

ZASTOSOWANIE ULTRADŹWIĘKÓW W LECZENIU USZKODZEŃ I ODBUDOWIE KOŚCI. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

THE USE OF ULTRASOUND IN THE TREATMENT OF DEFECTS AND REBUILDING OF BONES. LITERATURE REVIEW

Mateusz Kowal^{1*}, Andrzej Pozowski¹, Małgorzata Paprocka-Borowicz¹,
Andrzej Kierzek², Jadwiga Kuciel-Lewandowska³, Sławomir Jarzab¹

¹ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Nauk o Zdrowiu,
Katedra Fizjoterapii, Zakład Rehabilitacji w Dysfunkcjach Narządu Ruchu,
50-355 Wrocław, ul. Grunwaldzka 2

² Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Nauk o Zdrowiu,
Katedra Fizjoterapii, Zakład Klinicznych Podstaw Fizjoterapii,
50-355 Wrocław, ul. Grunwaldzka 2

³ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Nauk o Zdrowiu,
Katedra Fizjoterapii, Zakład Lecznictwa Uzdrowiskowego, Historii Medycyny Fizykalnej
i Balneologii, 50-355 Wrocław, ul. Grunwaldzka 2

* e-mail: mateuszkowal@poczta.onet.pl

STRESZCZENIE

Terapia ultradźwiękowa jest obecnie szeroko dostępna oraz stosowana w fizjoterapii i medycynie sportowej. Pulsacyjne ultradźwięki niskiej częstotliwości LIPUS (ang. *low-intensity pulsed ultrasound*) nie powodują zmian termicznych. Badania kliniczne, zgodne z medycyną opartą na faktach, potwierdziły możliwość ich zastosowania w procesie zrostu kostnego. Celem pracy jest przegląd obecnego stanu wiedzy na temat LIPUS. Do badań wykorzystano platformę *Web of Knowledge*. Używanym językiem był język angielski. Jako opcje wyszukiwania zostały użyte różne kombinacje słów kluczowych: *LIPUS*, *bone*, *soft tissue*, *healing*. Wyszukiwania zostały zawężone do publikacji z ostatnich 10 lat z włączoną lematyzacją. 10 prac zostało ocenionych pod kątem skuteczności randomizacji dla potrzeb medycyny opartej na faktach. Badania, głównie przedkliniczne, dowodzą przydatności stosowania LIPUS w przypadku opóźnionego zrostu kostnego lub jego braku. Jednakże niska wartość metodologiczna badań nad zwierzętami bądź liniami komórkowymi sugeruje potrzebę dalszego kontynuowania prac.

Słowa kluczowe: ultradźwięki, gojenie, kość, przegląd literatury

ABSTRACT

The ultrasound therapy is now widely available and used in physiotherapy and sports medicine. The low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) does not cause any thermal reactions. Clinical examination, conducted in accordance with the evidence-based medicine, has confirmed its applicability in the process of bone healing. The purpose of the review is to review the current state of knowledge on LIPUS. *Web of Knowledge* platform was exploited. The language used was English. Different combinations of keywords were used as the search options: *LIPUS*, *bone*, *soft tissue*, *healing*. The exploration was restricted to the publications from the last 10 years and

included lemmatization. 10 papers were evaluated in terms of results efficacy of randomization for the evidence-based medicine purposes. The examination, mainly preclinical, proved the usefulness of LIPUS in the case of delayed union or non-union of bone. However, the low value of methodological studies on animals or cell lines suggests the need for further continuation of the work.

Keywords: ultrasound, healing, bone, systematic review

1. Wstęp

Mimo zastosowania najlepszych obecnie dostępnych metod leczenia 5–10% złamań nie goi się w sposób prawidłowy. Kiedy proces odbudowy ciągłości kości, po urazie bądź leczeniu operacyjnym, nie następuje w okresie około 3 miesięcy, mówi się o opóźnionym zroście kostnym. Kiedy nie ma oznak gojenia w kolejnych 6 miesiącach, świadczy to o braku zrostu kostnego. Czynnikiem wpływającymi na opóźnienie lub brak zrostu są: słabe ukrwienie w okolicy złamania, złamania wieloodłamowe, infekcje z rozległymi uszkodzeniami tkanek miękkich itd. Dodatkowo palenie papierosów, nadużywanie alkoholu, cukrzyca, czy podeszły wiek również w negatywny sposób wpływają na proces gojenia złamań. Brak zrostu kostnego lub jego opóźnienie powodują dodatkowe cierpienia i ograniczają funkcjonowanie pacjentów [1, 2].

