

## Toepassingen van ultrageluid in de diergeneeskunde

### *Applications of ultrasound in veterinary medicine*

<sup>1</sup>L. Mosselmans, <sup>1</sup>Y. Samoy, <sup>1</sup>P. Verleyen, <sup>2</sup>P. Herbots, <sup>1</sup>B. Van Ryssen

<sup>1</sup>Vakgroep Medische Beeldvorming van de Huisdieren en Orthopedie van de Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

<sup>2</sup>Brusselsesteenweg 35, B-9050 Ledeberg

lynn.mosselmans@ugent.be

## SAMENVATTING

Het is bekend dat het therapeutisch gebruik van ultrageluid in de humane geneeskunde een positieve invloed heeft op weefsel- en botheling. Bij patiënten met een botfractuur wordt ultrageluid frequent toegepast (bijvoorbeeld Exogen®). In de diergeneeskunde zijn reeds enkele studies uitgevoerd om het effect van ultrageluid op botheling na te gaan. Hoewel de helingstijd bij de meeste patiënten na toepassing van ultrageluid verkort, wordt deze techniek momenteel nog niet standaard gebruikt in het geval van “delayed-” en “non-unions”.

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de bestaande literatuur en de reeds uitgevoerde diergeneeskundige experimenten waarbij ultrageluid werd toegepast. Er wordt ingegaan op het werkingsmechanisme van ultrageluid tijdens de verschillende fasen van weefsel- en botheling. Met de opkomst van de dierenfysiotherapie zal deze techniek mogelijk frequenter toegepast worden bij gezelschapsdieren.

## ABSTRACT

The therapeutic use of ultrasound in human medicine is known to have a positive effect on the healing of tissue and bone. Therefore, ultrasound has been frequently applied in patients with a bone fracture (e.g. Exogen®). In veterinary medicine, several studies have been performed to investigate the effect of ultrasound on bone healing. Although the healing time in several patients was shortened after the application of ultrasound, the technique is currently not routinely applied in cases of delayed or non-union. The literature and the already performed experiments with ultrasound in veterinary medicine are reviewed in this article. The mechanism of action of ultrasound during the various phases of tissue and bone healing are described. Since the interest in physical therapy is increasing, the technique will probably be applied more frequently in companion animals in the near future.

## INLEIDING

Ultrageluidsgolven zijn geluidsgolven waarvan de frequentie te hoog is om gehoord te worden door het menselijk oor. Het ultrasonische geluidsgebied begint vanaf ongeveer 18kHz en loopt tot 800MHz. Ultrasonische trillingen worden meestal opgewekt door de omzetting van elektrische of magnetische energie in mechanische energie (Millis en Levine, 1997).

In 1927 werd ontdekt dat ultrageluid een duurzaam effect heeft op de biologische systemen (Wood en Loomis, 1927). Vanaf dat moment werden allerlei onderzoeken uitgevoerd naar de veiligheid van ultrageluid en werd ultrageluid toegepast als therapie voor meerdere musculo-skeletale aandoeningen, zoals tendinitis, bursitis, spiercontracturen en fracturen (Wood en Loomis, 1927; Ter Haar, 2007).

De effecten van ultrageluid worden traditioneel opgesplitst in twee groepen: de thermische en niet-thermische effecten.

De niet-thermische effecten zorgen voor een versnelling van de ontstekingsfase zodat de proliferatiefase van de herstelperiode sneller bereikt wordt (Levine et al., 2001). Watson (2006) toonde aan dat de niet-thermische effecten het weefselherstel versnellen doordat ze de inflammatie-, proliferatie- en remodeleringsfase optimaliseren.

Ultrageluid is ook verantwoordelijk voor een stijging van de weefseltemperatuur (Levine et al., 2001; Fyfe et al., 1985). De omvang van deze stijging is afhankelijk van een aantal parameters, zoals de intensiteit van de ultrageluidsgolven, de frequentie van de gebruikte ultrageluidsgolven en de homeostatische processen die de temperatuurstijging in de weefsels

tracht tegen te gaan (Baker et al., 2001; Steiss, 2003; Watson, 2008). Hoewel dit warmte-effect zeer klein kan zijn ( $<1^{\circ}\text{C}$ ), worden sommige enzymen, zoals het matrix metalloproteïnase-1 (MMP-1) of het collage-nase-enzym, positief beïnvloed door deze minieme temperatuurstijging (Welgus et al., 1981). Matrix-metalloproteïnase-1 is een enzym dat in staat is om extracellulaire matrixeiwitten af te breken. De stimulatie van MMP-1 heeft een gunstig effect op botheling aangezien de matrix tijdens het helingsproces gedeeltelijk moet worden afgebroken.

Het toepassen van ultrageluidtherapie bij kleine huisdieren vindt zijn oorsprong in de humane geneeskunde. In het verleden werd ultrageluid voornamelijk gebruikt voor zijn thermische effecten maar de laatste jaren wordt het steeds meer omwille van zijn niet-thermische effecten gebruikt, in het bijzonder omwille van de positieve invloed op weefsel- en botheling. In 1994 keurde de “Food and Drug Administration” het gebruik van ultrageluid met een lage intensiteit goed om de heling van recente fracturen te versnellen en in 2000 mocht ultrageluid ook gebruikt worden voor de behandeling van non-unions (Rubin et al., 2001).

Tot op de dag van vandaag wordt deze therapie in de diergeneeskunde echter niet routinematig gebruikt en is ze voornamelijk van toepassing bij orthopedische patiënten waarbij men na een klassieke behandeling geen goede resultaten ziet.

Een gemodificeerde vorm van ultrageluidtherapie is de “extracorporeale shock wave therapy” (ESWT). De term “shockwave” verwijst naar mechanische schokgolfpulsen die als een golf uitdeinen in een medium (water, lucht of een vaste stof). Het gaat om hoorbare energetische geluidsgolven. Er zijn twee vormen van shockwave die in de praktijk (zowel in de humane als in de diergeneeskunde) worden toegepast: de radiale shockwave (RSWT) en de gefocuste shockwave (FSWT). Beide technieken werken even goed maar hebben een ander toepassingsgebied. Bij apparaten met radiale shockwave wordt de energie over een groot oppervlak verdeeld. Deze apparaten produceren een laag tot middelhoog energieniveau. Bij apparaten met gefocuste shockwave daarentegen wordt de energie op een bepaalde plek geconcentreerd en bij deze apparaten wordt een hoog energieniveau geproduceerd. RSWT kan botheling stimuleren (Wang et al., 2001), maar in dit artikel wordt hier niet verder op ingegaan.

