

## · 综述 ·

## 体外冲击波疗法促进创面愈合机制研究进展

赵景春 薛岩 于家傲 石凯 咸春静 周鑫

**Advances in the research of mechanism of enhancement of wound healing with extracorporeal shock wave therapy**

Zhao Jingchun, Xue Yan, Yu Jiaao, Shi Kai, Xian Chunjing, Zhou Xin. Department of Burn Surgery, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China

Corresponding author: Yu Jiaao, Email: bu\_dong007@163.com

**【Abstract】** The vast majority of the published papers dealing with the treatment of wounds in the past few decades reported that extracorporeal shock wave therapy (ESWT) used in wound repair is easy in manipulation, noninvasive, safe, effective, and well tolerated by patients. However, little is known about the mechanism of ESWT in wound healing to date. In this article, we reviewed the literature to identify the potential cellular and molecular mechanisms of ESWT in the process of wound healing, and the results of the literature showed that the mechanism of ESWT in promoting wound healing is the result of heterogeneous biological effects.

**【Key words】** Wound healing; Extracorporeal shock wave therapy; Mechanism

**【关键词】** 伤口愈合; 体外冲击波疗法; 机制

各种原因造成的急慢性创面和疑难创面的修复仍是困扰临床医师的难题。如何快速有效地封闭创面成为临床研究的焦点之一。体外冲击波疗法(ESWT)作为创面治疗辅助措施受到越来越多的关注,然而其作用机制尚不明确。本文就 ESWT 对创面愈合作用的相关研究进行梳理和总结,讨论其促进创面愈合的可能机制,为阐明 ESWT 促进创面愈合作用的深入研究提供相关佐证和思路。

**1 ESWT 简介**

ESWT 按作用形式大致分为放散式和聚焦式 2 种;根据能流密度不同可分为高能量和低能量 2 种,但具体标准尚无统一论。有学者认为,能流密度小于或等于  $0.12 \text{ mJ/mm}^2$  时为低能量,大于  $0.12 \text{ mJ/mm}^2$  时为高能量<sup>[1]</sup>。也有学者将能流密度  $0.15 \text{ mJ/mm}^2$  作为分界点用来界定高、低能量 ESWT<sup>[2]</sup>。尽管 Haupt 和 Chvapil<sup>[3]</sup> 早在 1990 年即已报道 ESWT 可促进创面愈合,但 ESWT 对创面愈合作用的系统研究近年来才真正开始。研究表明,ESWT 作为创面治疗的一种新型辅助方法,无创、安全、经济,其治疗效果已得到广泛认同<sup>[4]</sup>,然而其可能作用机制尚无统一共识和定论。

**2 ESWT 促进创面愈合的可能机制**

目前研究显示,ESWT 促进创面愈合的机制涉及多种因

素,主要包括促进创面血管生成,增加组织血供,刺激创面细胞增殖、分化和再生,抑制早期的炎症反应,减轻创面细菌定植,募集间充质干细胞和内皮祖细胞至创面等方面。

**2.1 促进创面血管生成**

局部血运循环的改善对创面愈合具有重要意义。血管内皮生长因子(VEGF)是血管形成中的重要因子,Wang 等<sup>[5]</sup>研究证实,ESWT 可通过 Ras 依赖的超氧化物途径以及通过调节细胞外信号调节激酶(ERK)依赖的缺氧诱导因子  $1\alpha$ (HIF- $1\alpha$ )磷酸化,促进 HIF- $1\alpha$  与 VEGF 启动子结合,诱导和增加 VEGF 的表达。其他学者进一步研究显示,ESWT 可通过提高 VEGF 或其受体的表达水平促进 SD 大鼠腹部创面血管的形成<sup>[6]</sup>。此外,ESWT 还可通过调节一氧化氮的表达促进血管生成和改善组织血供,这种作用可通过 NOS 完成<sup>[7]</sup>,也可以通过不依赖酶的其他机制实现<sup>[8]</sup>。再者,应用低能量 ESWT 还可以显著增加血小板内皮细胞黏附分子 1(PECAM-1)的表达<sup>[9]</sup>,而该分子在组织修复的血管生成中具有重要作用<sup>[10]</sup>。也有学者认为,ESWT 促进创面血管生成、改善创面血供的作用与其升高增殖细胞核抗原的表达有关<sup>[11]</sup>。