Leczenie operacyjne, polegające na zewnętrznym lub wewnętrznym zespoleniu z zastosowaniem przeszczepów kostnych, pozostaje nadal „złotym standardem” leczenia w przypadku opóźnionego zrostu kostnego lub jego braku. Powodzenie leczenia operacyjnego szacuje się na 70–90% w zależności od typu złamania i metody chirurgicznej [3]. Możliwości stymulowania zrostu kostnego metodami fizykalnymi są badane od wielu lat. W przypadkach braku lub opóźnienia zrostu kostnego, kiedy leczenie chirurgiczne nie jest wymagane z powodu zadowalającej stabilizacji złamania i odległości pomiędzy odłamami, zastosowanie znajdują nowe metody fizykalne. Elektroterapia, terapia pozaustrojową falą uderzeniową, czy pulsacyjne ultradźwięki o małym natężeniu LIPUS (ang. *low-intensity pulsed ultrasound*) mogą pozytywnie wpływać na opóźniony zrost kostny [4]. W pulsacyjnych ultradźwiękach LIPUS wyeliminowano oddziaływanie termiczne. Stosowana wartość gęstości mocy jest niższa od $0,1 \text{ W/cm}^2$ [5, 6, 7, 8]. LIPUS może więc znaleźć zastosowanie we wspomaganiu leczenia opóźnionego lub braku zrostu kostnego [9, 10, 11].

Osteoblasty są komórkami nie tylko budującymi tkankę kostną, ale również regulującymi jej przebudowę. Są również wrażliwe na działanie bodźców mechanicznych [11, 12, 13]. Działanie pulsacyjnych ultradźwięków LIPUS na osteoblasty może wpływać na błonowe kanały komórkowe, regulując transport jonów, a w konsekwencji zmienić odpowiedź komórkową [14, 15, 16, 17]. Zachodzące pod wpływem LIPUS procesy są nadal przedmiotem wielu dyskusji [18]. Niniejszy przegląd poświęcony jest skuteczności działania ultradźwięków pulsacyjnych jako potencjalnie nowego czynnika w zachowawczym leczeniu opóźnionego zrostu kostnego lub jego braku. Celem niniejszej pracy jest analiza dostępnych doniesień na temat wpływu LIPUS na skuteczność leczenia i terapii w przypadku opóźnionego zrostu kostnego lub jego braku.

2. Materiał i metody

Przeprowadzono elektroniczne wyszukiwanie w bazie *Web of Knowledge* poczynając od roku 2001 a kończąc na roku 2012. Przy wyszukiwaniu posłużono się kombinacją czterech słów kluczowych z włączoną lematyzacją (przeszukiwanie wielu form gramatycznych szukanego wyrazów): *LIPUS*, *bone*, *soft tissue*, *healing*. Uzyskane wyniki zostały przesortowane pod względem liczby cytowań od największej do najmniejszej. Dla uzyskanych wyników został stworzony raport cytowań z określeniem indeksu Hirscha, który w tym wypadku wynosił 23. Opcjami włączającymi daną publikację do dalszego przeglądu były: dostępność do pełnotekstowej wersji artykułu (Lista A-Z Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu), język angielski lub polski publikacji. Prace nie mogły mieć charakteru badania teoretycznego, bądź pochodzić z materiałów pokonferencyjnych. Metodologiczna jakość dostępnych artykułów została oceniona 18-stopniową zmodyfikowaną skalą służącą do oceny badań randomizowanych i bez randomizacji [19, 20]. Kolejnym etapem selekcji publikacji była ocena przeprowadzonych interwencji badawczych. Użyta skala ocenia trzy główne

domeny: kryteria wewnętrznej wartości (1A i 1B), kryteria opisowe (2) i kryteria statystyczne (3).

Dalszemu postępowaniu zostały poddane jedynie prace, których punktacja z kryteriów 1 i 2 wynosiła co najmniej 8 na 14 punktów możliwych do uzyskania.

3. Wyniki

Na 197 publikacji w bazie *Web of Knowledge* 10 spełniało kryteria stworzone na potrzeby tego przeglądu. 10% stanowiły badania sklasyfikowane jako A (co najmniej 12 punktów i zastosowanie próby ślepej), 30% otrzymało punktację spełniającą kryteria B (co najmniej 12 punktów bez zastosowania próby ślepej), a największą grupę 60% stanowiły badania sklasyfikowane jako C (co najmniej 10 punktów bez zastosowania próby ślepej). Celem ujednoczenia prezentacji wyników posłużono się algorytmem zgodnym z oświadczeniem QUOROM, który standardowo służy do tworzenia metaanaliz randomizowanych badań klinicznych [21]. Wyniki punktacji kryteriów oceny prezentują odpowiednio tabele 1 i 2.