Het doel van dit artikel is om een overzicht te geven van de reeds bestaande literatuur omtrent het gebruik van ultrageluid in de diergeneeskunde.

## WERKINGSMECHANISME VAN ULTRAGELUID

De ultrageluidsgolven worden het lichaam ingezonden met behulp van een ‘transducer’ (Figuur 1) die in rechtstreeks contact moet staan met het huidoppervlak. Om een minimale reflectie van de golven op de overgang tussen transducer en huid te bekomen, moet het dier geschoren worden op de plaats van behande-



**Figuur 1.** Een transducer.

ling en moet er een medium geplaatst worden tussen de huid en de transducerkop (Millis en Levine, 1997). Idealiter is dit medium voldoende vloeibaar zodat het het gehele oppervlak kan bedekken en is het relatief visceus zodat het op zijn plaats blijft. Bovendien moet het de transmissie van de ultrageluidsgolven toelaten met een zo minimaal mogelijke absorptie, demping en verstoring van deze ultrageluidsgolven. Media gebaseerd op water of gel zijn te verkiezen boven media die olie of room bevatten (Watson, 2008).

Er zijn drie mogelijkheden voor het toepassen van ultrageluid: directe koppeling, onderwaterimmersie en koppelingskussens (Millis en Levine, 1997; Steiss, 2003).

### 1. Directe koppeling

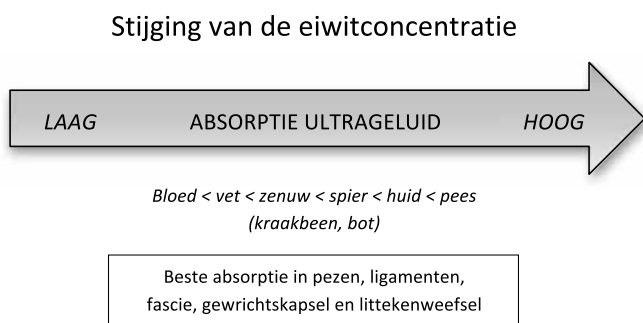
Bij directe koppeling wordt er een wateroplosbare gel op de huid en op de kop van het toestel aangebracht. Producten, zoals elektroconductieve gels, lanoline-afgeleide producten en minerale oliën, worden afgeraden.

### 2. Onderwaterimmersie

Bij de onderwaterimmersiemethode wordt het behandelde lichaamsdeel in een container met water op kamertemperatuur gezet waarbij zowel de huid als het water proper moet zijn. De afstand tussen de transducerkop en de huid varieert tussen 0,5 en 3,0 cm. Metaal heeft de eigenschap om een deel van de ultrageluidsgolven te weerkaatsen, waardoor de intensiteit op bepaalde plaatsen hoger is. Hierdoor wordt bij de onderwaterimmersiemethode de voorkeur gegeven aan rubberen of plastic containers.

### 3. Koppelingskussens

Bij deze methode wordt er gebruik gemaakt van een contactkussen, bijvoorbeeld een waterballon.



**Figuur 2. Schematische voorstelling van de mate van absorptie in verschillende weefsels.**

Belangrijk hierbij is de aanwezigheid van gel op het contactoppervlak om een minimale reflectie te bekomen (Steiss, 2003).

Wanneer de ultrageluidsgolven doorheen weefsels penetreren, daalt de energie recht evenredig met de afgelegde afstand doordat de ultrageluidsgolven zich verspreiden over het weefsel en geabsorbeerd worden (Rubin et al., 2001).

De mate van absorptie is afhankelijk van het type weefsel (Figuur 2). Wanneer ultrageluid gebruikt wordt op weefsels met een lage absorptie, is de therapie minder effectief dan wanneer deze toegepast wordt op weefsels met een hoge absorptie (Watson, 2006; Watson, 2008). Zo is de absorptie hoger in weefsels met veel proteïnen en weinig vetcellen. Dit verklaart waarom ultrageluidsgolven makkelijk penetreren doorheen subcutaan vet met weinig verlies aan energie en waarom ze meer geabsorbeerd worden door weefsels met veel collageen (Steiss, 2003; Watson, 2006). Het grote probleem met kraakbeen en bot is de reflectie van de ultrageluidsgolven aan het oppervlak. Dit betekent dat een significant deel van de energie van ultrageluidsgolven wordt gereflecteerd en dus niet kan worden geabsorbeerd.

Ultrageluid wordt geproduceerd door een ‘high-frequency generator’ of ook wel een ultrageluidkop genoemd die piëzo-elektrische kristallen bevat. Deze hebben de speciale eigenschap dat ze vervormd kunnen worden door elektrische stroom en geluidsgolven uitzenden (met een frequentie inherent aan het kristal). Bij ultrageluid worden longitudinale geluidsgolven uitgezonden door de transducer en worden de diepere weefsels tot op een maximum diepte van 5 cm opgewarmd tot 40 – 45 °C zonder hierbij de oppervlakkige weefsels te oververhitten (Millis en Levine, 1997; Baxter en McDonough, 2007; Watson, 2006) (Figuur 3).

Indien het toestel in continue modus staat, treden zowel thermische als niet-thermische effecten op. In gepulseerde modus blijven vooral de niet-thermische effecten aanwezig.

Volgens Baker et al. (2001) is het niet correct om aan te nemen dat er op één bepaald tijdstip maar één effect aanwezig is. Volgens de auteurs zijn deze twee effecten onafscheidelijk van elkaar.

