한국전문물리치료학회지 제9권 제1호
KAUTPT Vol. 9 No. 1 2002.

토끼모델에서 저강도 맥동초음파가 골절치유에 미치는 영향

김종만
서남대학교 보건학부 물리치료학과
이충휘, 조상현
연세대학교 보건과학대학 재활학과 및 보건과학연구소
박정미
연세대학교 원주의과대학 재활의학교실
권혁철
대구대학교 재활과학대학 재활과학과
황태선
포천중문 의과대학교 해부학교실

Abstract

The Effect of Low-Intensity Pulsed Ultrasound on Fracture Healing in the Rabbit Model

Kim Jong-man, Ph.D., P.T., O.T.
Dept. of Physical Therapy, Division of Health, Seonam University
Yi Chung-hwi, Ph.D., P.T.
Cho Sang-hyun, Ph.D., M.D.
Dept. of Rehabilitation Therapy, College of Health Science,
Yonsei University Institute of Health Science, Yonsei University
Park Jung-mi, Ph.D., M.D.
Dept. of Rehabilitation Medicine, Wonju Christian Hospital
Wonju College of Medicine, Yonsei University
Kwon Hyuk-cheol, Ph.D., P.T., O.T.
Dept. of Rehabilitation Technology, College of Rehabilitation Science, Taegu University
Hwang Tae-sun, M.D., Ph.D.
Dept. of Anatomy, College of Medicine, Pocheon CHA University

The purpose of this research was to determine the effects on the healing of fibular fractures in rabbits of low-intensity pulsed ultrasound (50 ㎽/㎠ and 500 ㎽/㎠) applied for periods of 4, 14 and 24 days following fibular osteotomy. Thirty-six male Japanese white rabbits were randomly divided into three groups of twelve for three treatment protocols: (1) ultrasound treatment at intensities of 50 ㎽/㎠ and 500 ㎽/㎠

until the 4th day following fibular osteotomy, (2) ultrasound treatment at intensities of 50 ㎽/㎠ and 500 ㎽/㎠ until the 14th day following fibular osteotomy, and (3) ultrasound treatment at intensities of 50 ㎽/㎠ and 500 ㎽/㎠ until the 24th day following fibular osteotomy. The low-intensity pulsed ultrasound was applied to only one fibula of each rabbit (these served as the experimental group). The other fibula of each rabbit served as the control group. The selection of which fibula was to be treated was made randomly. The animals were sacrificed on the 4th, 14th and 24th day after the start of ultrasound treatments. Percent of trabecular bone area and fibular radiography were carried out to compare the degree of fibular bone healing. A microscope was also used to determine any histologic changes. For statistical differences in radiological changes due to length of treatment period (4, 14 and 24 days respectively), the Wilcoxon signed-ranks test was used to compare the experimental and control groups. For statistical differences in fracture healing due to differences in ultrasound intensity, radiological studies were compared using the Mann-Whitney Test. And, to compute percentage differences in areas of trabecular bone, Two-way analysis of variance (ultrasound intensity x each group) was used. Experiment results were as follows: 1. In animals sacrificed on the 4th day, no difference was found in the radiological studies of the fibulae in the experimental and control groups ($p>.05$). However, experimental groups showed more rapid bone repair than control group. 2. Both radiographic and percent of trabecular bone area studies showed significant differences in rabbits sacrificed after 14 days. Fracture healing was significantly increased in the experimental group ($p<.05$) 3. In the animals sacrificed on the 24th day, histologic study showed rapid bone repair but fibular radiologic studies did not show statistical differences between the two groups ($p>.05$). 4. On the 14th day, bone union on radiograph was significantly more rapid in the treatment group with pulsed ultrasound of 50 ㎽/㎠ than the group with 500 ㎽/㎠ ($p<.05$). Histologic studies showed that both the 14 and 24 days groups had more rapid bone repair in animals treated with 50 ㎽/㎠ ultrasound intensity than those treated with 500 ㎽/㎠ intensity. In conclusion, it has been shown that the low-intensity pulsed ultrasound has a positive effect on bone fracture healing in the early stage and the range of pulse ultrasound from 50 ㎽/㎠ to 500 ㎽/㎠ is effective for fracture healing. Further study is needed to investigate the influence of pulsed ultrasound on delayed union and non-union in bone fractures and also for the clinical use of low-intensity pulsed ultrasound for bone healing in humans.

Key Words: Fracture healing; Low-intensity pulsed ultrasound.

Ⅰ. 서론

초음파는 의료분야에서 치료, 수술, 그리고 진단 영역에서 다양하게 사용되고 있다(Ziskin, 1987). 수술용 초음파는 5~300 W/㎠ 강도의 초음파 신호를 전달하여 조직 내에 열을 생성하는 고강도 초음파로서 백내장과 같은 손상조직을 절단하고 결석을 파괴하는데 이용되고 있다. 진단용 초음파는 조직에 과도한 열 생성을 피하기 위하여 5~50 ㎽/㎠의 저강도를 사용하며, 태아의 상태와 혈관과 같은 중요한 기관의 검사 및 말초혈류량 연구에 이용되고 있다(Hadjiargyrou 등, 1998; Heckman 등, 1994). 치료용 초음파의 강도는 조직에 열 효

과와 생물학적 효과를 일으킨다. 이 중에서 물리치료에서 사용되는 전통적인 초음파 치료는 주로 1~3 W/㎠의 강도로, 통증과 근경축(muscle spasm)을 완화시키고, 관절강직(joint stiffness)을 감소시켜 움직임을 원활하게 하는데 도움이 된다(Einhorn, 1995).

종래의 전기치료는 약화된 근육을 자극하거나 통증을 치료하는데 이용되어 왔으나 근래에 이르러 초음파나 생체전기를 사용하여 손상된 조직의 수복(repair), 성장(growth), 그리고 재생(regeneration)을 촉진시키는 골절치유에 대한 많은 연구가 진행되고 있다(Brighton, 1998). 1965년에 Knoch와 Klug이 최초로 저강도 초음파를 사용하여 동물모델에서의 골절치유에 응용하여, 초음파가 골절면에 부딪칠 때 골표면의 압전위(piezoelectric potential)를 변화시켜 가골형성을 촉진시키는 것을 발견하였다(Knoch와 Klug, 1990). 그 후 Xavier와 Durate(1983)가 처음으로 뼈의 모든 유합과정이 정지된 불유합 환자를 대상으로 저강도 맥동초음파(pulsed ultrasound)를 사용하여 골유합 기간을 단축시켰다.

