20.48, 53.79)	70.13±9.21	128.32±17.43	36.82±5.43	1.32±0.17
治疗后	75.92(45.31, 112.47)	173.45±15.30	354.21±82.17	52.19±9.52	3.09±0.13
<i>t</i>	2.430	0.410	2.249	4.370	2.190
<i>P</i>	0.017	0.001	0.005	0.021	0.037

表 2 治疗前后效果评价指标的比较

$(\bar{x} \pm s, n=41)$

时间	VAS(分)	Lysholm 膝关节功能评分(分)	上下台阶次数(次/min)	平均运动时间(min/d)
治疗前	7.42±1.89	65.74±4.05	24.81±5.19	20.25±2.74
治疗后	4.00±1.05	83.69±8.25	40.32±6.33	72.30±8.52
<i>t</i>	8.492	5.114	15.333	14.305
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000

图 1 治疗后每日平均运动时间随时间呈逐渐增高趋势



3 讨论

运动损伤是指人体在体育运动过程中发生的各种损伤及伤后并发症,其伤害程度和部位与所参与的运动项目有关^[8]。一项针对体育高校篮球运动损伤发生率的调查^[9]发现,在 532 例受试者中,受伤人数为 384 例,受伤比例为 72.2%,其中,膝关节受伤者

233 例,占总受伤人数的 60.7%。关于国内沙滩排球运动员膝关节损伤的研究^[10]亦发现,其发生率达 15.1%,与国外相似。骨髓连接处的损伤即发生在骨与肌腱连接处的损伤,有研究发现^[11],其发生率占所有运动性损伤的 50% 以上,而髌骨的骨髓连接点是发病率最高的部位之一。髌骨-髌腱连接点含有纤维软骨过渡层,该独特的组织结构使得骨与腱很好的连接在一起,并且有利于骨髓之间力的传导,避免了应力集中,但同时减缓了 BTJ 的愈合,增加了治疗难度,严重影响运动员的成绩,甚至终止运动员的运动寿命,因此,骨髓连接点的损伤应受到足够的重视,并在治疗方法加大研究力度。

近几年,LIPUS 正逐步应用于 BTJ 损伤的修复中,并取得了一定的效果。动物试验发现,LIPUS 治疗可以增强 BTJ 的新骨、新生的纤维软骨、软骨化生区和新愈合肌腱的硬度^[12]。研究发现^[13],LIPUS 可安全地应用于促进组织工程骨血管化构建的治疗,

且不会对缺损区周围软组织造成热损伤,其通过多方面作用来促进损伤部位局部血流量的增加,其中以促进生长因子的表达来促进血管化构建最为重要。本研究发现,与治疗前相比,经过2周LIPUS治疗后,血清中bFGF、PDGF、VEGF、TGF- β 及MMP-3的水平均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示LIPUS提高了骨血管重建相关细胞因子的表达,从而促进BTJ的恢复,减少关节制动时间,使受累关节早期活动,减少关节退化。本研究亦发现,VAS评分治疗后明显下降,Lysholm膝关节功能评分、每分钟上下台阶次数及每日平均运动时间明显升高($P = 0.000$),且每日平均运动时间随治疗后时间呈逐渐增高趋势($P < 0.01$)。