## DE VERSCHILLENDE WERKINGSFASEN VAN ULTRAGELUID OP WEKE DELEN

Na beschadiging herstellen zachte weefsels via een complex cascadesysteem. Dit leidt tot de vorming van littekenweefsel dat de continuïteit van het beschadigde weefsel herstelt.

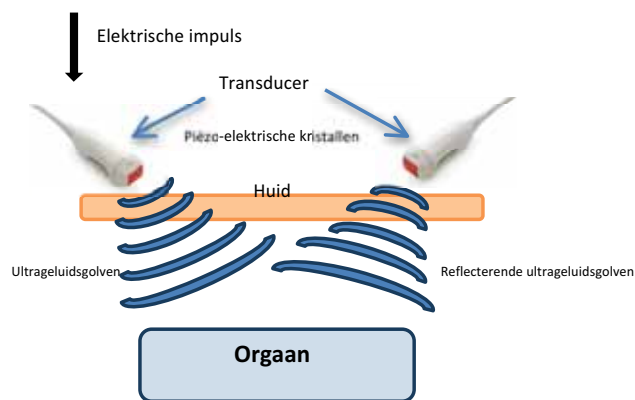
Het effect van ultrageluid gedurende dit herstelingsproces varieert naargelang het tijdstip van toepassing. Het is erg belangrijk om te weten in welke fase van het herstelingsproces het weefsel zich bevindt op het moment van behandeling (Watson, 2006).

### De bloedingsfase

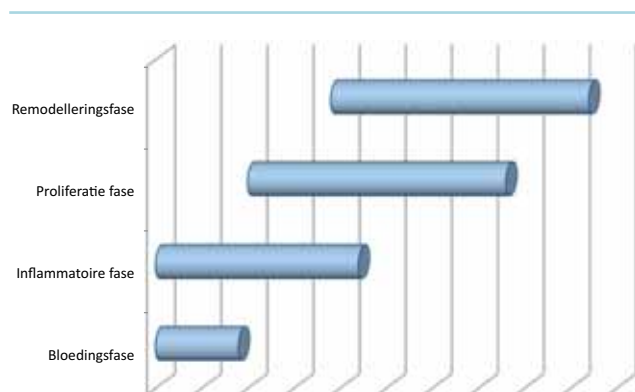
Het wordt afgeraden om onmiddellijk na het trauma ultrageluid toe te passen omdat dit de lokale bloedvloeit kan verhogen. Aangezien er reeds een bloeding aanwezig is, zou dit nadelig zijn voor de weefsels (Watson, 2006) (Figuur 4).

### De inflammatoire fase

Tijdens de inflammatoire fase hebben ultrageluidsgolven een positieve invloed op mastcellen, bloedplaatjes en op witte bloedcellen met een fagocyterende rol (Nussbaum, 1997; ter Haar, 1999; Fyfe en Chahl, 1982; Maxwell, 1992). Ultrageluidsgolven induceren



**Figuur 3. Werkingsmechanisme van ultrageluid op weefsels.**



**Figuur 4. Overzicht van de verscheidene helingsfasen.**

de degranulatie van mastcellen, wat op zich de vrijstelling van arachidonzuur veroorzaakt. Arachidonzuur is op zijn beurt de precursor van prostaglandinen en leukotriënen (Mortimer en Dyson, 1988; Nussbaum, 1997; Leung et al., 2004). Door het verhogen van de activiteit van deze cellen kan ultrageluid een pro-inflammatoire invloed uitoefenen op weefsels. Hoe efficiënter dit proces plaatsvindt, hoe sneller het weefsel naar de volgende fase overgaat. Dit is de proliferatiefase (Watson, 2006).

### De proliferatiefase

Ultrageluidsgolven stimuleren tijdens deze fase fibroblasten, endotheliale cellen en myofibroblasten (Ramirez et al., 1997; Mortimer en Dyson, 1988; Young en Dyson, 1990; Nussbaum, 1997 en Maxwell, 1992). Deze cellen zijn in normale omstandigheden aanwezig tijdens de vorming van het littekenweefsel. Net zoals in de inflammatoire fase brengen ultrageluidsgolven geen stijging van de activiteit van deze cellen teweeg maar zorgen wel voor een zo hoog mogelijke efficiëntie van de proliferatiefase waardoor de vorming van littekenweefsel bevordert wordt (Watson, 2006).

LIPUS veroorzaakt een stijging van de eiwitsynthese, fibroplasie en een betere collageensynthese (Harvey et al., 1975).

Ultrageluid met een lage intensiteit heeft enkel effect op cellen die aanwezig zijn in zachte weefsels; cellen van botweefsel vertonen geen respons (Romano en Logoluso, 2009).

### De remodeleringsfase

Ultrageluid kan invloed hebben op de remodelering van littekenweefsel. Het verbetert niet alleen de oriëntatie van de nieuwgevormde collageenvezels, maar het zorgt ook voor een shift van Type III- naar Type I-collageen, waardoor de treksterkte verhoogt en de mobiliteit van het littekenweefsel verbetert (Nussbaum, 1998; Wang, 1998).

## HET EFFECT VAN ULTRAGELUID OP BOTHELING

In 1952 demonstreerden Corradi en Cozzolino dat de callusvorming ter hoogte van een radiale fractuur bij ratten kon worden gestimuleerd door de toepassing van continue ultrageluidsgolven. Deze bevindingen leidden tot het klinische gebruik van ultrageluid in de diergeneeskunde.

Ondanks de geavanceerde technieken die vandaag beschikbaar zijn om fracturen te behandelen, heelt 5 tot 10% van alle fracturen in de humane geneeskunde niet (Brinker en O'Connor, 2008). Wanneer de continuïteit in het bot drie maanden na het trauma nog niet hersteld is, spreekt men van delayed union of een vertraagde heling. Wanneer een fractuur na negen maanden nog niet geheeld is en er gedurende de laatste drie maanden radiologisch geen tekenen van fractuurheling

zichtbaar zijn, spreekt men van non-union (Brinker en O'Connor, 2008).

Risicofactoren voor het ontstaan van een delayed- of non-union zijn onder andere diabetes, verminderde bloedtoevoer en/of infectieuze processen ter hoogte van de fractuur, erge beschadiging van weke delen en een inadequate fixatie van de fractuur (Romano en Logoluso, 2009).