저강도 맥동초음파는 동물과 사람을 대상으로 한 여러 연구들에서 골절수복과정을 촉진하였다(Cook 등, 1997; Durate, 1983; Klug 등, 1986; Pilla 등, 1990). 골절모델 동물연구에서 저강도 맥동초음파는 유전자 발현을 조절하고(Yang 등, 1996), 가골 형성과 성장을 촉진시키며(Durate, 1983; Klug 등, 1986), 혈류량을 증진(Rawool 등, 1997)시켜 골절치유과정에 기여한다고 보고되었다(Hadjiargyrou 등, 1998). Heckman 등(1994)의 연구에서는 67명의 경골골절환자에서 이중맹검법을 통하여 초음파의 임상적 효과를 연구한 결과 치료받은 실험군이 대조군보다 임상적 골유합(clinical union)에 걸리는 시간을 유의하게 단축시켰으며, 어떠한 합병증도 발견되지 않았다. 이 연구들에 기초하여 동물연구와 사람을 대상으로 한 연구들에서 저강도 맥동초음파가 골절수복과정을 효과적으로 촉진시킬 수 있다는 확신을 갖게 되었다(Glazer 등, 1998). 그 후 Kristiansen 등(1997)도 60명의 원위부 요골골절환자를 대상으로 한 연구에서 골유합 기간을 30%~40% 단축시켰다고 보고하였다.

그러나 저강도 맥동초음파가 골절치유를 촉진시킨다는 여러 연구결과가 있으나 골절치유과정에 기여하는 정확한 기전은 아직까지 밝혀지지 않은 실정이다(Cook 등, 1997; Emami 등, 1999; Hadjiargyrou 등, 1998). Heckman 등(1994)은 초음파 신호가 세포수준에서 미세한 기계적 스트레스를 일으켜 골절수복과정을 촉진시킬 것이라고 제안하였다. 즉, 초음파의 압력파(pressure wave)가 직접적으로 세포막과 세포외 기질에 기계적인 변형을 일으키거나 간접적으로 세포변형에 발생하는 생체전기 효과에 의해 생체활동을 조절한다는 것이다. 또한 골형성세포는 생물학적 자극뿐만 아니라 물리적인 자극에도 매우 민감하므로 골절부에 위치하는 세포들은 저강도 초음파에 의해 생성되는 골절부의 미세한 움직임에 따라 가골 형성이 촉진될 것으로 생각되고 있다(양규현, 1995).

초음파는 치료 시 사용되는 출력강도 및 치료시간의 조절에 의해 다양한 결과를 산출한다(이충휘 등, 1998; Walker 등, 1997). 골절치유에 저강도 맥동초음파를 사용한 여러 연구결과를 보면, Lehmann과 Lateur(1990)는 100 ㎽/㎠ 강도의 초음파로 2~5분 동안 적용하여 무기질화와 가골 형성에 긍정적인 효과를 얻었으나, 1000 ㎽/㎠의 강도에서는 효과적이지 않았다고 하였다. 토끼의 골절모델에서 행해진 일련의 연구들(Tsai 등, 1991; Tsai 등, 1992)은 500 ㎽/㎠의 강도에서 골형성이 촉진되었으나, 1000 ㎽/㎠의 강도에서는 골형성이 오히려 억제되는 것으로 나타났다. Zorlu 등(1998)은 100 ㎽/㎠의 강도로, Yang 등(1996)은 50 ㎽/㎠와 100 ㎽/㎠의 강도로

치료한 결과 골절치유 촉진에 긍정적인 효과가 있었다고 보고하였으나, 어느 강도에서 더 효과적인지에 대해서는 규명하지 못하였다. 따라서 여러 연구자들이 저강도 맥동초음파가 골절치유 촉진에 효과적이라는 여러 연구결과를 제시하였으나(양규현 등, 1998; Hadjiargyrou 등, 1998; Heckman 등, 1994), 최적의 효과를 보이는 효율적인 초음파 강도를 알아내기 위해서는 많은 연구가 요구된다(이충휘 등, 1998; Heckman 등, 1994).

Wadsworth와 Chanmugam(1983)은 골절부에 낮은 강도로 초음파치료를 하면 혈괴가 육아조직으로 진행하는 초기를 제외하고는 가골형성과 유합과정을 방해하지 않으나 높은 강도에서 초음파치료를 하면 오히려 골유합과정을 방해한다고 하였다. Kahn(1991)은 초음파가 골생성에 효과가 있으나 골절치유시의 골생성과정에 악영향을 미칠 수 있으므로 신생 골절부위에 초음파의 사용을 매우 주의해야 한다고 하였다. 일부 연구자들은 골절 부위에 감각장애가 없을 경우에는 초음파 사용을 피할 이유가 없지만 맥동초음파로 골절치유 치료를 할 때에는 적용시기와 유해성 여부를 알아보려는 많은 연구들이 선행되어야 한다고 제안하였다(Lehmann과 Lateur, 1990; Michlovitz, 1990; Wadsworth와 Chanmugam, 1983).

이충휘 등(1998)은 토끼의 비골절골술 후 3주간 초음파치료를 한 결과 대조군과 치료군 모두에서 골절치유가 이루어졌으며 두 군간에 유의한 차이를 밝히지 못하였다. 또한 Pilla 등(1990)은 쥐의 비골을 골절시킨 후 14일과 28일 치료군을 비교한 결과 14일 치료군에서 유의하게 골절치유가 증가였으나, 28일에서는 유의한 차이가 없었다. 골절치유는 다른 조직과 달리 재생이라는 매우 특이한 과정을 통하여 이루어지며, 염증기(inflammatory phase), 복원기(reparative phase) 그리고 재형성기(remodeling phase)를 거쳐 연속적으로 중복되면서 진행된다(양규현 등, 1998). 그러므로 초음파 치료가 골절치유 각 단계에 미치는 영향을 알아보기 위해서는 단계별로 일치하는 날짜에 희생시켜 관찰하는 것이 필요하다.

이상에서 언급한 바와 같이 저강도 맥동초음파가 골절치유에 효과가 있음을 시사하는 여러 연구들이 제시되었으나, 유효 초음파 강도와 골절치유 과정에 미치는 영향을 결정하는 인자들에 관한 보다 많은 연구가 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 비골절제술 후 4일, 14일, 24일 치료군으로 나누어 골절의 치유정도를 방사선 검사에 의한 육안계측치, 조직학적 관찰 및 골소주면적비(percent of trabecular bone area)를 비교함으로써 초음파의 출력강도가 골절치유에 미치는 영향을 알아보았다.

Ⅱ. 연구방법

1. 실험 동물

본 연구는 서남대학교 의과대학 동물실험실에서 사육 중인 Japanese White 토끼를 대상으로 이루어졌으며, 토끼의 체중은 2.0~2.5 kg이었다. 연구에 사용되는 토끼는 36마리로 모두 수컷이었다. 실험기간 동안의 사육은 토끼의 스트레스를 경감하기 위해 설계된 National Institutes of Health (NIH) 지침 기준의 토끼장에서 고형사료와 물로 사육하였으며, 명암주기는 자연광으로 하였다. 연구기간은 1999년 11월 5일부터 2000년 2월 5일까지이었다.

2. 치료기구

본 연구에서 사용한 초음파 기구는 Sonopuls 591[1]을 사용하였다. 변환기(transducer)는 효과방출면적(effective radiating area)이 5㎠인 zirconium head를 사용하였고, 주파수가 1 ㎒이

1) Enraf-Nonius Co., Netherlands, 1994.