吕杏春等^[14]采用新西兰大白兔建立BTJ损伤后愈合模型,观察发现,在愈合1周和2周时,VEGF和bFGF仍处于明显增加的状态,而在4周和8周时,逐渐恢复正常水平。bFGF和VEGF都对细胞分化进行诱导和控制,具有诱导生成血管能力,但对血管内皮细胞在血管再生时的调节机制尚未完全明了。LIPUS不仅能直接通过促进bFGF、PDGF、TGF- β 、VEGF的表达来促进血管的重建,还能间接通过bFGF、PDGF、TGF- β 的增加来促进VEGF的表达^[13]。bFGF是目前已知最强的促细胞生成因子,可直接作用于平滑肌细胞及血管内皮细胞,在促血管生成、创伤愈合和组织损伤修复过程中具有巨大作用。研究表明^[15-16],LIPUS能促进bFGF等多种生长因子的表达,从而在血管化构建中发挥作用,并通过影响bFGF形成、活化和分泌来刺激软骨细胞增生,促进骨基质分泌、软骨基质钙化和血管的重建。bFGF不仅能直接刺激血管增生,还能间接刺激VEGF和TGF- β 的表达,促进骨血管化构建^[17]。VEGF是内皮细胞特异性的生长因子,受缺血缺氧诱导产生,与缺血组织有高度特异性,可促进血管内皮细胞增殖。LIPUS增加VEGF的表达可能与其的高亲和力受体酪氨酸激酶膜受体(tyrosine kinase receptor, TKR)有关。TKR主要功能是参与血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VEC)的分化和增殖,有研究表明^[18],LIPUS可以促进正常的VEC增殖,还可以显著提高TKR在VEC中的表达。李燕如等^[19]证明,LIPUS可促进大鼠胫骨骨折愈合中PDGF的表达,促进早期

软骨细胞成熟和软骨内成骨,从而促进骨折的愈合。PDGF能促进血管内皮细胞的增殖,诱导VEGF mRNA表达,刺激毛细血管形成和新生血管的生长,从而促进损伤部位血液循环重建。TGF- β 是一种重要的骨生长刺激因子,在骨折修复过程中可调节间充质细胞增殖、分化,促进成骨细胞和软骨细胞增生,刺激胶原合成,诱导膜内成骨和软骨内成骨过程。研究发现^[20],LIPUS可通过影响骨折不同时期TGF- β 的表达及含量的变化,促进骨、软骨组织的损伤修复,有效促进骨折愈合。MMP-3可由软骨细胞、滑膜细胞分泌,不仅能降解多种细胞外基质,尚可激活其他蛋白酶原,其在骨性关节炎患者滑膜组织中高表达^[21]。LIPUS穿过人体所引起的组织温度变化低于1℃,温度变化尽管很小但依然可以提高细胞内酶,如MMP-3的活性来参与血管的形成,促进血管化的构建。

综上所述,LIPUS治疗可提高骨血管重建相关因子水平,各因子间相互协同作用,促进BTJ损伤恢复,效果显著,值得在临床治疗BTJ损伤中应用。

参考文献

- [1] 李雪萍,励建安.低强度脉冲超声波促进骨性关节炎软骨修复的研究进展[J].中国康复医学杂志,2010,25(12):1204—1204.
- [2] Järvinen TA, Järvinen M, Kalimo H. Regeneration of injured skeletal muscle after the injury[J]. Muscles Ligaments Tendons J, 2014, 3(4): 337—345.
- [3] 杨颖,吕红斌.低强度脉冲超声波治疗骨关节肌肉损伤研究进展[J].中国运动医学杂志,2007,26(4):507—511.
- [4] 张宝亮,吕红斌,胡建中,等.低强度脉冲超声促进兔髌骨-髌腱连接点纤维软骨愈合的形态学分析[J].中南大学学报(医学版),2013,38(8):838—842.
- [5] Reeser JC. Volleyball injury[M]. Oxford Boston: Blackwell Scientific Publications, 2003.
- [6] 杨建昆.磁共振在膝关节运动损伤中的诊断价值[J].菏泽医科专科学校学报,2012,24(4):37—38.
- [7] 辛雷,苏佳灿.膝关节功能评分:现状与展望[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(39):7367—7370.
- [8] 冯华.实用骨科运动损伤诊断[M].北京:人民军医出版社,2012.
- [9] 阮志方,胡学明.河南省高校体育教育专业学生篮球运动损伤与预防研究[D].新乡:河南师范大学,2013.
- [10] 张晓丹,葛春林,周典明.中国优秀沙滩排球运动员运动损伤发生率及预防对策研究[J].中国体育科技,2007,43(1):61—63,101.

(下转第228页)