Tabela 1. Klasyfikacja artykułów z podziałem na kryteria (na podstawie [22, 23, 24, 25, 26])

Autor	Badany parametr	Materiał	Dobór materiału	Czynności badawcze	Wyniki pomiarów	Statystyka	Wynik	Klasyfikacja publikacji
			A	B	C	D		
Ikeda K.	różnicowanie pluripotencjalnych komórek mezynchemalnych pod wpływem LIPUS	komercyjne linie komórkowe C ₂ C ₁₂	2	3	4	3	12	B
Iwashina T.	wpływ stymulacji LIPUS na proliferację komórek i produkcję proteoglikanów	króliki (New Zealand)	2	3	3	3	11	C
Rutten S.	wpływ LIPUS na proces gojenia tkanki kostnej; analiza histologiczna i histomorfometryczna	9 kobiet, 4 mężczyzn	4	4	6	3	17	A
Chan C.W.	wpływ LIPUS na osteogenezę dystrykcyjną	18 królików (New Zealand)	2	3	3	3	11	C
Takayama T.	krótko- oraz długotrwałe efekty działania LIPUS na ekspresję genów osteogenezy oraz proliferacji komórek i aktywność ALPase	linie komórkowe ROS 17/2.8	2	3	3	2	10	C

Tabela 2. Klasyfikacja czasopism z podziałem na kryteria (na podstawie [27, 28, 29, 30, 31])

Autor	Badany parametr	Materiał	Dobór materiału	Czynności badawcze	Wyniki pomiarów	Statystyka	Wynik	Klasyfikacja publikacji
			1A	1B	2	3		
Sakurakichi K.	określenie optymalnego czasu użycia LIPUS po osteotomii dystrakcyjnej	75 królików japońskich	2	3	3	3	11	C
Chan C.W.	wpływ LIPUS na przyspieszoną osteogenezę dystrakcyjną (wydłużenie 2 mm dziennie)	18 królików (New Zealand)	2	3	3	3	11	C
Jingushi S.	prospektywne badanie nad przydatnością LIPUS po złamaniach kości długich w Japonii w 2003 roku	52 mężczyzn, 20 kobiet	2	2	4	3	11	C
Saito M.	ocena różnych poziomów intensywności LIPUS na metabolizm kolagenu i mineralizację osteoblastów	komórki osteoblastów MC3T3-E1	2	3	4	3	12	B
Qin L.	wpływ LIPUS na potencjalne właściwości leczenia kompleksu kość - ścięgno rzepki	16 królików (New Zealand)	2	3	4	3	12	B

4. Dyskusja

Etiologia złamań jest zróżnicowana – od złamań zmęczeniowych (powolnych), będących efektem długotrwałych przeciążeń, po złamania awulsyjne, jako skutek gwałtownego działania dużej siły. Postępowanie jest uzależnione od typu oraz lokalizacji złamania. Leczenie zachowawcze polega na unieruchomieniu dwóch sąsiednich stawów w przypadku złamania pełnego, bądź ograniczenie aktywności przy złamaniu powolnym bądź złamaniu niepełnym. Wszelkie działania zmierzające do skrócenia czasu absencji pacjenta, w pracy czy życiu codziennym, są w opinii autorów niezwykle cenne i godne uwagi.

4.1. Linie komórkowe

Pulsacyjne ultradźwięki o małym natężeniu (LIPUS) są w stanie przyspieszyć regenerację zrostu kostnego, jednak dokładny mechanizm ich wpływu na komórki nie jest jasny. Ikeda i in. przedstawili pracę dotyczącą wpływu LIPUS na komercyjne linie komórkowe C₂C₁₂ [22]. Założeniem, było określenie wpływu stymulacji LIPUS na poziom ekspresji białek oraz końcowego różnicowania wyżej wymienionych linii. Wcześniejsze badania *in vitro* wykazały wzrost ekspresji mRNA kolagenu II oraz X po stymulacji ultradźwiękami o małym natężeniu [32]. Autorzy badali stosowanie stymulacji w chorobach przyzębia, a dokładniej prowadzili badania nad wpływem ultradźwięków na pluripotencjalne komórki mezychymalne więzadeł przyzębia. Przeprowadzone badania dowodzą przydatności w leczeniu chorób przyzębia, w których dochodzi do ubytku tkanki kostnej, a główną zaletą metody jest nieinwazyjność i pozytywny wpływ na pluripotencjalne komórki mezychymalne,

biorące udział w regeneracji tkanki kostnej utraconej w wyniku procesu chorobowego.

Takayama wraz ze współpracownikami prześledzili mechaniczny wpływ LIPUS na choroby przyzębia [26]. Ze względu na często raportowane pozytywne skutki wpływu ultradźwięków o małym natężeniu, autorzy postanowili zbadać wpływ stymulacji LIPUS na funkcjonowanie osteoblastów w kościach wyrostka zębowego. Jako materiał badawczy posłużyły linie komórkowe szczurów ROS 17/2.8 kostniakomięsaka. Potwierdzono wpływ LIPUS na wczesną odpowiedź genów związanych z osteogenezą, a w szczególności osteoblastów, po 20-minutowej stymulacji. Rezultaty tego badania wskazują pozytywny wpływ stymulacji ultradźwiękami o małym natężeniu na komórki kości i szybsze zmineralizowanie kostniny.