고 맥동비(duty cycle)가 1:4인 맥동초음파로 1일에 15분간 50, 500 ㎽/㎠의 강도로 조사되도록 설정하였다. 변환기를 적용할 때는 골절부위에 마사지 자극을 가하지 않고 순수한 초음파 자극효과를 제공하기 위하여 고정법(stationary technique)으로 하였다. 치료를 하는 동안에 토끼의 불필요한 움직임을 억제하기 위해서 토끼를 고정틀에 고정하였으며, 자체 제작한 보조장비를 이용하여 변환기를 골절부위 위에 고정하였다. 초음파 전도 매질로는 초음파 전도용 젤을 이용하였다.

3. 실험방법

Japanese White 토끼 36마리를 초음파 출력강도에 따라 2개의 집단에 18마리씩 무작위로 할당하였다. 실험군 1은 50 ㎽/㎠, 실험군 2는 500 ㎽/㎠의 강도로, 1:4의 맥동초음파를 이용하여 1일 15분씩 적용하였다. 치료기간은 희생일자(수술 후 4일, 14일, 24일)까지로 하였다. 전신마취는 Ketamine HCl(10 ㎎/㎏)을 이용하여 토끼의 후이개정맥(posterior auricular vein)에 정맥내 주사를 시행하였다. 절골술(osteotomy)을 적용한 부위는 비골(fibula)이었으며, 양쪽 비골의 중간부위를 택하여 두께 1 ㎜의 실톱으로 골절시켰다. 실험군으로 선정된 비골에는 초음파 치료를 하였고, 그 반대편 다리에는 초음파 치료를 하지 않았다. 비골절골술을 시행한 후 1일이 경과한 2일째부터 토끼를 고정틀에 고정한 상태로 초음파 치료를 매일 실시하였다.

4. 조직표본 작성

비골절골술 후 치료를 시작한 지 4일, 14일, 24일째에 실험군 1에서 6마리, 실험군 2에서도 6마리씩 선정하여 후이개정맥에 공기를 주사하여 토끼를 희생시킨 후 비골을 적출하였다. 적출된 비골을 4 ℃의 10% paraformaldehyde(in 0.1M phosphate buffer, pH 7.4)로 4일간 고정하였으며, 탈회용액에 7일 이상 담근 후 주사바늘로 찔러 탈회 상태를 확인하였고 탈회가 완전하게 되면 5% sodium sulfate solution에 하룻밤 동안 담가두었다. 충분히 물로 씻은 후 통상적인 광학현미경 표본제작 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 비골을 눕혀서 포매함으로써 비골의 세로절편을 얻었으며 5 ㎛ 두께의 절편을 제작한 다음 20장마다 한 장씩 4~6개의 hematoxylin-eosin 염색표본 슬라이드를 만들었다.

5. 조직형태 계측

본 연구에서는 저강도 초음파의 출력강도와 골절 후 치료기간에 따른 골절치유 정도를 비교하기 위하여 조직형태계측적 검사(histomorphological examination) 중 한 방법인 골소주면적비를 측정하였다. 골소주면적비는 전체골면적(total bone area)에 대한 골소주면적(trabecular bone area)을 백분율로 나타내었다.

사진기가 달린 현미경(Nikon optiphot®)을 이용하여 조직 슬라이드를 100배 배율로 촬영한 후 현상, 인화하였다. 골수강에 형성된 가골의 중앙부위를 촬영하였으며, 인화된 조직 사진에 tracing paper를 얹고 불규칙하게 형성된 골소주(trabecula)의 바깥경계를 직경 .1 ㎜ 펜을 사용하여 그렸다. 그림들을 scanner (ScanJet 3C, Hewlett-Packard)와 Photoshop 4.0 컴퓨터 프로그램을 사용하여 그림 파일(BMP file)로 만들었다. 각각의 그림 파일을 영상분석프로그램(KS 400, Kontron Electronik)으로 읽어들인 후에 골소주면적비를 계산하였다.

6. 방사선 검사

가골의 형성정도를 육안으로 비교하기 위하여 방사선 촬영기를 이용하여 전면 촬영을 하였다. 분석은 방사선과 전문의 2명에게 의뢰하였으며, 이덕용 등(1988)이 개발한 9단계 골절치유척도를 이용하여 평가하였다(표 1).

표 1. 골절치유척도

0점: 아직 가골 형성이 없을 때
1점: 가골 형성이 시작될 때
2점: 가골 형성의 골막 반응이 일어날 때
3점: 가골이 골절부를 지나가기 시작할 때
4점: 가골이 골절부를 어느 정도 지나갈 때
5점: 골소주가 골절선을 지나갈 때
6점: 골절선이 사라지기 시작할 때
7점: 골절선이 사라졌을 때
8점: 골절부위에 골수강이 재생할 때
9점: 거의 골유합이 일어났을 때

7. 분석 방법

치료기간 4일, 14일, 24일별로 치료여부에 따른 방사선 검사에 의한 육안계측치의 차이를 비교하기 위하여 윌콕슨부호순위검정(Wilcoxon signed-ranks test)을, 출력강도에 따른 방사선 검사에 의한 육안계측치의 차이를 비교하기 위하여 만-휘트니검정(Mann-Whitney test)을 하였다. 골소주면적비의 자료가 정규분포하는지 여부를 알아보기 위하여 콜모고로프-스미르노프검정(Kolmogorov-Smirnov test)을 하였다. 정규분포를 하는 것이 확인된 경우에는 강도와 집단별에 따른 골소주면적비의 차이를 비교하기 위하여 이요인 분산분석(two-way analysis of variance)을 하였다. 통계학적 유의성을 검정하기 위하여 유의수준 α=.05로 정하였다.

Ⅲ. 결과

1. 초음파의 출력강도와 치료 여부별 방사선 검사에 의한 육안계측치의 차이

치료기간 4일, 14일, 24일에서 출력강도와 치료여부에 따른 육안계측의 결과를 표 2, 표 3, 표 4에 제시하였다. 치료기간 4일째에서, 치료여부에 따른 가골 형성의 차이는 없었으며($p>.05$), 출력강도에 따른 가골 형성의 차이도 없었다($p>.05$). 치료기간 14일째에는 치료를 받은 실험군이 치료를 받지 않은 대조군보다 가골형성 정도가 증가하였으며($p<.05$), 출력강도에 따른 차이에서는 50 ㎽/㎠가 500 ㎽/㎠보다 유의하게 증가하였다($p<.05$). 치료기간 24일째에서, 치료여부에 따

표 2. 치료기간에 따른 초음파 출력강도와 집단별 방사선 검사에 의한 육안계측치

치료기간	강도(㎽/㎠)	대조군	실험군
		중위수(최소값～최대값)	중위수(최소값～최대값)
4일	50	0 (0～2)	2 (1～2)
	500	0 (0～0)	2 (0～2)
14일	50	3 (2～4)	4 (4～6)
	500	2 (1～2)	3 (2～3)
24일	50	4 (2～5)	6 (3～7)
	500	4.5 (3～6)	5 (4～6)