### De verschillende fasen van fractuurheling

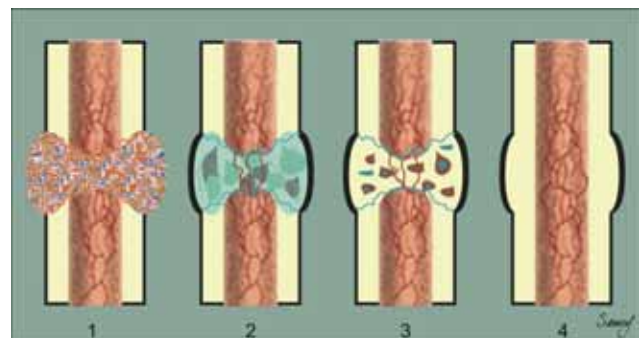
De fractuurgenezing kan onderverdeeld worden in een directe en een indirecte fractuurheling. De determinanten voor het type van fractuurheling zijn de reductie, appositie en de krachten die inwerken op de weefsels in de breuklijn (Risselada et al., 2007).

In het geval van een directe fractuurheling wordt er geen (of slechts een minimale hoeveelheid) externe callus gevormd. De beweeglijkheid ter hoogte van de breuk is laag genoeg om directe botvorming toe te staan (Brinker, 2008; Risselada et al., 2007). Een adequate bloedvoorziening is tijdens dit proces noodzakelijk. Indien beide botuiteinden rechtstreeks contact hebben met elkaar, dan is er contactheling; indien er een kloof aanwezig is, dan is er gap-heling (Brinker, 2008).

De indirecte fractuurheling gebeurt in fasen die elkaar overlappen (Figuur 5). Tijdens het acute stadium wordt een lokaal hematoom gevormd ter hoogte van de fractuurstukken. Ter hoogte van dit hematoom worden ontstekingsmediatoren en groeifactoren vrijgesteld die de angiogenese en botheling zullen stimuleren (stadium 1) (Claes en Willie, 2007).

In dit stelsel groeien bindweefselcellen in. Dit is de zogenaamde reparatie-callusvorming (stadium 2). Osteoclasten ruimen beschadigd en necrotisch weefsel op en osteoblasten vormen bindweefsel (vorming kraakbeen en collageen (type II)) dat een verbinding maakt tussen de twee botgedeelten (i.e. fibreuze callus).

Het kraakbeen ondergaat in een verder stadium mineralisatie (i.e. enchondrale ossificatie) en er wordt eveneens matuur collageen (type I) gevormd (stadium 3). Aldus ontstaat er een beenderige callus om de plek van de botbreuk heen. Zo gaat de breuk, die aanvankelijk helemaal loszat, geleidelijk flexibel vastzitten. Nadien wordt deze callus geremodelleerd om optimale



**Figuur 5.** De verschillende fasen tijdens een indirecte fractuurheling.

stevigheid te kunnen bieden (stadium 4) (Claes en Willie, 2007).

Het type weefsel dat tussen de fractuur gevormd wordt, is afhankelijk van de biomechanische karakteristieken en de krachten die aanwezig zijn ter hoogte van deze breuk. De meest belangrijke factor die het type weefsel bepaalt, is 'strain'. Strain wordt gedefinieerd als de relatieve verandering in afstand tussen beide fractuuruiteinden ten opzichte van de oorspronkelijke afstand tussen beide fractuuruiteinden (Perren, 2002).

### De invloed van ultrageluid op botheling

Dyson en Brooks (1983) toonden aan dat een behandeling met pulserende ultrageluidsgolven van 500mW/cm<sup>2</sup> de fractuurheling versnelde ten opzichte van een controlegroep die geen behandeling onderging. Hierbij werd vastgesteld dat ultrageluidtherapie het meeste effect had gedurende de eerste fasen van de botheling.

In het verleden zijn er verscheidene studies uitgevoerd om het biologische mechanisme dat verantwoordelijk is voor de effecten van ultrageluid op fractuurheling nader te onderzoeken. Deze studies werden zowel in vitro als in vivo uitgevoerd.

Ultrageluidsgolven met een lage intensiteit veroorzaken een verhoogde calciumincorporatie in gedifferentieerd kraakbeen en in celculturen van botweefsel, wat resulteert in een verandering van het celmetabolisme. Door de verhoogde calciumincorporatie stijgt de secundaire "messengeractiviteit". Deze stimuleert op haar beurt de adenylaacyclase-activiteit, die de synthese van TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) door de osteoblasten stimuleert (Ryaby et al., 1989).

Ook op de secundaire messengeractiviteit in primaire chondrocyten heeft ultrageluid een positief effect. Na toepassing van ultrageluid stijgt de vrijstelling van cellulair calcium immers met een frequentie van 50mW/cm<sup>2</sup> (Parvizi et al., 1997). Kokubu et al. (1999) toonden aan dat ultrageluidsgolven met een intensiteit van 30mW/cm<sup>2</sup> de productie van prostaglandine E2 verhogen door de inductie van het cyclooxygenase-2 mRNA in de osteoblasten van muizen. Prostaglandine E2 activeert de osteoblasten en tegelijkertijd ook de voorlopercellen uit het beenmerg die tot osteoblasten differentiëren (Kokubu et al., 1999).

Ito et al. (2000) onderzochten het effect van ultrageluid op de secretie van groeifactoren in een cocultuur van humane osteoblasten en endotheliale cellen en ze vonden dat ultrageluidsgolven de vrijstelling van PDGF (platelet-derived growth factor) verhoogt.

Wanneer chondrocyten blootgesteld worden aan ultrageluidsgolven met lage intensiteit, wordt de genexpressie voor aggrecan (chondroïtinesulfaatproteoglycaan 1) gestimuleerd. Deze genexpressie gebeurt normaal tijdens de vroege fase van de fractuurheling. Gedurende de chondrogenese vormt dit chondroïtinesulfaat-aggregaten met hyaluronzuur, decorine en biglycaan. Deze aggregaten vormen de basis voor collageen type II, dat zeer belangrijk is gedurende de callusvorming (Wu et al., 1996).