Saito i in. przeprowadzili badanie nad skutkami natężenia pulsacyjnych ultradźwięków, powołując się na badania przeprowadzone przez Yanga [33]. Celem badania była ocena wpływu różnych poziomów natężenia LIPUS (natężenie niższe od 30 mW/cm^2 vs. natężenie wyższe od 120 mW/cm^2) na mineralizację i metabolizm kolagenu komórek osteoblastów MC3T3-E1. Wyniki badania sugerują dobre skutki działania ultradźwięków o natężeniu 30 mW/cm^2 (promowanie osadzania wapnia oraz syntezę kolagenu), niezauważalne przy bodźcu o natężeniu 120 mW/cm^2 .

4.2. Model zwierzęcy

Osteogeneza dystrakcyjna jest zabiegiem służącym do korekcji deformacji kości, przez przerwanie jej ciągłości (poza okostną) i powolne oddalanie od siebie fragmentów złamania, co powoduje stymulację tkanki kostnej i pobudzenie wzrostu [34]. Chan i in. badali wpływ LIPUS na osteogenezę dystrakcyjną [28]. Autorzy uważają (na podstawie badań syntezy osteokalcyny pod wpływem LIPUS), że metoda ta może mieć pozytywny wpływ na tworzenie się kostniny podczas szybkiej dystrakcji (1,3 mm wydłużenia dziennie) [35]. Badali też wpływ różnego czasu trwania zabiegu za pomocą ultradźwięków na proces formowania kości. Wyniki badań przemawiają za korzystnym wpływem wydłużonego czasu ekspozycji tkanek na LIPUS, zwłaszcza podczas pierwszego tygodnia szybkiej osteogenezy dystrakcyjnej.

Sakurakichi i in. określali optymalny czasu zabiegu za pomocą LIPUS i badali wpływ na proces tworzenia się kości, w aspekcie różnych etapów osteotomii dystrakcyjnej [27]. Autorzy oceniali też doniesienia z badań nad pozytywnym wpływem LIPUS na proces dojrzewania komórek kości, w których wykorzystany był model zwierzęcy. Zauważono jednak, że czas oddziaływania ultradźwięków nie był podany w odniesieniu do etapu przeprowadzanego badania [36]. Wyniki eksperymentu przemawiają za użyciem LIPUS w fazie wydłużania. Rezultaty sugerują również stymulujący wpływ LIPUS na: osteoblasty, dorosłe komórki mezychymalne oraz chondrocyty.

Lokalizacja złamania i rozchodzenie się fali ultradźwiękowej sprawiają, że skutki wpływu stymulacji pulsacyjnymi ultradźwiękami o małym natężeniu są różne i uzależnione są od głębokości złamania. Powierzchnowe efekty stymulacji kości przez LIPUS przyczyniają się do tworzenia nowej kostniny, natomiast głębokie do polepszenia mineralizacji nowo powstałej tkanki kostnej [37]. Qin i in. zajęli się problemem złamań rzepki w aspekcie wydłużonego czasu unieruchomienia i opóźnionej rehabilitacji [31]. Założeniem pracy było stwierdzenie, że LIPUS może (oprócz stymulacji osteogenezy i formowania blizny) pozytywnie wpłynąć na jakość chrząstki włóknistej, jak również poprawić opóźniony zrost kostny [38, 39]. W wyniku przeprowadzonego eksperymentu wykazano, że LIPUS przyczynił się do zwiększenia twardości materiału badawczego w teście Vickersa. Wyniki mogą posłużyć w praktyce klinicznej do zmniejszenia czasu unieruchomienia pacjentów po załamaniu rzepki, co umożliwi szybsze podjęcie leczenia usprawniającego. Również gojenie często współistniejącego uszkodzenia połączenia ścięgna i kości stawu rzepkowo-udowego pod wpływem LIPUS ulega przyspieszeniu [40]. Iwashina i in. przedstawili wpływ LIPUS na komórki jądra miażdżystego i pierścienia włóknistego krążka międzykręgowego królików, analizując badania Parviziego [15]. Badania te sugerowały pozytywny wpływ stymulacji ultradźwiękami o małym natężeniu na agregację chondrocytów. Chondrocyty posiadają zbliżoną (nie taką samą) budowę do komórek jądra miażdżystego i pierścienia włóknistego krążka międzykręgowego, stąd hipotetyczne założenie zbliżonego działania. W wyniku przeprowadzonych procedur badawczych sformułowano wnioski mówiące o pozytywnym wpływie LIPUS na komórki krążka międzykręgowego królików. Potwierdzono również pozytywny wpływ na proliferację komórek oraz zwiększenie produkcji

proteoglikanów.