표 3. 치료여부에 따른 방사선 검사에 의한 육안계측치의 차이

치료기간	강도(㎽/㎠)	구분	평균순위	순위합	Z	p
4일	50	대조군	1.50	1.50	-1.66	.09
		실험군	3.38	13.50		
	500	대조군	.00	.00	-2.00	.06
		실험군	2.50	10.00		
14일	50	대조군	.00	.00	-2.06	.03
		실험군	3.00	15.00		
	500	대조군	.00	.00	-2.24	.02
		실험군	3.00	15.00		
24일	50	대조군	1.50	1.50	-1.91	.06
		실험군	3.90	19.50		
	500	대조군	1.00	1.00	-1.09	.28
		실험군	2.50	5.00		

표 4. 출력강도에 따른 방사선 검사에 의한 육안계측치의 차이

치료기간	강도(㎽/㎠)	평균순위	순위합	U	Z	p
4일	50	6.83	41.00	16.00	-0.38	0.70
	500	6.17	37.00			
14일	50	9.50	57.00	0.00	-2.99	0.00
	500	3.50	21.00			
24일	50	7.33	44.00	13.00	-0.83	0.40
	500	5.67	34.00			

른 가골 형성의 차이는 없었으며(p>.05), 출력강도에 따른 가골형성의 차이도 없었다(p>.05).

2. 초음파의 출력강도와 치료여부에 따른 골소주면적비의 이요인분산분석

치료기간 14일과 24일에서 치료여부와 출력강도에 따른 골소주면적비의 차이를 분석한 결과를 표 5, 표 6에 제시하였다. 치료기간 4일째에는 가골이 형성되지 않았으므로 골소주면적비를 측정할 수 없었다. 치료기간 14일에서 치료여부와 출력강도의 두 요인간의 상호작용 효과가 없었다(p>.05). 14일째에는 치료를 받은 실험군의 평균 골소주면적비가 치료를 받지 않은 대조군보다 유의하게 증가하는데 비하여(p<.05), 출력강도에 따른 골소주면적비의 차이는 없었다(p>.05). 치료기간 24일에서 치료여부와 출력강도의 두 요인간의 상호작용 효과는 없었다(p>.05). 24일째에는 치료를 받은 실험군의 평균 골소주면적비가 치료를 받지 않은 대조군보다 증가하였으나(p<.05), 출력강도에 따른 골소주면적비의 차이는 없었다(p>.05).

3. 조직학적 소견

골절부위의 조직학적 변화를 관찰한 결과 다음과 같다. 치료기간 4일째의 경우, 대조군(그림 2a)은 골절부에 출혈병소와 소수의 염

표 5. 치료기간에 따른 초음파 출력 강도와 집단별 골소주면적비 (단위: %)

치료기간	강도(㎽/㎠)	대조군	실험군
		평균±표준편차	평균±표준편차
14일	50	58.55±12.29	70.82±5.13
	500	68.30±5.79	73.18±10.82
24일	50	64.85±16.55	83.25±9.41
	500	51.27±17.63	79.92±6.33

표 6. 집단과 강도별 골소주면적비에 대한 이요인분산분석

치료기간	변인	자유도	평방합	평방평균	F값	p
14일	집단	1	331.95	331.95	4.32	.04
	강도	1	123.26	123.26	1.60	.22
	집단×강도	1	82.10	82.10	1.07	.32
24일	집단	1	2933.75	2933.75	15.58	.00
	강도	1	238.92	238.92	1.27	.27
	집단×강도	1	341.27	341.27	1.81	.20

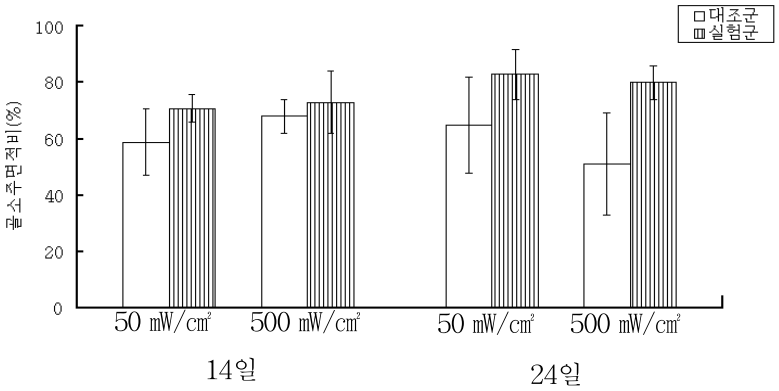
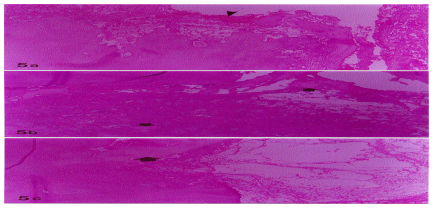


그림 1. 치료기간과 초음파 출력강도에 따른 골소주면적비

증세포가 관찰되었고, 50 ㎽/㎠ 치료군(그림 2b)에서는 절단된 뼈와 접하여 섬유의 증식이 관찰되었으며, 섬유에는 부분적으로 석회가 침착된 형태를 볼 수 있었다. 500 ㎽/㎠ 치료군(그림 2c) 역시 섬유의 증식과 석회의 부분적 침착, 그리고 육아조직의 형성이 관찰되었다.

치료기간 14일째, 대조군(그림 3a)에서는 일차뼈 조직인 골편들(bone spicule)의 막성 골화(membranous ossification)로 인한 골소주 형성과 넓은 부위의 연골조직 형성이 관찰되었다. 그러나 연골조직 형성부위를 제외한 골막(periosteum)의 재생은 관찰되지 않았다. 50 ㎽/㎠ 치료군(그림 3b)은 연골내 골화(endochondral ossification)의 진행으로 부분적으로 연골조직이 남아 있긴 하였으나 골절부는 대부분 골수공간을 포함하는 해면상의 뼈로 구성되어 있었으며, 골막은 완전하게

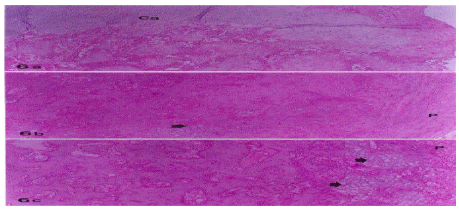


(a) 대조군(arrowhead: 출혈부)

(b) 50 ㎽/㎠군(arrows: 석회의 부분적 침착)

(c) 500 ㎽/㎠군(arrow: 석회의 부분적 침착)

그림 2. 골절 후 4일째 광학현미경 사진(×100)

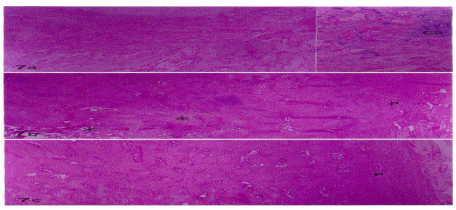


(a) 대조군(Ca: 연골조직) ×100

(b) 50 ㎽/㎠군(arrow: 연골조직, P: 골막) ×40

(c) 500 ㎽/㎠군(arrows: 연골조직, P: 골막) ×100
광학현미경 사진

그림 3. 골절 후 14일째 광



(a) 대조군(Ca: 연골조직)

(b) 50 ㎽/㎠군(*: 골흡수 부분, P: 골막)

(c) 500 ㎽/㎠군(P: 골막)

그림 4. 골절 후 24일째 광학현미경 사진(×100)

재생되어 있었고 골막에 가까운 해면골들은 골수공간이 점차적으로 감소되어 치밀골로 전환되고 있는 모습이 관찰되었다. 500 ㎽/㎠ 치료군의 경우(그림 3c)는 50 ㎽/㎠ 치료군과 비교하여 볼 때 석회화되지 않은 연골조직의 양이 더 많았으며, 골막의 재생은 불완전하였고 골절부는 골수공간이 넓은 해면상의 뼈로 구성되어 있었다.