Reher et al. (2002) toonden de relatie aan tussen ultrageluid en een stijging van stikstofmonoxide (NO) en prostaglandine E2 door humane osteoblasten bloot te stellen aan ultrageluid. Voor dit experiment maakten ze gebruik van twee types ultrageluiden (1MHz en pulserend, 45kHz en niet-pulserend) en een controlegroep. De osteoblasten, afkomstig van de mandibula, werden gedurende 5 minuten blootgesteld aan beide types ultrageluid en werden hierna geïncubeerd bij 37°C gedurende 24 uur. De NO-concentratie werd colorimetrisch gemeten terwijl de PGE2 via radioimmunoassay bepaald werd. Er werd vastgesteld dat ultrageluid een significante stijging veroorzaakt in zowel de NO- als PGE2-concentratie. Niet enkel prostaglandinen zijn noodzakelijk voor de inductie van botvorming en de remodelering, veroorzaakt door mechanische stimuli, maar ook NO is nodig voor nieuwbeenvorming. Stikstofmonoxide speelt een belangrijke rol in de remodelering aangezien het zowel de osteoclast- als osteoblastactiviteit kan reguleren (Reher et al., 2002). De architectuur van trabeculair bot wordt beïnvloed door de interfererende krachten die op het bot uitgeoefend worden (= wet van Wolff). De vorm en architectuur van botweefsel passen zich aan aan de mechanische krachten die door de omgeving op het botweefsel worden uitgevoerd. Dit gebeurt door remodelering van het botweefsel in functie van de grootte en richting van de uitgeoefende krachten (Huiskes et al., 2000). Ultrageluidsgolven vormen een mechanische kracht die volgens de wet van Wolff op een non-invasieve manier een effect heeft op de remodelering van botweefsel (Rubin et al., 2001).

Recent werden een systematische review en een meta-analyse gepubliceerd omtrent het effect van "low-intensity pulsed ultrasound" (LIPUS) op botheling. Hiervoor werd gebruik gemaakt van 23 publicaties die door twee beoordelaars werden geselecteerd op basis van verscheidene criteria (onder andere applicatie van LIPUS, fracturen en humane klinische proef). Van de uitgevoerde experimenten met recente fracturen kwamen er zeven in aanmerking voor de meta-analyse. Als criterium werd er gebruikt gemaakt van het tijdstip waarop er radiografisch een stijging zichtbaar was wat betreft de densiteit en de grootte van de initiële periostale reactie. Er werd vastgesteld dat de botheling bij patiënten met een recente fractuur een radiografisch snellere helingstijd vertoonde na behandeling met LIPUS.

Alhoewel er een zwak bewijs bestaat dat pulserende ultrageluidsgolven met een lage intensiteit ook radiografische genezing van delayed unions en non-unions ondersteunen, is het niet mogelijk om de gegevens te analyseren wegens gebrek aan voldoende studies met vergelijkbare resultaten (Tajali et al., 2012).

### STUDIES UITGEVOERD BIJ HONDEN

Rawool et al. (2003) brachten met behulp van power-dopplerechografie de wijzigingen in vascula-

risatie ter hoogte van de fractuur na behandeling met LIPUS in beeld. Bij zes honden (opgedeeld in twee groepen) werd een osteotomie van de ulna uitgevoerd. Vanaf de eerste dag postoperatief werd de eerste groep behandeld met pulserende ultrageluidsgolven (pulsyclusbepaling van 20%; 1,5 MHz; intensiteit: 30 mW/cm<sup>2</sup>) gedurende twintig minuten per dag. Groep 2 werd gebruikt als controlegroep. Na één week behandeling werd de vasculariteit ter hoogte van de fractuurplaats nagegaan met behulp van power-dopplerechografie. Er werd vastgesteld dat de vascularisatie ter hoogte van de fractuur driemaal hoger was in de behandelde groep dan bij de controlegroep. Na elf dagen bedroeg dit verschil nog 33%. Het gebruik van ultrageluid had een positief effect op de vascularisatie ter hoogte van de fractuur.

De eerste dag postoperatief was de fractuur bij beide groepen goed zichtbaar op zowel de röntgen- als de echobeelden. Op de laatste dag werden beide beeldvormingstechnieken herhaald en was de fractuur bij de behandelde groep reeds aan het fusioneren, terwijl de breuk nog duidelijk zichtbaar was in de controlegroep. Dit deed vermoeden dat pulserende ultrageluidsgolven een positieve invloed hadden op de botheling.

In een gelijkaardig experiment werden honden (van verscheidene rassen en met een leeftijd variërend tussen zeven maanden en zes jaar) met een recente diafysaire fractuur ter hoogte van de radius, ulna, femur of tibia gebruikt. Osteosynthese (intramedullaire pinning, externe fixatie of een combinatie van beide) werd uitgevoerd zodat er een goede stabiliteit bekomen werd ter hoogte van de fractuur. Vervolgens werden de honden opgedeeld in twee groepen, waarbij één groep gedurende 21 dagen behandeld werd met ultrageluid (LIPUS, 30 mW/cm<sup>2</sup>, 1,5 MHz, 20% pulsverhouding, 20 minuten per sessie) en de andere groep als controlegroep werd gebruikt. Op dag 30 postoperatief werd de botheling tussen beide groepen vergeleken. Men zag dat de gemiddelde bothelingstijd bij de behandelde groep (gemiddeld 67,5 dagen) significant lager lag dan deze van de controlegroep (gemiddeld 106 dagen). Ook in deze klinische studie werd vastgesteld dat LIPUS de botheling in het geval van recente diafysaire structuren stimuleert (Sousa et al., 2008).