4.3. Badania nad wpływem LIPUS na tkankę kostną

W przedstawionych artykułach autorzy w większości skupiają się na nowym zastosowaniu pulsacyjnych ultradźwięków o małym natężeniu, głównie badając dawki i czasu działania, w aspekcie utrudnionego lub braku zrostu kostnego. W przypadku fizjoterapii konieczne jest należyte potwierdzenie korzyści tej metody. Należy wspomnieć również, że badaniom nad wpływem LIPUS w przypadku uszkodzenia tkanek miękkich lub badaniu działania przeciwwzapalnego (podstawowe wskazania do terapii ultradźwiękowej) poświęcono wiele miejsca w piśmiennictwie światowym [41, 42, 43, 44, 45]. W przypadku złamań głównymi czynnikami wpływającymi na wyniki leczenia pulsacyjnymi ultradźwiękami o małym natężeniu są: stabilność złamania, odległość między odłamami i zanik zrostu kostnego. Jak wcześniej wspomniano, „złotym standardem” leczenia opóźnionego lub braku zrostu kostnego pozostaje leczenie chirurgiczne, które może być wspomagane przez pulsacyjne ultradźwięki o małym natężeniu (LIPUS) [46]. Rutten i in. w swoim badaniu skupili się na ocenie wpływu LIPUS na gojenie złamań na poziomie tkanek u pacjentów z opóźnionym zrostem kostnym kości strzałkowej (potencjalnie przyspieszenie angio- i chondrogenyzy), wykorzystując do oceny parametry histologiczny i analizę histomorfometryczną [24]. Do badania zostało zakwalifikowanych 13 pacjentów. W obszarze tworzenia się nowej kostniny, LIPUS doprowadził do 47% wzrostu osteoidu, dodatkowo całkowita objętość kości zwiększyła się o 33%, a szybkości odkładania minerałów o 27%. Liczba naczyń krwionośnych nie zwiększyła się w sposób istotny statystycznie.

Badania o wysokim poziomie wiarygodności klinicznej potwierdzają użyteczność LIPUS w procesie naprawy złamań [47]. Jednak brak jest nadal jasnych wskazań do stosowania tej metody leczniczej. W celu przybliżenia wskazań do wykorzystania LIPUS w przypadku braku lub opóźnieniu zrostu kostnego, Jingushi i in. przeprowadzili badanie ogólnokrajowe w Japonii w 2003 roku celem wyjaśnienia czynników wpływających na opóźniony lub brak zrostu kostnego [29]. Wyniki badania sugerują, że czas włączenia LIPUS do leczenia opóźnionego lub braku zrostu kostnego odgrywał istotną rolę w osiągnięciu dobrych efektów klinicznych. Autorzy zalecają użycie LIPUS w ciągu 6 miesięcy od ostatniego leczenia operacyjnego, w celu optymalizacji wyników leczenia. Podobne badanie przeprowadzone pomiędzy 2009 i 2010 rokiem potwierdza natomiast, że w przypadku świeżych złamań podudzia brak jest dowodów na skuteczność włączenia pulsacyjnych ultradźwięków o małym natężeniu. Jedynym wyjątkiem były stabilne złamania wieloodłamowe, gdzie stymulacja LIPUS skróciła czas zrostu kostnego o około 30% [46].

5. Podsumowanie

Celem współczesnej fizjoterapii oraz chirurgii urazowej jest wybór takiego postępowania terapeutycznego, które do niezbędnego minimum skróci czas wyłączenia z fizycznej aktywności pacjenta, tym samym przybliżając moment powrotu do stanu sprzed urazu. Od czasu zaprezentowania terapii z wykorzystaniem ultradźwięków stała się ona jedną z najbardziej dostępnych metod i jednocześnie często stosowaną metodą fizjoterapii [43, 48]. Dowody korzystnego wpływu LIPUS na prawidłowo przebiegający proces gojenia się złamań mają znaczenie kliniczne w codziennej praktyce fizjoterapeuty, zajmującego się m.in. urazami narządu ruchu. Badania, głównie przedkliniczne, dowodzą przydatności stosowania LIPUS w przypadku opóźnionego lub braku zrostu kostnego również w osteoporotycznie zmienionej tkance [49, 50].

Pulsacyjne ultradźwięki o małym natężeniu (LIPUS) w pozytywny sposób wpływają na tkanki i komórki zaangażowane w proces odbudowy tkanki kostnej w przypadku opóźnionego lub braku zrostu kostnego. Dane literaturowe przemawiają za pozytywnym wpływem stymulacji LIPUS na proces osteogenezy tkanki niezmięnionej chorobowo. W przypadku pełniejszego ugruntowania dowodów nad przydatnością LIPUS w leczeniu wybranych urazów narządu ruchu, terapia ta może znaleźć zastosowanie w szeroko rozumianej ortopedii i fizjoterapii.

6. Wnioski

1. Wszelkie merytorycznie udokumentowane i uzasadnione formy terapii prowadzące do przyspieszenia procesu naprawy uszkodzonej tkanki kostnej są ważne i godne polecenia.
2. W przedstawionych artykułach autorzy w większości skupiają się na nowym zastosowaniu ultradźwięków – głównie w przypadkach opóźnionego zrostu kostnego lub jego braku.
3. Pozytywny wpływ pulsacyjnych ultradźwięków o małym natężeniu (LIPUS) może zostać wykorzystany w leczeniu zachowawczym jako uzupełnienie leczenia chirurgicznego.