치료기간 24일째, 대조군(그림 4a)에서는 절단된 골면과 골소주들의 막성 골화와 연골내 골화가 진행되고 있었다. 50 ㎽/㎠ 치료군(그림 4b)은 이차 구조의 치밀골로 전환되는 과정과 함께 골흡수에 의한 골수공간이 형성되고 있었다. 500 ㎽/㎠ 치료군(그림 4c)에서는 완전한 골막의 재생과 함께 해면골은 대부분 막성 골화에 의해 치밀골로 대치되어 있었으나 골흡수 현상은 관찰되지 않았다.

Ⅳ. 고찰

최근 임상적으로 문제가 되는 골절치유 촉진과 불유합 치료에 초음파가 미치는 영향에 대한 관심이 증가되고 있다(Hadjiargyrou 등, 1998). Brighton(1998)은 임상적으로 골절 초기에 초음파가 효과적으로 사용될 경우 기능적으로나 경제적으로 매우 유용한 가치가 있다고 하였다. 본 연구는 비골절골술 후 1일부터 조기에 저강도 맥동초음파를 적용하여, 치료기간별로 출력강도 및 치료여부가 골유합에 미치는 영향을 알아보기 위하여 방사선검사에 의한 육안계측과 조직형태계측학적 방법으로 골소주면적비를 측정하는 한편, 골의 전반적인 변화를 관찰하기 위하여 조직학적 검사를 시행하였다. 연구 결과 치료기간 4일에서는 대조군과 실험군에서 차이가 없었

다. 치료기간 14일에서는 대조군보다 치료를 받은 실험군에서 골소주면적비가 유의하게 증가하였고 방사선 검사에 의한 육안계측에서도 골절 치유가 증가되었다. 그리고 조직학적 소견으로 비교할 때도 대조군보다 실험군에서 빠른 수복과정이 관찰되었다. 24일에서는 대조군보다 실험군에서 골소주면적비가 증가하였고 조직학적으로 빠른 수복과정을 보였으나 방사선 검사에 의한 육안계측치에서는 차이가 없었다.

저강도 맥동초음파가 골절치유를 촉진시킨다는 사실을 입증한 많은 연구들이 있으나 여러 연구자들(Heckman 등, 1994; Michlovitz, 1990; Wadsworth와 Chanmugam, 1983)은 초음파로 골절치유 시 출력강도와 적용시기에 최대한의 주의를 하여야 한다고 주장하였다. Reuter 등(1984)은 40마리의 토끼를 대상으로 양쪽 경골절골술을 시행하여 초음파가 골절치유에 미치는 효과를 연구하였는데, 100 ㎽/㎠의 강도로 절골술 1주 후부터 격일로 1회에 2분을 총 4회 시행하여 가골형성을 촉진시켰다고 하였다. Pilla 등(1990)은 139마리의 토끼를 대상으로 양쪽 비골절골술을 시행하여 한쪽 골절부위에 30 ㎽/㎠의 강도로 매일 20분 동안 초음파치료를 시행하였다. 이 연구에서 절골술 후 14일과 28일 사이에 토끼를 희생시켜서 최대골강도를 측정한 결과 14일에서 23일 사이에 40%~85%가 증가하였다. 또한 초음파 치료를 받은 실험군에서는 17일에서 28일 사이에 정상 뼈만큼 골강도가 강하였으나 대조군에서는 28일까지도 정상수준에 도달하지 못하였다. 그러나, 동일 대상으로 1000 ㎽/㎠로 매일 15분 동안 초음파를 시행한 결과 치료를 받지 않은 대조측은 골 형성이 촉진되었으나 직접적으로 치료를 받은 실험측은 골 형성이 억제되었다(Tsai 등, 1991; Tsai 등, 1992). Tsai 등(1992)은 다양한 강도와 치료시간에 대한 연구에서 500 ㎽/㎠로, 1일 15분 동안 치료한 군에서 가장 효과적이었다. 이러한 연구결과로 볼 때 초음파의 출력강도가 골절치유에 중요한 요소로 작용함을 알 수 있다. 그리고 30 ㎽/㎠와 100 ㎽/㎠의 강도로 적용하는 것이 가골 형성에 효과적이며 1000 ㎽/㎠의 강도는 골절치유에 효과적이지 않다는 것을 알 수 있다(Zorlu 등, 1998).

골절치유를 촉진시키는 유효 초음파영역은 30~1000 ㎽/㎠(Sun 등, 1999; Wang 등, 1994), 30~100 ㎽/㎠(양규현, 1998) 및 30~50 ㎽/㎠(Heckman 등, 1994; Kristiansen 등, 1997)로 연구자들마다 다양한 범위를 제시하고 있다. 따라서 본 연구에서는 유효 초음파 강도를 결정하기 위하여 50 ㎽/㎠와 500 ㎽/㎠의 강도간에 골절치유 효과를 비교한 결과, 비골절골술 후 14일에서 단순 X-선 촬영에 의한 육안 계측치에서만 50 ㎽/㎠의 강도가 500 ㎽/㎠의 강도보다 골유합이 더 촉진되었으며, 4일과 24일에서는 차이가 없었다. 또한 뼈의 기계적 강도를 반영하는 골소주 면적비에서는 모든 치료기간에서 차이를 보이지 않았으나, 골절치유의 조직학적 과정에서는 14일과 24일에서 50 ㎽/㎠군이 500 ㎽/㎠군보다 활발한 세포증식이 일어났다. Sun 등(1999)은 320 ㎽/㎠와 770 ㎽/㎠의 초음파 강도를 적용한 후 골절 치유정도를 비교하였는데, 초음파치료를 받은 모든 실험군이 치료를 받지 않은 대조군보다 골절치유가 촉진되었으나 출력강도간에는 차이를 밝히지 못하였다. 본 연구에서는 모든 강도에서 대조군보다 효과적이었으며, 50 ㎽/㎠군이 500 ㎽/㎠군 보다 14일 째의 방사선검사에 의한 육안계측에서와 14일과 24일째의 조직학적 변화에서 골절치유의 촉진이 관찰되었으므로 50 ㎽/㎠와 500 ㎽/㎠의 강도는 유효 초음파 강도에 속한다고 볼 수 있다.