ESWT 促血管生成作用更可能是多种因子共同作用的结果。Stojadinovic 等<sup>[12]</sup>在全厚皮肤移植小鼠模型中的研究显示,ESWT 可通过增加 PECAM-1 和多种血管生成通路特异因子的表达促进血管再生,包括谷氨酸-亮氨酸-精氨酸阳性趋化因子、CC 趋化因子、IL- $1\beta$ 、IL-6、VEGF-A、多种基质金属蛋白酶、HIF- $1\alpha$ 、血管重塑激酶等。Zins 等<sup>[13]</sup>在糖尿病小鼠创面模型中对 84 种已知促血管生成基因的表达情况进行分析,结果表明 ESWT 可显著增强和延长多种促血管生成关键基因的表达,尤其是增加 PECAM-1 的表达。

上述研究提示,ESWT 可通过上调创面组织内多种促血管生成基因、细胞因子和趋化因子的表达诱导创面新生血管形成,改善创面血供和氧合,这对促进组织再生和修复具有重要意义。

**2.2 增加组织血流灌注**

创面的血液循环情况是影响创面愈合的重要因素。除上述促血管生成作用外,有学者就 ESWT 对创面血流灌注的影响进行了研究。对大鼠超比例任意皮瓣或轴型皮瓣的研究显示,ESWT 具有增加皮瓣血供、提高皮瓣成活率的作用<sup>[6,14]</sup>。此外,Arnó 等<sup>[15]</sup>将 ESWT 应用于深 II、III 度烧伤患者创面,激光多普勒成像显示,ESWT 可显著增加创面的血流灌注。Wang 等<sup>[16]</sup>在慢性糖尿病足的临床研究中也证实,ESWT 具有显著增加创面局部组织血供的作用。ESWT 的这一作用十分鼓舞人心,使得促进创面快速愈合的方法又多了一种选择和可能,这可能与前述 ESWT 促进血管生成和再血管化有关,然而这一想法尚需进一步研究证实。



### 2.3 促进组织再生

创面组织再生能力的高低是决定创面愈合快慢的重要因素,多种因素可对此过程产生影响。ESWT 可加快烧伤创面和供皮区创面的再上皮化速度<sup>[17]</sup>,促进多种下肢慢性溃疡创面和软组织缺损愈合<sup>[18]</sup>。ESWT 促进组织再生的机制尚不明确,除可能与前述促进创面血管生成、增加创面血流量有关外,还可能与促进创面组织细胞增殖、分化和再生,刺激 ECM 代谢,减少细胞凋亡,激活相关酶促反应,增加胶原纤维沉积,减少肉芽组织形成等有关<sup>[11,19]</sup>。有必要对 ESWT 促进组织再生的机制进行深入研究。

### 2.4 抑制伤后早期炎症反应

烧/创伤后早期适度的炎症反应有利于创面重塑和愈合,然而过度的炎症反应可发展为 SIRS 甚至 MODS,从而威胁患者生命。及时有效的控制过度炎症反应,对创面的愈合具有重要意义。Marrionto 等<sup>[20]</sup>认为,低能量 ESWT 在不影响丝氨酸磷酸化的情况下,使内皮型 NOS 转变为酪氨酸去磷酸化的形式,通过提高内皮型 NOS 的催化活性增加一氧化氮的表达,抑制 LPS/ $\gamma$  干扰素诱导的 NF- $\kappa$ B 活化,以及抑制 NF- $\kappa$ B 依赖的促炎性细胞因子表达,从而减轻炎症反应。Ciampa 等<sup>[21]</sup>则认为,ESWT 的抗炎机制是通过增加神经元 NOS 的催化活性,使一氧化氮快速产生实现的。

中性粒细胞和巨噬细胞是创面愈合初期炎性细胞因子、趋化因子、生长因子和炎症介质的主要来源。Stojadinovic 等<sup>[12]</sup>对全厚皮肤移植小鼠模型的实验表明,ESWT 可通过降低巨噬细胞炎症蛋白 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ) 和 MIP-1 $\beta$  的水平调节早期局部炎症反应。Davis 等<sup>[22]</sup>在 15% TBSA III 度烧伤小鼠模型中的研究显示,烧伤后早期应用 ESWT 不仅可通过下调趋化因子的表达减轻中性粒细胞和巨噬细胞浸润程度,还可明显降低与促炎反应相关的细胞因子(如  $\beta$  干扰素、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10 等)、CCL 趋化因子、CXCL 趋化因子以及多种基质金属蛋白酶的表达水平。Kuo 等<sup>[11]</sup>在大鼠超比例任意皮瓣模型中的研究表明,ESWT 可显著降低创面组织内炎性细胞浸润,免疫组织化学染色显示创面组织细胞内 CD45 和 TNF- $\alpha$  表达水平显著降低。