Om het effect van ultrageluid op middelmatige tot grote botbreuken te evalueren werden acht honden in het onderzoek opgenomen die onderverdeeld werden in twee groepen. Bij beide groepen werd er onder algemene anesthesie een dubbele osteotomie van de ulna uitgevoerd. De grootte van deze osteotomie werd bepaald door de breedte van de diafyse. In groep 1 bedroeg dit de helft van de diafysebreedte, in groep 2 moest het gecreëerde defect groter zijn en gebruikte men hiervoor anderhalf maal de breedte van de diafyse. De dubbele osteotomie werd bij alle honden bilateraal uitgevoerd. At random werd één voorpoot behandeld met ultrageluidsgolven (LIPUS, 1 MHz, 50 mW/cm<sup>2</sup>, 20% pulsverhouding, 15 minuten) vanaf de eerste dag postoperatief gedurende zes dagen. Diezelfde procedure werd ook uitgevoerd op de andere

voorpoot, maar in dit geval werd het ultrasonapparaat niet aangesloten op netstroom.

De botheling werd opgevolgd één, drie en vijf maanden postoperatief. In de eerste groep was er een significant verschil aanwezig tussen de behandelde en de niet-behandelde voorpoot. Bij vier honden trad na vijf maanden reeds remodellering van de cortex op aan de behandelde kant, terwijl dit slechts bij één patiënt van de controlegroep op dat tijdstip zichtbaar was. Bij geen enkele patiënt werd er een non-union vastgesteld.

In groep 2 was er eveneens een significant verschil aanwezig. Bij drie patiënten trad er een non-union op aan de niet-behandelde voorpoot; dit in tegenstelling tot de behandelde voorpoot waar er bij alle patiënten botheling aanwezig was, maar de remodelleringsfase later plaatsvond. De conclusie was dat LIPUS in het geval van kleine en grote diafysaire defecten ter hoogte van de ulna een stimulant vormt voor botheling en dat het daarbij ook de incidentie van het ontstaan van een non-union bij grote defecten in de ulna vermindert (Yang en Park, 2001).

Aangezien uit reeds meerdere onderzoeken is gebleken dat ultrageluid een positieve invloed heeft op fractuurheling, werd er een experiment opgesteld waaruit het effect van ultrageluid op de bottingroei in poreus gecoate implantaten werd nagegaan. Er werden twaalf honden in het onderzoek opgenomen waarbij er bilateraal transcorticale implantaten werden ingebracht ter hoogte van de femur. Bij iedere hond werd één femur behandeld met ultrageluid, de andere kant diende als controle. Er werd vastgesteld dat de implantaten die behandeld werden met ultrageluid een versnelde bottingroei vertoonden in vergelijking met de controlekant (gemiddelde stijging van 18%) (Tanzer et al., 1996).

In het kader van een masterproef (Mosselmans et al., 2011) werd een pilootstudie uitgevoerd bij vijf honden (verschillend wat betreft ras, leeftijd, aard van de fractuur en type van fixatie). Bij drie patiënten was de aanwezigheid van een delayed union de reden van behandeling. Bij één patiënt met bilaterale elleboogincongruentie werd bilateraal een ulnotomie uitgevoerd en deze patiënt werd unilateraal behandeld (de niet-behandelde kant werd gebruikt als controle). Bij de laatste patiënt werd een recent ingespalkte radius-ulnafractuur behandeld.

Alle patiënten werden behandeld met pulserende ultrageluidsgolven aan een lage intensiteit (intensiteit = 0,3 W/cm<sup>2</sup>, frequentie = 3 MHz en een pulsverhouding van 2/8) gedurende 20 minuten per dag. Het totaal aantal sessies bedroeg acht. Om de resultaten van dit onderzoek te evalueren werd er gebruik gemaakt van radiografische opnamen, echobeelden bekomen met een lineaire transducer en een mankheidsscore vóór en na de behandeling. Bij patiënten met een delayed union was er een prominentere callus aanwezig dan in de beginsituatie. De vascularisatie was bij de meeste patiënten toegenomen en de mankheidsscore na behandeling was bij op één na alle patiënten gedaald ten opzichte van de mankheidsscore vóór de behandeling. Echter, door onder andere het beperkte aantal gevallen

**Tabel 1. Overzichtstabel van de reeds uitgevoerde experimenten omtrent het effect van ultrageluid op botheling.**

Studie	Type fractuur / Celtype	Toegepaste intensiteit	Resultaat
<b>In-vitrostudies</b>			
Chapman et al., 1980	Thymocyten	0,5-3 W/cm <sup>2</sup> 2 W/cm <sup>2</sup>	↓ Intracellulaire K <sup>+</sup> ionen ↓ Opname van K <sup>+</sup> ionen, ↑ K <sup>+</sup> efflux
Ryaby et al., 1989	Gedifferentieerd kraakbeen en beencelcultuur	200mW/cm <sup>2</sup>	↑ Ca <sup>+</sup> incorporatie
Ryaby et al., 1991, 1992	MC3T3/TE85 osteoblastische cellijnen	20, 30, 45 mW/cm <sup>2</sup>	↑ Adenylaat cyclase / ↑ TGFβ
Wu et al., 1996	Chondrocyten	50, 120 mW/cm <sup>2</sup>	↑ Expressie aggrecan mRNA
Parvizi et al., 1997, 1999	Chondrocyten	50-500 mW/cm <sup>2</sup>	↑ Vrijstelling intracelulair Ca <sup>+</sup> ↑ expressie aggrecan mRNA, ↑ proteoglycaansynthese
Kokubu et al., 1999	MC3T3 osteoblastische cellijnen	30mW/cm <sup>2</sup>	↑ Expressie van PGE <sub>2</sub> /COX-2
Ito et al., 2000	SaOS-2 cellijnen, HUVEC endotheliale cellen	30mW/cm <sup>2</sup>	↑ PDGF-AB secretie
Sun et al., 2001	Osteoblast-osteoclast celcultuur	0,068 W/cm <sup>2</sup>	↑ Aantal osteoblasten, ↓ aantal osteoclasten ↑ PGE <sub>2</sub> en TNFα
<b>In-vivostudies</b>			
Corradi en Cozzolinà, 1952	Radiale fractuur bij ratten	Continue ultrageluidsgolven	Vermoeden van een verhoogde callusvorming
Dyson en Brooks, 1983	Radiale fractuur bij ratten	Pulserende ultrageluidsgolven, 500mW/cm <sup>2</sup>	Versnelde fractuurheling
Tanzer et al., 1996	Poreus gecoat implantaat in een femurfractuur	30mW/cm <sup>2</sup>	Versnelde botingroei
Yang en Park, 2001	Kleine en grote diafysaire defecten van de ulna	1MHz, 50mW/cm <sup>2</sup> , 20% pulsverhouding, 15 minuten	↓ Incidentie van non-union; versnelde bothelingstijd
Rawool et al., 2003	Osteotomie van de ulna	30mW/cm <sup>2</sup>	Verhoogde vascularisatie ter hoogte van de osteotomie plaats
Sousa et al., 2008	Diafysaire fractuur (radius/ulna/femur/tibia) bij de hond	30mW/cm <sup>2</sup>	Versnelde bothelingstijd bij recente fracturen