Wadsworth와 Chanumugam(1983)은 혈괴(blood clot)가 육아조직(granulation tissue) 형태로 진행되는 아주 초기단계에서의 초음파치료는 유해하다고 하였기 때문에 이전의

연구들은 일정한 시간이 지난 후에 초음파를 적용하였다. Sato 등(1999)은 골길이 신장(bone lengthening)을 위해 callotasis를 시행한 후 1주부터, Heckman 등(1994)과 Emami 등(1999)은 골절이 일어난 후 4일째부터, 양규현(1998)은 척골골절술 후 3일째부터 초음파치료를 시작하였다. Hadjiargyrou 등(1998)은 초음파가 신호 변환(signal transduction), 유전자 발현, 혈류량, 조직 형성과 재형성 및 가골에 대한 기계적인 자극을 통하여 골절치유과정의 전체 단계에서 긍적적인 영향을 미친다고 하였다. 또한 초음파는 골절부위에 혈류량을 증가시킴으로써 정상 치유과정에 필수적 요소인 성장인자(growth factor)와 cytokine 발현을 촉진시키고(Rawool 등, 1997), 연골형성(chondrogenesis)과 연골 비대(cartilage hypertrophy)를 촉진시킴으로써 조기에 연골내골화를 유도하여 골절의 경도와 강도를 증가시킨다(Yang 등, 1996). 본 연구에서는 기계적 자극과 같은 비열적 효과(nonthermal effect)를 목적으로 하는 맥동초음파를 이용하였고(Michlovitz, 1990), 강도가 매우 낮았다는 것을 고려할 때 다양한 세포들을 억제하지 않는 최소한의 온도변화가 있었을 것으로 생각된다(Durate, 1983; Philla 등, 1990). 그러므로 본 연구와 Yang 등(1996)의 연구에서는 초음파가 골절 치유과정의 전체 단계에 긍정적인 영향을 미친다는 것에 기초하여 절골술 1일 후 조기부터 저강도 초음파를 적용한 결과 골유합이 촉진되었고 어떠한 합병증도 발견되지 않았다.

최근 두 연구(Emami 등, 1999; Emami 등, 1999)에서는 Heckman 등(1994)의 연구와 동일한 초음파 치료방법을 사용하였지만, Heckman 등(1994)이 석고붕대에 의한 비수술적 고정방법을 한 것과 달리 내고정술을 받은 경골골간부 골절환자를 대상으로 한 결과, 저강도 초음파의 효과를 입증하는데 실패하였다. 이 두 연구에서는 대조군과 비교하여 골유합 기간을 단축시키지 못하였으며, osteocalcin과 alkaline phosphatase와 같은 골형성의 생화학적 표지자에서도 차이를 발견하지 못하였다. 그 이유는 본 연구와 동일한 효과를 보인 Heckman 등(1994)과 Kristiansen 등(1997)의 연구에서 비수술적 고정방법을 시행한 것과 달리, Emami 등(1999)과 Emami 등(1999)은 견고한 골수강내 고정술 상태에서 초음파 치료가 이루어 졌으므로 골절치유에 효과적이지 않은 것으로 보인다. 견고한 내고정 수술시 과도한 구멍(reaming)을 낼 경우 골내막과 피질조직이 손상되어 골절수복과정에 악영향을 미칠 수 있다. 그러므로 골절치유 형태와 수술방법이 초음파에 의한 골절치유과정에 영향을 미치는 것으로 보이며, 초음파가 어떠한 형태에 더 효과적인지를 결정하는 연구가 있어야 할 것으로 보인다.

저강도 초음파 치료가 골절치유를 증가시키지만 초음파가 생체조직(living tissue)과의 상호작용을 통하여 이루어지는 물리적 과정(physical process)은 아직까지 밝혀지지 않았다(Hadjiargyrou 등, 1998). 뼈는 골절 틈새(fracture gap)와 주위의 연부조직에 비해 상대적으로 밀도가 높기 때문에 초음파는 상대적으로 저밀도의 골절면에 집중하게 된다. 불규칙한 골절면의 모서리를 지나가는 압력파(pressure wave)의 흐름에 의한 기계적 자극은 섬유모세포, 연골모세포 및 골모세포의 분화와 증식을 촉진시키며(Jones 등, 1991; Sun 등, 1999), prostagladin E2의 생성에 영향을 미친다(Sun 등, 1999; Tsai 등, 1992). 여러 연구자들(Hadjiargyrou 등, 1998; Heckman 등, 1994; Strauss와 Gonya, 1998; Sun, 1999)은 저강도 맥동초음파가 세포에 직접적인 변형이나 전단력(shearing force)을 제공함으로써 세포의 대사활동을 촉진시키고, 그 결과 골절치유를 촉진시킬 것이라고 하였다(그림 5).

기계적 자극(mechanical stimulation)은 골

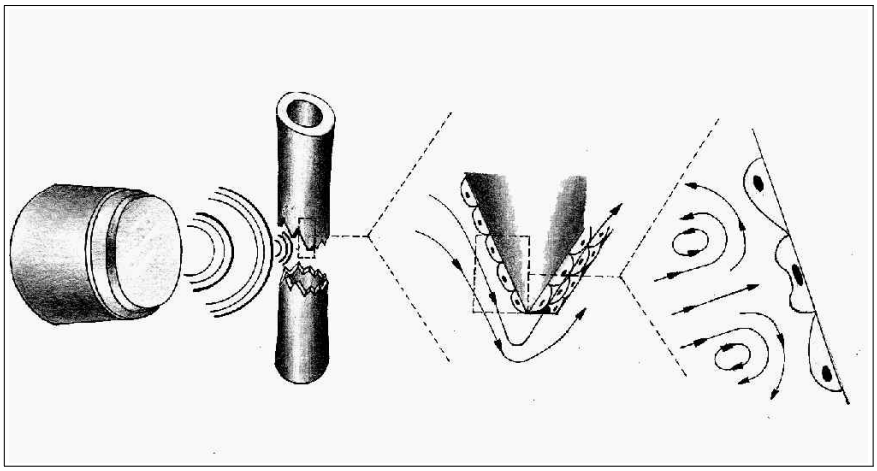


그림 5. 초음파의 기계적 자극이 골절면의 다양한 골세포들을 자극하는 모형

절치유를 일으키거나 골절치유과정에 있어서 생물학적 과정을 변화시킨다는 것이 이미 밝혀졌다(Chao와 Aro, 1989; Meadows 등, 1990; Wu 등, 1984). 비정상적인 골절 수복이 예상되거나 관찰될 때에는 비침습적으로 기계적 자극을 제공하는 치료양식이 효과적일 수 있다. Chao(1998)는 기계적 자극을 제공하는 치료양식의 선택과 적용방법은 신중하게 결정되어야 한다고 하였다. 초음파 신호는 다양한 형태의 기계적 스트레스(mechanical stress)를 미성숙 조직이나 미분화된 조직에 적용함으로써 재생을 도울 수 있다. 골절부위의 간헐적인 압박 스트레스나 전단 스트레스는 골절수복과 골재생을 효과적으로 촉진시킴으로써 연골내골화를 이루는 기전을 제공한다(Carter 등, 1988; Chao, 1998). 저강도 맥동초음파는 이와 같은 기전을 활성화시키는데 적합한 치료형태가 될 수 있다.