上述研究表明,ESWT 可通过下调促炎基因的表达和降低炎性细胞浸润程度,减轻创面局部的炎症反应,防止创面过度炎症反应的发生。然而也有研究表明,将 ESWT 作用于裸鼠 III 度烧伤创面后,可使滚动和黏附白细胞数目增加,从而具有潜在促炎作用<sup>[2]</sup>。这种矛盾结果出现的可能原因除与实验动物种类、给予的刺激强度不同等因素有关外,还可能与触发 SIRS 或 MODS 的阈值不同有关。提示有必要对烧/创伤早期 ESWT 的炎症干预作用及机制进行基础与临床研究。

### 2.5 抗感染

病原微生物定植和感染是创面延迟愈合甚至不愈合的主要原因之一。起初,人们因担心 ESWT 的机械性破坏作用会损伤感染创面的血管,使病原微生物入血引起严重的全身性感染而将局部感染列为 ESWT 的禁忌证。2000 年, von Eiff 等<sup>[23]</sup>首次报道 ESWT 能杀灭临床创面定植细菌——金黄色葡萄球菌后,ESWT 的抗感染作用才受到越来越多的关注。随后的研究显示,ESWT 可通过多种机制抑制细菌增殖

或杀灭细菌促进创面愈合:(1)体外试验表明,冲击波可通过将声能转化为机械能,产生机械性的气穴现象和剪切力,作用于细菌细胞膜和细胞壁,增加其通透性,以达到直接的杀菌作用<sup>[24]</sup>。(2)ESWT 可增加成年男性患者创面局部微循环血供,通过升高感染部位的抗菌药物浓度起到抗菌作用<sup>[25]</sup>。(3)在金黄色葡萄球菌的体外试验中表明,应用不同能流密度和脉冲数的 ESWT 可通过影响细菌生长发育杀灭细菌<sup>[26]</sup>。(4)ESWT 可通过局部热损伤或化学作用起到杀菌作用<sup>[27]</sup>,但这一结论尚未在临床研究中得到证实。

### 2.6 动员间充质干细胞和内皮祖细胞至创面

创面再生和愈合过程包含复杂的细胞和分子学机制。急性缺血可导致某些生长因子和趋化因子过度表达,增加内皮祖细胞的动员、募集和迁移。慢性缺血组织则可因这种刺激因素减弱而降低动员内皮祖细胞的能力<sup>[28]</sup>。Aicher 等<sup>[29]</sup>应用低能量 ESWT 预处理后肢慢性缺血裸鼠的研究表明,低能量 ESWT 可通过提高基质细胞衍生因子 1 的表达从而增加内皮祖细胞募集和迁移至缺血部位,改善缺血部位的血供。Chen 等<sup>[30]</sup>用 ESWT 照射节段性股骨缺损大鼠模型证实,间充质干细胞在损伤区域的表达显著增强。此外,Wang 等<sup>[31]</sup>的研究也表明,ESWT 可通过诱导超氧阴离子自由基生成激活酪氨酸激酶介导的 ERK 活化和核心结合因子 A1 的激活,促进骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞,促进成骨细胞的生长和成熟。同样,Yip 等<sup>[32]</sup>关于来源于成年雄性大鼠骨髓的单个核细胞的研究显示,ESWT 可促进单个核细胞向内皮细胞表型分化。Suhr 等<sup>[33]</sup>将 ESWT 应用于纯化培养的人骨髓基质细胞,结果显示 ESWT 可显著加速细胞的生长、增殖、迁移,并可显著减少细胞凋亡。此外,ESWT 还可通过增加 TGF- $\beta_1$  的表达,从而在骨髓间充质干细胞的生长、向成骨细胞的分化中起重要作用<sup>[34]</sup>。ESWT 刺激干细胞向创面迁移和分化,以及促进血管形成的作用对组织再生具有重要意义。