en het ontbreken van controle-röntgenbeelden leverde deze pilootstudie geen wetenschappelijk bewijs van de positieve invloed van ultrageluid op botheling bij de hond maar de studie deed het wel vermoeden (Tabel 1).

## CONCLUSIE

In de humane geneeskunde is het gebruik van ultrageluid om botheling te stimuleren reeds lange tijd bekend. Bij de mens worden vaak ultrageluidsapparaten gebruikt om in het geval van een delayed- of non-union de botheling te stimuleren.

Ook in de diergeneeskunde is het gebruik van ultrageluid als positieve stimulans voor botheling bekend en werden er reeds enkele experimenten (voornamelijk op ratten) uitgevoerd om het effect ervan na te gaan. Uit de meeste experimenten kan geconcludeerd worden dat ultrageluid een versnelling van botheling veroorzaakt. De beperkte studies bij honden tonen aan dat er versnelde vascularisatie en callusvorming worden geïnduceerd.

Ondanks de positieve ervaringen wordt ultrageluid niet routinematig toegepast in de diergeneeskunde in het geval van een delayed- of non-union. Mogelijke verklaringen hiervoor zijn dat de techniek nog te weinig bekend is, de toestellen niet voldoende voorhanden zijn en de toepassing vrij arbeidsintensief is. Met de opkomst van de dierenfysiotherapie, de sensibilisering van de eigenaars en het gemakkelijker beschikbaar worden van ultrageluidtoestellen, zal deze

techniek in de toekomst mogelijk meer ingang vinden in de diergeneeskunde.

## REFERENTIES

- Baker K.G., Robertson V.J., Duck F.A. (2001). A review of therapeutic ultrasound: Biophysical effects. *Physical Therapy* 81, 1351-1358.
- Baxter G.D., McDonough S.M. (2007). Principles of electrotherapy in veterinary physiotherapy. In: McGowan C., Goff L., Stubbs N. (editors). *Animal Physiotherapy: Assessment, Treatment and Rehabilitation of Animals*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, p. 184-186.
- Brinker M.R., O'Conner D.P. (2008). Nonunions: evaluation and treatment. In: Browner B.D., Jupiter J.B., Levine A.M., Rafton P.G. en Krettek C. (editors). *Skeletal Trauma*. 4de Editie, W.B. Saunders Company, p. 1-94.
- Chapman I.V., MacNally N.A., Tucker S. (1980). Ultrasound-induced changes in rates of influx and efflux of potassium ions in rat thymocytes in vitro. *Ultrasound in Medicine and Biology* 6, 47-58.
- Claes L., Willie B. (2007). The enhancement of bone regeneration by ultrasound. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 93, 384-398.
- Cook S.D., Ryaby J.P., McCabe J., Frey J.J., Heckman J.D., Kristiansen T.K. (1997). Acceleration of tibia and distal radius fracture healing in patients who smoke. *Clinical Orthopaedics and related research* 337, 198-207.
- Corradi C., Cozzolino A. (1952). The action of ultrasound on the evolution of an experimental fracture in rabbits. *Minerva Ortopedica* 55, 44-45.
- Dyson M., Brookes M. (1982). Stimulation of bone repair by ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 2, 61-66.
- Fyfe M.C., Bullock M.I. (1985). Therapeutic ultrasound: some historical background and development in knowledge of its effect on healing. *Australian Journal of Physiotherapy* 31, 220-224.
- Fyfe M.C., Chahl L.A. (1982). Mast cell degranulation: A possible mechanism of action of therapeutic ultrasound. *Ultrasound in Medicine and Biology* 8 (Suppl 1), 62.
- Harvey W., Dyson M., Pond J. (1975). Metabolic changes induced by ultrasound in fibroblasts in vitro. In: Kazner E., de Vlieger M., Muller H.R., McCready V.R. (editors). *Proceedings of the Second European Congress on Ultrasonics in Medicine*, Amsterdam, the Netherlands: Excerpta Medica, p. 10-21.
- Huiskes R., Ruimerman R., Van Lenthe G.H., Janssen J.D. (2000). Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature* 405, 704-706.
- Ito M., Azuma Y., Ohta T., Komoriya K. (2000). Effects of ultrasound and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on growth factor secretion in co-cultures of osteoblasts and endothelial cells. *Ultrasound in Medicine and Biology* 26, 161-166.
- Kokubu T., Matsui N., Fujioka H., Tsunoda M., Mizuno K. (1999). Low intensity pulsed ultrasound exposure increases prostaglandin E2 production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in mouse osteoblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 256, 284-287.
- Leung M.C., Ng G.Y., Yip K.K. (2004). Effect of ultrasound on acute inflammation of transected medial collateral ligaments. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 85, 963-966.
- Levine D., Millis D.L., Mynatt T. (2001). Effects of 3-3-MHz ultrasound on caudal thigh muscle temperature in dogs. *Veterinary Research* 30, 170-174.
- Maxwell L. (1992). Therapeutic ultrasound: its effects on the cellular and molecular mechanisms of inflammation and repair. *Physiotherapy* 78, 421-426.
- Millis D.L., Levine D. (1997). The role of exercise and physical modalities in the treatment of osteoarthritis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 27, 913-931.
- Mortimer A.J., Dyson M. (1988). The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts. *Ultrasound in Medicine and Biology* 14(6), 499-506.
- Mosselmans L., Samoy Y., Verleyen P., Herbots P., Van Ryssen B. (2011). Het effect van ultrageluid op botheling bij de hond. Pilotstudie uitgevoerd bij 5 honden. *Masterproef, Faculteit Diergeneeskunde*, UGent.
- Nussbaum E.L. (1997). Ultrasound: to heat or not to heat – that is the question. *Physical Therapy Reviews* 2, 59-72.
- Parvizi J., Parpura J., Greenleaf J.F., Bolander M.E. (2002). Calcium signalling is required for ultrasound stimulated aggrecan synthesis by rat chondrocytes. *Journal of Orthopaedic Research* 20, 51-57.
- Perren S.M. (2002). Evolution of the internal fixation of long bone fractures. The scientific basis of biological internal fixation: choosing a new balance between stability and biology. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 84, 1093-1110.
- Ramirez A., Schwane J.A., McFarland C., Starcher B. (1997). The effect of ultrasound on collagen synthesis and fibroblast proliferation in vitro. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 29, 326-332.
- Rawool D., Goldberg B., Forsberg F., Winder A., Talish R., Hume E. (2003). Power Doppler assessment of vascular changes during fracture treatment with low-intensity ultrasound. *Journal of Ultrasound in Medicine* 22(2), 145-153.
- Reher P., Harris M., Whiteman M., Hai H.K. en Meghji S. (2002). Ultrasound stimulates nitric oxide and prostaglandin E<sub>2</sub> production by human osteoblasts. *Bone* 31, 236-241.
- Risselada M., van Bree H., Kramer M., Duchateau L., Verleyen P., Saunders J.H. (2007). Ultrasonographic assessment of fracture healing after plate osteosynthesis. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 48, 368-372.
- Romano C.L., Logoluso N. (2009). Low-intensity pulsed ultrasound for the treatment of bone delayed union or nonunion: a review. *Ultrasound in Medicine and Biology* 35, 529-536.
- Rubin C., Bolander M., Ryaby J.P., Hadjiargyrou M. (2001). The use of low-intensity ultrasound to accelerate the healing of fractures. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 83A, 259-270.
- Ryaby J.T., Bachner E.J., Bendo J.A., Dalton P.F., Tannenbaum S., Pilla A.A. (1989). Low intensity pulsed ultrasound increases calcium incorporation in both differentiating cartilage and bone cell cultures. *Transactions of the Annual Meeting: Orthopaedic Research Society* 14, 15.
- Sousa V.L., Alvarenga J., Padilha Filho J.G., Canola J.C., Ferrigno C.R.A., Alves J.M., Duarte L.R. (2008). Low-intensity pulsed ultrasound in diaphyseal fractures: clinical application in dogs. *Ciencia Rural* 38 (4), 1030-1037.
- Steiss J.E. (2003). Canine rehabilitation. In: Braund K.G. (editor). *Clinical neurology in small animals – Localization, diagnosis and treatment*, www.ivis.org.
- Tanzer M., Harvey E., Kay A., Morton P., Bobyn J.D. (1996). Effect of noninvasive low intensity ultrasound