Michlovitz(1990)는 초음파가 뼈조직에 흡수되는 흡수계수가 매우 높기 때문에 뼈의 경계면에서 거의 대부분의 초음파 에너지가 열로 전환된다고 하였고, 골절치유에 영향을 주는 효소활동에 영향을 줄 수 있다고 하였다. Maulik(1989)은 3 ㎒의 초음파로 매우 낮은 강도인 30 ㎽/㎠로 조사하여도 뼈조직에 1 ℃의 온도를 상승시킬 수 있다고 하였다. Welgus 등(1981)은 조직온도가 1 ℃이하의 미미한 열에도 교원질분해효소(collagenase)와 같은 일부 효소들을 자극할 수 있다고 하였다. 또한 초음파는 조직의 밀도에 따라 에너지 흡수율이 다르기 때문에 음향흐름(acoustic streaming) 현상을 일으킨다(Michlovitz, 1990). 정상적인 상태에서는 기포가 조직 내에 존재하지 않지만 외상으로 인한 골절 후에 기포가 골절부위에 존재 할 수 있다. 결과적으로, 초음파 신호는 세포의 기계적 반응의 물리적 변화를 세포수준에서의 분자반응과 생화학적 반응으로 변환시키게 된다(Hadjiargyrou 등, 1998). 음파의 소밀한 압력에 따라 수축과 팽창을 반복하면서 작은 기포들이 진동운동을 하게 되는 안정 공동화(stable cavitation)는 골절치유과정을 촉진시키는 역할을 할 것으로 생각된다.

본 연구에서 골밀도의 변화를 보기 위해서 골소주면적비를 구하였다. 이전 연구들에서는 골소주의 변화를 보고 골밀도(bone mineral density)의 정도를 판정하였으며 골밀도를 측정하기 위하여 임상에서 단순방사선 측정법, 단일광자흡수계측법(single photon absorptionetry), 정량전산화 단층촬영법(quantitative computed

tomograph) 등이 이용되고 있다(이상재 등, 1994). 그러나 본 연구에서 사용한 토끼모델의 비골은 골 직경이 작으므로 여러 연구들에 의해서 골밀도와 정적 선형 상관관계(linear correlation)가 있는 골소주면적비를 측정하였다(Goldstein 등, 1990; Kinney 등, 1995; Odgaard와 Gundersen, 1993). Sun 등(1999)은 초음파가 골절치유 정도에 미치는 영향을 보기 위하여 골소주면적비를 측정하였으며, Kinney 등(1995)은 골소주면적의 증가가 뼈의 기계적 강도(mechanical strength)의 증가를 반영한다고 하였다(Winstein과 Hutson, 1987).

이상의 연구 결과를 볼 때, 저강도 맥동초음파는 골절치유과정을 촉진시키는데 효과적이며, 골절치유 초기단계에 유해하지 아니함을 알 수 있었다. 또한 50 ㎽/㎠와 500 ㎽/㎠의 강도는 골절치유를 촉진시키는 유효 초음파 영역임을 알 수 있고, 조직학적 검사와 방사선 검사에 의한 육안계측에서 50 ㎽/㎠의 초음파 강도가 500 ㎽/㎠의 초음파 강도보다 더 효과적임을 알 수 있었다. 앞으로의 연구에서는 초음파치료가 신생골절에 미치는 영향뿐만 아니라 나아가 지연유합과 불유합에 미치는 영향에 대하여 임상적 적용을 확대하는 것이 필요하다고 본다.

Ⅴ. 결론

본 연구에서는 저강도 맥동초음파가 골절모델 토끼에서 치료기간별(4일, 14일, 24일)로 출력강도(50 ㎽/㎠, 500 ㎽/㎠)와 치료여부에 따라 골절치유에 미치는 영향을 알아보기 위하여 방사선검사에 의한 육안계측치와 조직형태학적 방법으로 골소주면적비를 측정하였고, 광학현미경을 통하여 조직학적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 치료기간 4일에서는 방사선 검사에 의한 육안계측치에서 집단간 차이가 없었으나($p>.05$), 조직학적 검사시 치료를 받은 실험군에서 대조군보다 빠른 수복과정을 보였다.
2. 치료기간 14일에서는 대조군보다 치료를 받은 실험군에서 골소주면적비와 방사선 검사에 의한 육안계측치상으로 골절치유가 촉진되었고($p<.05$), 조직학적으로도 빠른 수복과정이 관찰되었다.
3. 치료기간 24일에서는 대조군보다 치료를 받은 실험군에서 골소주면적비가 증가하였고($p<.05$) 조직학적으로 빠른 수복과정이 관찰되었으나, 방사선 검사에 의한 육안계측치에서는 차이가 없었다($p>.05$).
4. 방사선 검사에 의한 육안계측 결과 14일에서만 50 ㎽/㎠의 강도가 500 ㎽/㎠의 강도보다 골유합이 촉진되었고($p<.05$), 14일과 24일에서 조직학적으로 50 ㎽/㎠의 강도가 500 ㎽/㎠의 강도보다 빠른 수복과정이 관찰되었다.

이상의 결과로 볼 때, 저강도 맥동초음파는 골절치유과정을 촉진시키는데 효과적이며, 골절치유 초기단계에 유해하게 작용하지 않았다. 또한 50 ㎽/㎠와 500 ㎽/㎠의 강도는 골절치유를 촉진시키는 유효 초음파 영역임을 알 수 있었고, 조직학적 검사와 방사선 검사에 의한 육안계측 결과 50 ㎽/㎠의 강도가 500 ㎽/㎠의 강도보다 더 효과적이었다. 따라서 골절 후 1일부터 저강도 맥동초음파를 적용하는 것은 골절치유에 효과적이라고 본다.

인용문헌

양규현. Fracture healing process. 대한골절학회지. 1995;8:318-322.

양규현, 최종혁, 조재호. 저에너지 초음파를 이용한 골절치유 촉진. 대한골절학회지.

1998;11:247-253.

이덕용, 이선호, 정문상. 골절학. 서울대학교 의과대학 정형외과교실. 일조각, 1988: 45-48.

이상재, 구자웅, 서재성 등. 이중 에너지 X-선 흡수 계측법(DEXA)을 이용한 한국인 성인의 골밀도 측정. 대한골대사학회지. 1994;1:201-208.

이충휘, 김종만, 황태선. 저강도 초음파치료의 골절치유 효과. 한국전문물리치료학회지. 1998;5:34-41.

Brighton CT. Biophysical enhancement. Clin Orthop. 1998;355S:S357-S358.

Carter DR, Blenman PR, Beaupre GS. Correlations between mechanical stress history and tissue differentiation in initial fracture healing. J Orthop Res. 1988;6:736-748.