LITERATURA

- [1] J.D. Heckman, J. Sarasohn-Kahn: *The economics of treating tibia fractures. The cost of delayed unions*, Bulletin Hospital for Joint Diseases, vol. 56(1), 1997, s. 63–72.
- [2] C.L. Romano, D. Romano, N. Logoluso: *Low-Intensity Pulsed Ultrasound for the treatment of bone delayed union or nonunion: a review*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 35(4), 2009, s. 529–536.
- [3] W.L. Healy, J.B. Jupiter, T.K. Kristiansen, R.R. White: *Nonunion of the proximal humerus. A review of 25 cases*, Journal of Orthopaedic Trauma, vol. 4(4), 1990, s. 424–431.
- [4] J.D. Rompe, T. Rosendahl, C. Schollner, C. Theis: *Nigh-energy extracorporeal shock wave treatment of nonunions*, Clinical Orthopaedics and Related Research, vol. 387, 2001, s. 102–111.
- [5] S.D. Cook, S.L. Salkeld, L.S. Popich-Patron, J.P. Ryaby, D.G. Jones, R.L. Barrack: *Improved cartilage repair after treatment with low-intensity pulsed ultrasound*, Clinical Orthopaedics and Related Research, vol. 391, 2001, s. 231–243.
- [6] O. Aynaci, C. Onder, A. Piskin, Y. Ozoran: *The effect of ultrasound on the healing of muscle-pediculated bone graft in spinal fusion*, Spine, vol. 27(14), 2002, s. 1531–1535.
- [7] M. Hadjiargyrou, K. McLeod, J.P. Ryaby, C. Rubin: *Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound*, Clinical Orthopaedics and Related Research, vol. 355, 1998, s. 216–229.
- [8] S.J. Warden: *A new direction for ultrasound therapy in sports medicine*, Sports Medicine, vol. 33(2), 2003, s. 95–107.
- [9] N.A. Walker, C.R. Denegar, J. Preische: *Low-intensity pulsed ultrasound and pulsed electromagnetic field in the treatment of tibial fractures: A systematic review*, Journal of Athletic Training, vol. 42(4), 2007, s. 530–535.
- [10] W.H. Cheung, S.K.H. Chow, M.H. Sun, L.Qin, K.S. Leung: *Low-intensity pulsed ultrasound accelerated callus formation, angiogenesis and callus remodeling in osteoporotic fracture healing*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 37(2), 2011, s. 231–238.
- [11] A. Khanna, R.T.C. Nelmes, N. Gougoulas, N. Maffulli, J. Gray: *The effects of LIPUS on soft-tissue healing: a review of literature*, British Medical Bulletin, vol. 89(1), 2009, s. 169–182.
- [12] J. Nakao, Y. Fujii, J. Kusuyama, K. Bandow, K. Kakimoto, T. Ohnishi, T. Matsuguchi: *Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) inhibits LPS-induced inflammatory responses of osteoblasts through TLR4-MyD88 dissociation*, Bone, vol. 58, 2014, s. 17–25.
- [13] Y. Watanabe, Y. Arai, N. Takenaka, M. Kobayashi, T. Matsushita: *Three key factors affecting treatment results of low-intensity pulsed ultrasound for delayed unions and nonunions: instability, gap size, and atrophic nonunion*, Journal of Orthopaedic Science, vol. 18(5), 2013, s. 803–810.
- [14] W.L. Nyborg: *Biological effects of ultrasound: Development of safety guidelines. Part II: General review*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 27(3), 2001, s. 301–333.
- [15] J. Parvizi, C.C. Wu, D.G. Lewallen, J.F. Greenleaf, M.E. Bolander: *Low-intensity ultrasound stimulates proteoglycan synthesis in rat chondrocytes by increasing aggrecan gene expression*, Journal of Orthopaedic Research, vol. 17(4), 1999, s. 488–494.
- [16] P. Pohl, E. Rosenfeld, R. Millner: *Effects of ultrasounds on the steady-state transmembrane ph gradient and the permeability of acetic-acid through bilateral lipid-membranes*, Biochimica Et Biophysica Acta, vol. 1145(2), 1993, s. 279–283.
- [17] P. Reher, M. Harris, M. Whiteman, H.K. Hai, S. Meghji: *Ultrasound stimulates nitric oxide and prostaglandin E-2 production by human osteoblasts*, Bone, vol. 31(1), 2002, s. 236–241.
- [18] K.G. Baker, V.J. Robertson, F.A. Duck: *A review of therapeutic ultrasound: Biophysical effects*, Physical Therapy, vol. 81(7), 2001, s. 1352–1358.
- [19] M.W. vanTulder, W.J.J. Assendelft, B.W. Koes, L.M. Bouter: *Method guidelines for systematic reviews in the Cochrane Collaboration back review group for spinal disorders*, Spine, vol. 22(20), 1997, s. 2323–2330.
- [20] A.P. Verhagen, H.C.W. de Vet, R.A. de Bie, A.G.H. Kessels, M. Boers, L.M. Bouter, P.G. Knipschild: *The delphi list: A criteria list for quality assessment of randomized clinical trials for conducting systematic reviews developed by Delphi -consensus*, Journal of Clinical Epidemiology, vol. 51(12), 1998, s. 1235–1241.
- [21] D. Moher, D.J. Cook, S. Eastwood, I. Olkin, D. Rennie, D.F. Stroup, Q. Grp: *Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement*, Lancet, vol. 354(9193), 1999, s. 597–602.
- [22] K. Ikeda, T. Takayama, N. Suzuki, K. Shimada, K. Otsuka, K. Ito: *Effects of low-intensity pulsed ultrasound on the differentiation of C2C12 cells*, Life Sciences, vol. 79(20), 2006, s. 1936–1943.
- [23] T. Iwashina, J. Mochida, T. Miyazaki, T. Watanabe, S. Iwabuchi, K. Ando, T. Hotta, D. Sakai: *Low-intensity pulsed*