- on bone growth into porous-coated implants. *Journal of Orthopaedic Research* 14 (6), 901-906.
- Tajali S., Houghton P., MacDermid J.C., Grewal R. (2012). Effects of low-intensity pulsed ultrasound therapy on fracture healing: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 91(4), 349-367.
- Ter Haar G. (2007). Therapeutic applications of ultrasound. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 93, 111-129.
- Wang E.D. (1998). Tendon repair. *Journal of Hand Therapy* 11(2), 105-110.
- Wang C.-J., Chen H.-S. en Yang D. (2001). Treatments of nonunions of long bone fractures with shock waves. *Clinical Orthopaedics and related research* 387, 95-101.
- Watson T. (2006). Electrotherapy and tissue repair. *Sportsex-Medicine* 29, 1-13.
- Watson T. (2008). Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. *Ultrasonics* 48, 321-329.
- Welgus H.G., Jeffrey J.J., Eisen A.Z. (1981). Human skin fibroblast collagenase. Assessment of activation energy and deuterium isotope effect with collagenous substrates. *Journal of Biological Chemistry* 256, 9516-9521.
- Wood R.W., Loomis A.L. (1927). The physical and biological effects of high frequency sound waves of great intensity. *Philosophical Magazine* 4, 417-436.
- Wu C.C., Lewallen D.G., Bolander M.E., Bronk J., Kinnick R., Greenleaf J.F. (1996). Exposure to low intensity ultrasound stimulates aggrecan gene expression by culture chondrocytes. *Transactions of the Annual Meeting: Orthopaedic Research Society* 21, 622.
- Yang K.H., Park S.J. (2001). Stimulation of fracture healing in a canine ulna full-defect model by low-intensity pulsed ultrasound. *Yonsei Medical Journal* 42 (5), 503-508.
- Young S.R., Dyson M. (1990). The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. *Ultrasound in Medicine and Biology* 16, 261-269.

## PAARDEN EN ORENSPEL

Jacob van Maerlant, rond 1270

Paarden en sommige andere zoogdieren laten hun gemoedstoestand kennen in de houding van de oren. Dat weet iedereen die af en toe met paarden of honden omgaat. In de beschrijvende (encyclopedische) middeleeuwse literatuur werd het zelfs in verzen gezet. In *Der naturen bloeme* behandelt Jacob van Maerlant uitvoerig het paard en de oren (horen!) mochten niet ontbreken.

In parde meest boven alle diere  
mach men merken hare maniere  
oegedane wijs dat si sijn ysinet (gezind)  
an de horen eist dat mense kinnnet (kent)  
hoet hem van moede mach staen

sijnsi vermoiet si latense gaen  
sijnsi gram si legense ant hovet (hoofd)  
sijnsi vervart des gelovet  
so recsise vortward weder  
ende sijnsi siec si legghense neder

Bron *Der naturen bloeme*, teksteditie M. Gysseling digitaal beschikbaar op de DBNL site (verzen 2265 – 2274)