Chao EYS, Aro H. The effect of rigidity on fracture healing in external fixation. Clin Orthop. 1989;241:24-35.

Chao EYS, Inoue N, Elias JJ, et al. Enhancement of fracture healing by mechanical and surgical intervention. Clin Orthop. 1998;355S:S163-S178.

Cook S, Ryaby J, McCabe J, et al. Acceleration of tibia and distal radius fracture healing in patients who smoke. Clin Orthop. 1997;337:198-207.

Durate LR. The stimulation of bone growth by ultrasound. Arch Orthop Trauma Surg. 1983;101:153-159.

Einhorn TA. Current concepts review: Enhancement of fracture healing. J Bone Joint Surg. 1995;77A:940-956.

Emami A, Larsson A, Petren-Mallmin M, et al. Serum bone markers after intramedullary fixed tibial fractures. Clin Orthop. 1999;368:220-229.

Emami A, Petren-Mallmin M, Larsson S. No effect of low-intensity ultrasound on healing time of intramedullary fixed tibial fractures. J Orthop Trauma. 1999; 13:252-257.

Goldstein SA, Goulet R, McCubbrey D. Measurement and significance of three-dimentional architecture to the mechanical integrity of bone. Calcif Tiss Int. 1990;53(S4):S127-S133.

Glazer PA, Heilmann MR, Lotz JC, et al. Use of ultrasound in spinal arthrodesis: A rabbit model. Spine. 1998;23:1142-1148.

Hadjiargyrou M, McLeod K, Ryaby JP. Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound. Clin Orthop. 1998;355S:S216-S229.

Heckman JD, Ryaby JP, McCabe J, et al. Acceleration of tibial fracture-healing by non-invasive, low-intensity pulsed ultrasound. J Bone Joint Surg. 1994; 76A:26-34.

Jones DB, Nolte H, Scholubbers JG, et al. Biochemical signal transduction of mechanical strain in osteoblast-like cells. Biomaterials. 1991;12:101-110.

Kahn J. Principles and Practice of Electrotherapy. 2nd ed. New York, Churchill Livingstone, 1991.

Kinney JH, Lane NE, Haupt DL. In vivo, three-dimentional microscopy of trabecular bone. J Bone Miner Res. 1995;10:264-270.

Klug W, Franke WG, Knoch HG. Scintigraphic control of bone-fracture healing under ultrasonic stimulation: An animal experimental study. Eur J Nucl Med. 1986;11:494-497.

Knoch HG, Klug W. Stimulation of Fracture Healing with Ultrasound. 1st

ed. Springer-Verlag, 1990.

Kristiansen TK, Ryaby JP, McCabe J, et al. Accelerated healing of distal radius fractures with the use of specific, low-intensity ultrasound. J Bone Joint Surg. 1997;79A:961-973.

Lehmann JF, Lateur BJ. Diathermy and superficial heat, laser and cold therapy. In: Frederic JK, Justus FL, eds. Krusen's Handbook of Physical Medicine and Rehabilitation. Philadelphia, WB Saunders. 1990.

Maulik D. Biologic effects of ultrasound. Clin Obstet Gynecol. 1989;32:645-659.

Meadows TH, Bronk JT, Chao EYS, et al. Effect of weight-bearing on healing of cortical defects in the canine tibia. J Bone Joint Surg. 1990;72A:1074-1080.

Michlovitz SL. Thermal Agents in Rehabilitation. 2nd ed. Philadelphia, FA Davis Co., 1990.

Odgaard A, Gundersen HJG. Quantification of connectivity in cancellous bone, with special emphasis on 3-D reconstructions. Bone. 1993;14:173-182.

Pilla AA, Mont MA, Nasser PR, et al. Non-invasive low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone healing in the rabbit. J Orthop Trauma. 1990;4:246-253.

Rawool D, Goldberg B, Forsberg F, et al. Power doppler assessment of vascular changes during fracture treatment with low intensity ultrasound. Trans 83rd Radiol Soc North Am. 1997;83:421.

Reuter U, Strempel F, Jhon F, et al. Beeinflussung der Knochenbruchheilung durch Ultraschall im Tiermodell. Z Exp Chir Transplant Kunstliche Organe. 1984;17:290-297.

Sato W, Matsushita T, Nakamura K. Acceleration of increase in bone mineral content by low-intensity ultrasound energy in leg lengthening. J Ultrasound Med. 1999;18:699-702.

Strauss E, Gonya G. Adjunct low intensity ultrasound in Charcot neuroarthropathy. Clin Orthop. 1998;349:132-138.

Sun JS, Tsuang YH, Lin FH, et al. Bone defect healing enhanced by ultrasound stimulation: An in vitro tissue culture model. J Biomed Mater Res. 1999;46:253-261.

Tsai CL, Chang WH, Liu TK, et al. Ultrasound can affect bone healing both locally and systemically. Chin J Physiol. 1991;34:213-222.

Tsai CL, Chang WH, Liu TK. Preliminary studies of duration and intensity of ultrasonic treatments on fracture repair. Chin J Physiol. 1992;35:21-26.

Tsai CL, Chang WH, Liu TK, et al. Ultrasound effect on fracture repair and prostagladin E2 production. Chin J Physiol. 1992;35:27-34.

Wadsworth H, Chanmugam APP. Electrophysical Agents in Physiotherapy. Science Press, 1983.

Walker KW, Pantely GA, Sahn DJ. Ultrasound-mediated destruction of contrast agents: Effect of ultrasound intensity, exposure, and frequency. Invest Radiol. 1997;32:728-734.

Wang SJ, Lewallen DG, Bolander ME, et al. Low intensity ultrasound treatment increase strength in rat femoral frac-ture model. J Orthop Res. 1994;12:40-47.

Welgus HG, Jeffrey J, Eisen AZ. Human skin fibroblast collagenase: Assessment

of activation energy and deuterium isotope effect with collagenous substrates. J Biol Chem. 1981;256:9516-9521.

Winstein RS, Hutson NE. Decreased trabecular width and increased trabecular spacing contribute to bone loss with aging. Bone. 1987;8:137-142.

Wu JJ, Shyr HS, Chao EYS, et al. Comparison of osteotomy healing under external fixation devices with different stiffness characteristics. J Bone Joint Surg. 1984;66A:1258-1264.

Xavier CAM, Durate LR. Estimulaca ultrasonica de calo osseo. Applica Clinica. 1983;18:73-80.

Yang KH, Parvizi J, Wang SJ, et al. Exposure to low-intensity ultrasound increases aggrecan gene expression in a rat femur fracture model. J Orthop Res. 1996;14:802-809.

Ziskin MC. Applications of ultrasound in medicine. In: Repacholi MH, Grandolfo M, Rindi A, eds. Ultrasound: Medical applications, biological effects, and hazard potential, New York, Plenum Press, 1987.

Zorlu U, Tercan M, Ozyazgan I, et al. Comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on bone healing in rats. Am J Phys Med Rehabil. 1998;77:427-432.