## 3 问题与展望

ESWT 作为创面治疗的辅助措施具有无创、安全、有效、简单易操作和耐受性良好等优点。由于创面愈合是需要创面组织细胞、炎症介质、细胞因子、趋化因子以及局部组织微环境等共同参与的复杂病理生理过程,因此关于 ESWT 产生何种生物学效应从而促进创面愈合目前仍无定论。此外,关于何种创面适于应用 ESWT,以及应用的能量、频率、周期数等参数的最佳设置也未达成一致。

根据目前研究可确定的是,ESWT 的声能作用于机体组织后转变为机械刺激,后者通过影响复杂的分子间和细胞间相互作用促进创面愈合。尚需进行大量的基础和临床研究,以从细胞和分子水平揭示 ESWT 促进创面愈合的具体机制,客观系统分析和评价后将其推广至临床。

### 参考文献

- [1] Speed C. A systematic review of shockwave therapies in soft tissue conditions; focusing on the evidence[J]. Br J Sports Med, 2014, 48(21): 1538-1542.
- [2] Goertz O, Lauer H, Hirsch T, et al. Extracorporeal shock waves improve angiogenesis after full thickness burn[J]. Burns, 2012,

- 38(7): 1010-1018.
- [3] Haupt G, Chvapil M. Effect of shock waves on the healing of partial-thickness wounds in piglets[J]. *J Surg Res*, 1990, 49(1): 45-48.
- [4] Dymarek R, Halski T, Ptaszkowski K, et al. Extracorporeal shock wave therapy as an adjunct wound treatment: a systematic review of the literature[J]. *Ostomy Wound Manage*, 2014, 60(7): 26-39.
- [5] Wang FS, Wang CJ, Chen YJ, et al. Ras induction of superoxide activates ERK-dependent angiogenic transcription factor HIF-1 $\alpha$  and VEGF-A expression in shock wave-stimulated osteoblasts[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(11): 10331-10337.
- [6] Mittermayr R, Hartinger J, Antonic V, et al. Extracorporeal shock wave therapy (ESWT) minimizes ischemic tissue necrosis irrespective of application time and promotes tissue revascularization by stimulating angiogenesis[J]. *Ann Surg*, 2011, 253(5): 1024-1032.
- [7] Hayashi D, Kawakami K, Ito K, et al. Low-energy extracorporeal shock wave therapy enhances skin wound healing in diabetic mice: a critical role of endothelial nitric oxide synthase [J]. *Wound Repair Regen*, 2012, 20(6): 887-895.
- [8] Gotte G, Amelio E, Russo S, et al. Short-time non-enzymatic nitric oxide synthesis from L-arginine and hydrogen peroxide induced by shock waves treatment[J]. *FEBS Lett*, 2002, 520(1/2/3): 153-155.
- [9] Ha CH, Kim S, Chung J, et al. Extracorporeal shock wave stimulates expression of the angiogenic genes via mechanosensory complex in endothelial cells: mimetic effect of fluid shear stress in endothelial cells[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(4): 4168-4177.
- [10] Park S, Sorenson CM, Sheibani N. PECAM-1 isoforms, eNOS and endoglin axis in regulation of angiogenesis [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129(3): 217-234.
- [11] Kuo YR, Wang CT, Wang FS, et al. Extracorporeal shock wave treatment modulates skin fibroblast recruitment and leukocyte infiltration for enhancing extended skin-flap survival[J]. *Wound Repair Regen*, 2009, 17(1): 80-87.
- [12] Stojadinovic A, Elster EA, Anam K, et al. Angiogenic response to extracorporeal shock wave treatment in murine skin isografts [J]. *Angiogenesis*, 2008, 11(4): 369-380.
- [13] Zins SR, Amare MF, Tadaki DK, et al. Comparative analysis of angiogenic gene expression in normal and impaired wound healing in diabetic mice: effects of extracorporeal shock wave therapy [J]. *Angiogenesis*, 2010, 13(4): 293-304.
- [14] Reichenberger MA, Keil H, Mueller W, et al. Comparison of extracorporeal shock wave pretreatment to classic surgical delay in a random pattern skin flap model [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2011, 127(5): 1830-1837.
- [15] Arnó A, García O, Hernán I, et al. Extracorporeal shock waves, a new non-surgical method to treat severe burns [J]. *Burns*, 2010, 36(6): 844-849.
- [16] Wang CJ, Kuo YR, Wu RW, et al. Extracorporeal shockwave treatment for chronic diabetic foot ulcers[J]. *J Surg Res*, 2009, 152(1): 96-103.
- [17] Djedovic G, Kamelger FS, Jeschke J, et al. Effect of extracorporeal shock wave treatment on deep partial-thickness burn injury in rats: a pilot study[J]. *Plast Surg Int*, 2014, 2014: 495967.