- ultrasound stimulates cell proliferation and proteoglycan production in rabbit intervertebral disc cells cultured in alginate*, *Biomaterials*, vol. 27(3), 2006, s. 354–361.
- [24] S. Rutten, P.A. Nolte, C.M. Korstjens, M.A. van Duin, J. Klein-Nulend: *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*, *Bone*, vol. 43(2), 2008, s. 348–354.
- [25] C.W. Chan, L. Qin, K.M. Lee, M. Zhang, J.C.Y. Cheng, K.S. Leung: *Low intensity pulsed ultrasound accelerated bone remodeling during consolidation stage of distraction osteogenesis*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 24(2), 2006, s. 263–270.
- [26] T. Takayama, N. Suzuki, K. Ikeda, T. Shimada, A. Suzuki, M. Maeno, K. Otsuka, K. Ito: *Low-intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic differentiation in ROS 17/2.8 cells*, *Life Sciences*, vol. 80(10), 2007, s. 96–971.
- [27] K. Sakurakichi, H. Tsuchiya, K. Uehara, T. Yamashiro, K. Tomita, Y. Azuma: *Effects of timing of low-intensity pulsed ultrasound on distraction osteogenesis*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 22(2), 2004, s. 395–403.
- [28] C.W. Chan, L. Qin, K.M. Lee, W.H. Cheung, J.C.Y. Cheng, K.S. Leung: *Dose-dependent effect of low-intensity pulsed ultrasound on callus formation during rapid distraction osteogenesis*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 24(11), 2006, s. 2071–2079.
- [29] S. Jinguishi, K. Mizuno, T. Matsushita, M. Itoman: *Low-intensity pulsed ultrasound treatment for postoperative delayed union or nonunion of long bone fractures*, *Journal of Orthopaedic Science*, vol. 12(1), 2007, s. 35–41.
- [30] M. Saito, S. Soshi, T. Tanaka, K. Fujii: *Intensity-related differences in collagen post-translational modification in MCM-E1 osteoblasts after exposure to low- and high-intensity pulsed ultrasound*, *Bone*, vol. 35(3), 2004 s. 644–655.
- [31] L. Qin, P. Fok, H.B. Lu, S.Q. Shi, Y. Leng, K.S. Leung: *Low intensity pulsed ultrasound increases the matrix hardness of the healing tissues at bone-tendon insertion – a partial patellectomy model in rabbits*, *Clinical Biomechanics*, vol. 21(4), 2006, s. 387–394.
- [32] S. Mukai, H. Ito, Y. Nakagawa, H. Akiyama, M. Miyamoto, T. Nakamura: *Transforming growth factor-beta(1) mediates the effects of low-intensity pulsed ultrasound in chondrocytes*, *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 31(12), 2005, s. 1713–1721.
- [33] K.H. Yang, J. Parvizi, S.J. Wang, D.G. Lewallen, R.R. Kinnick, J.F. Greenleaf, M.E. Bolander: *Exposure to low-intensity ultrasound increases aggrecan gene expression in a rat femur fracture model*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 14(5), 1996, s. 802–809.
- [34] Y.Y. Wu, R. Lucking, R. Oberreuter, K. Shimada: *New Distraction Osteogenesis Device With Only Two Patient-Controlled Joints by Applying the Axis-Angle Representation on Three-Dimensional Bone Deformation*, *Journal of Medical Devices*, vol. 7(4), 2013, doi: 10.1115/1.4025186.
- [35] K.S. Leung, W.S. Lee, H.F. Tsui, P.P.L. Liu, W.H. Cheung: *Complex tibial fracture outcomes following treatment with low-intensity pulsed ultrasound*, *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 30(3), 2004, s. 389–395.
- [36] E. Mayr, A. Laule, G. Suger, A. Ruter, L. Claes: *Radiographic results of callus distraction aided by pulsed low-intensity ultrasound*, *Journal of Orthopaedic Trauma*, vol. 15(6), 2001, s. 407–414.
- [37] C.H. Fung, W.H. Cheung, N.M. Pounder, F.J. de Ana, A. Harrison, K.S. Leung: *Investigation of rat bone fracture healing using pulsed 1.5 MHz, 30 mW/cm² burst ultrasound - Axial distance dependency*, *Ultrasonics*, vol. 54(3), 2014, s. 850–859.
- [38] F.R.T. Nelson, C.T. Brighton, J. Ryaby, B.J. Simon, J.H. Nielson, D.G. Lorch, M. Bolander, J. Seelig: *Use of physical forces in bone healing*, *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, vol. 11(5), 2003, s. 344–354.
- [39] K. Naito, T. Watari, T. Muta, A. Furuhashi, H. Iwase, M. Igarashi, H. Kurosawa, I. Nagaoka, K. Kaneko: *Low-Intensity Pulsed Ultrasound (LIPUS) Increases the Articular Cartilage Type II Collagen in a Rat Osteoarthritis Model*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 28(3), 2010, s. 361–369.
- [40] J. Hu, J. Qu, D. Xu, T. Zhang, L. Qin, H. Lu: *Combined Application of Low-Intensity Pulsed Ultrasound and Functional Electrical Stimulation Accelerates Bone-Tendon Junction Healing in a Rabbit Model*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 32(2), 2014, s. 204–209.
- [41] H. Omi, J. Mochida, T. Iwashina, R. Katsuno, A. Hiyama, T. Watanabe, K. Serigano, S. Iwabuchi, D. Sakai: *Low-intensity pulsed ultrasound stimulation enhances TIMP-1 in nucleus pulposus cells and MCP-1 in macrophages in the rat*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 26(6), 2008, s. 865–871.
- [42] S. Iwabuchi, M. Ito, J. Hata, T. Chikanishi, Y. Azuma, H. Haro: *In vitro evaluation of low-intensity pulsed ultrasound in herniated disc resorption*, *Biomaterials*, vol. 26(34), 2005, s. 7104–7114.
- [43] J. Li, L.J. Waugh, S.L. Hui, D.B. Burr, S.J. Warden: *Low-intensity pulsed ultrasound and nonsteroidal anti-inflammatory drugs have opposing effects during stress fracture repair*, *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 25(12), 2007, s. 1559–1567.
- [44] Y. Takakura, N. Matsui, S. Yoshiya, H. Fujioka, H. Muratsu, M. Tsunoda, M. Kurosaka: *Low-intensity pulsed ultrasound enhances early healing of medial collateral ligament injuries in rats*, *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol. 21(3), 2002, s. 283–288.
- [45] S.D. Cook, S.L. Salkeld, L.P. Patron, E.S. Doughty, D.G. Jones: *The effect of low-intensity pulsed ultrasound on autologous osteochondral plugs in a canine model*, *American Journal of Sports Medicine*, vol. 36(9), 2008, s. 1733–1741.
- [46] Y. Kinami, T. Noda, T. Ozaki: *Efficacy of low-intensity pulsed ultrasound treatment for surgically managed fresh diaphyseal fractures of the lower extremity: multi-center retrospective cohort study*, *Journal of Orthopaedic Science*, vol. 18(3), 2013, s. 410–418.
- [47] J.D. Heckman, J.P. Ryaby, J. McCabe, J.J. Frey, R.F. Kilcoyne: *Acceleration of tibial fracture-healing by noninvasive, low-intensity pulsed ultrasound*, *Journal of Bone and Joint Surgery*, vol. 76A(1), 1994, s. 26–34.
- [48] D. van der Windt, G. van der Heijden, S.G.M. van den Berg, G. ter Riet, A.F. de Winter, L.M. Bouter: *Ultrasound*

- therapy for musculoskeletal disorders: A systematic review*, Pain, vol. 81(3), 1999, s. 257–271.
- [49] W.H. Cheung, W.C. Chin, L. Qin, K.S. Leung: *Low intensity pulsed ultrasound enhances fracture healing in both ovariectomy-induced osteoporotic and age-matched normal bones*, Journal of Orthopaedic Research, vol. 30(1), 2012, s. 129–136.
- [50] K. Kumagai, R. Takeuchi, H. Ishikawa, Y. Yamaguchi, T. Fujisawa, T. Kuniya, S. Takagawa, G. F. Muschler, T. Saito: *Low-intensity pulsed ultrasound accelerates fracture healing by stimulation of recruitment of both local and circulating osteogenic progenitors*, Journal of Orthopaedic Research, vol. 30(9), 2012, s. 1516–1521.

otrzymano / submitted: 13.10.2013

wersja poprawiona / revised version: 28.01.2014

ponownie poprawione / new revisions 11.03, 13.03, 01.08.2014

zaakceptowano / accepted: 01.09.2014