- [18] Omar MT, Alghadir A, Al-Wahhabi KK, et al. Efficacy of shock wave therapy on chronic diabetic foot ulcer: a single-blinded randomized controlled clinical trial [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 106(3): 548-554.
- [19] Link KA, Koenig JB, Silveira A, et al. Effect of unfocused extracorporeal shock wave therapy on growth factor gene expression in wounds and intact skin of horses[J]. *Am J Vet Res*, 2013, 74(2): 324-332.
- [20] Mariotto S, De Prati AC, Cavalieri E, et al. Extracorporeal shock wave therapy in inflammatory diseases: molecular mechanism that triggers anti-inflammatory action[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(19): 2366-2372.
- [21] Ciampa AR, De Prati AC, Amelio E, et al. Nitric oxide mediates anti-inflammatory action of extracorporeal shock waves[J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(30): 6839-6845.
- [22] Davis TA, Stojadinovic A, Anam K, et al. Extracorporeal shock wave therapy suppresses the early proinflammatory immune response to a severe cutaneous burn injury [J]. *Int Wound J*, 2009, 6(1): 11-21.
- [23] von Eiff C, Overbeck J, Haupt G, et al. Bactericidal effect of extracorporeal shock waves on *Staphylococcus aureus*[J]. *J Med Microbiol*, 2000, 49(8): 709-712.
- [24] Lokhandwalla M, McAteer JA, Williams JC Jr, et al. Mechanical haemolysis in shock wave lithotripsy (SWL): II. In vitro cell lysis due to shear [J]. *Phys Med Biol*, 2001, 46(4): 1245-1264.
- [25] Joukhadar C, Dehghanyar P, Traunmuller F, et al. Increase of microcirculatory blood flow enhances penetration of ciprofloxacin into soft tissue [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(10): 4149-4153.
- [26] Gerdsmeyer L, von Eiff C, Horn C, et al. Antibacterial effects of extracorporeal shock waves[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2005, 31(1): 115-119.
- [27] Gerdsmeyer L, Maier M, Haake M, et al. Physical-technical principles of extracorporeal shockwave therapy (ESWT) [J]. *Orthopade*, 2002, 31(7): 610-617.
- [28] Mittermayr R, Antonic V, Hartinger J, et al. Extracorporeal shock wave therapy (ESWT) for wound healing: technology, mechanisms, and clinical efficacy [J]. *Wound Repair Regen*, 2012, 20(4): 456-465.
- [29] Aicher A, Heeschen C, Sasaki K, et al. Low-energy shock wave for enhancing recruitment of endothelial progenitor cells: a new modality to increase efficacy of cell therapy in chronic hind limb ischemia[J]. *Circulation*, 2006, 114(25): 2823-2830.
- [30] Chen YJ, Wurtz T, Wang CJ, et al. Recruitment of mesenchymal stem cells and expression of TGF- $\beta$ 1 and VEGF in the early stage of shock wave-promoted bone regeneration of segmental defect in rats[J]. *J Orthop Res*, 2004, 22(3): 526-534.
- [31] Wang FS, Wang CJ, Sheen-Chen SM, et al. Superoxide mediates shock wave induction of ERK-dependent osteogenic transcription factor (CBFA1) and mesenchymal cell differentiation toward osteoprogenitors [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(13): 10931-10937.
- [32] Yip HK, Chang LT, Sun CK, et al. Shock wave therapy applied to rat bone marrow-derived mononuclear cells enhances formation of cells stained positive for CD31 and vascular endothelial growth factor[J]. *Circ J*, 2008, 72(1): 150-156.
- [33] Suhr F, Delhasse Y, Bungartz G, et al. Cell biological effects of mechanical stimulations generated by focused extracorporeal shock wave applications on cultured human bone marrow stromal cells[J]. *Stem Cell Res*, 2013, 11(2): 951-964.
- [34] Chen YJ, Wang CJ, Yang KD, et al. Extracorporeal shock waves promote healing of collagenase-induced Achilles tendinitis and increase TGF- $\beta$ 1 and IGF-I expression[J]. *J Orthop Res*, 2004, 22(4): 854-861.

(收稿日期:2014-09-27)

(本文编辑:程林)