

Harrison A. EXOGEN®: Mechanism of action for active healing. *Issue Rehabil. Orthop. Neurophysiol. Sport Promot.* 2015; 13: 69–78.

Andrew Harrison

Bioventus Coöperatief, Taurusavenue 31, 2132 LS Hoofddorp, The Netherlands, email: andrew.harrison@bioventusglobal.com

Andrew Harrison

Bioventus Coöperatief, Taurusavenue 31, 2132 LS Hoofddorp, Holandia, email: andrew.harrison@bioventusglobal.com



EXOGEN®: MECHANISM OF ACTION FOR ACTIVE HEALING

SUMMARY

The author presents his concept on the mechanism of action the fracture healing with the Exogen® Bone Healing System. Therapeutic benefits at all stages of bone repair are presented. Results are discussed in comparison to the data from literature regarding the clinical and experimental studies.

Keywords: low-intensity pulsed ultrasound, bone healing

Date received: August 15, 2015

Date accepted: September 10, 2015

Introduction

The positive effect of low-intensity pulsed ultrasound on the acceleration of bone healing has been demonstrated in non-clinical and clinical studies. Clinical studies have demonstrated significant positive effect of LIPUS in the treatment of fresh fractures and non-unions. The EXOGEN Bone Healing System is proven to positively influence fracture repair by using low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) technology to stimulate the body's natural biological processes at all stages of fracture healing (Figure 1; Azuma *et al.* 2001).

EXOGEN®: MECHANIZM DZIAŁANIA AKTYWNEGO GOJENIA

STRESZCZENIE

Autor artykułu prezentuje koncepcję mechanizmu działania leczenia złamań kości z wykorzystaniem metody Exogen®. Przedstawione zostały korzyści terapeutyczne na wszystkich etapach zrostu. Rezultaty zostały przedyskutowane w odniesieniu do danych z literatury odnoszących się do badań klinicznych i eksperymentalnych.

Słowa kluczowe: ultradźwięki o niskiej częstotliwości, leczenie kości

Data otrzymania: 15 sierpień, 2015

Data zaakceptowania: 10 wrzesień, 2015

Wprowadzenie

Pozytywny wpływ ultradźwięków pulsacyjnych o niskim natężeniu (LIPUS) na przyspieszenie gojenia kości wykazano zarówno w badaniach nieklinicznych jak i w badaniach klinicznych. W badaniach klinicznych wykazano znaczący korzystny wpływ LIPUS w leczeniu świeżych i niezrośniętych złamań kości. Wykazano, że System Gojenia Kości EXOGEN korzystnie wpływa na odbudowę kości poprzez wykorzystanie technologii ultradźwięków pulsacyjnych o niskim natężeniu (LIPUS) w celu pobudzenia naturalnych procesów biologicznych organizmu we wszystkich stadiach gojenia kości (Rycina 1; Azuma i wsp. 2001).

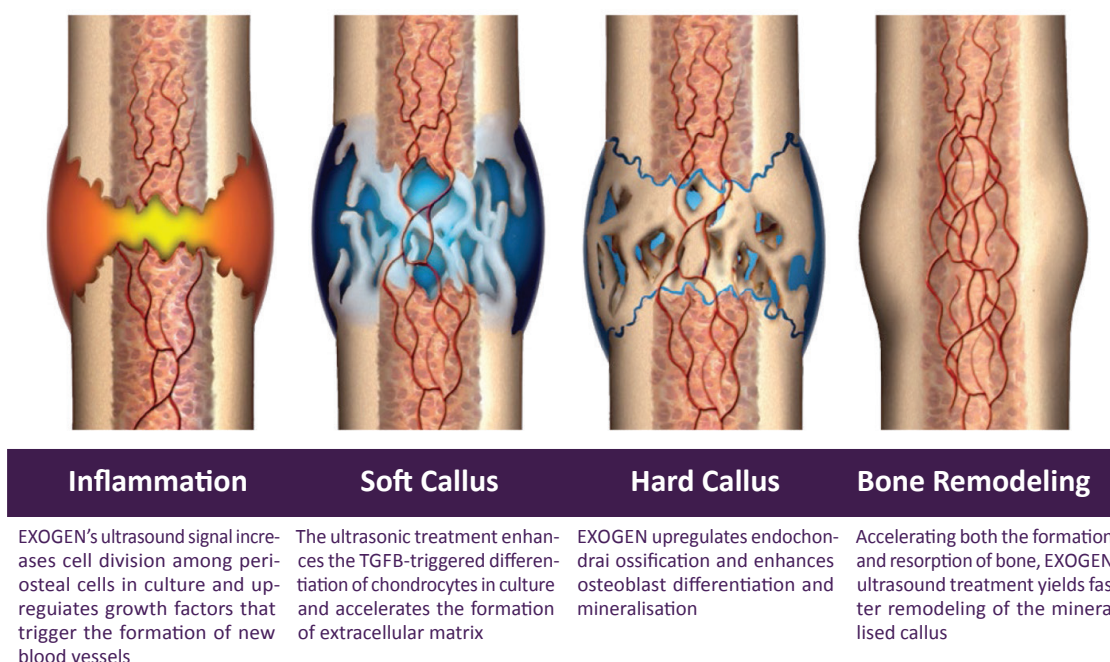
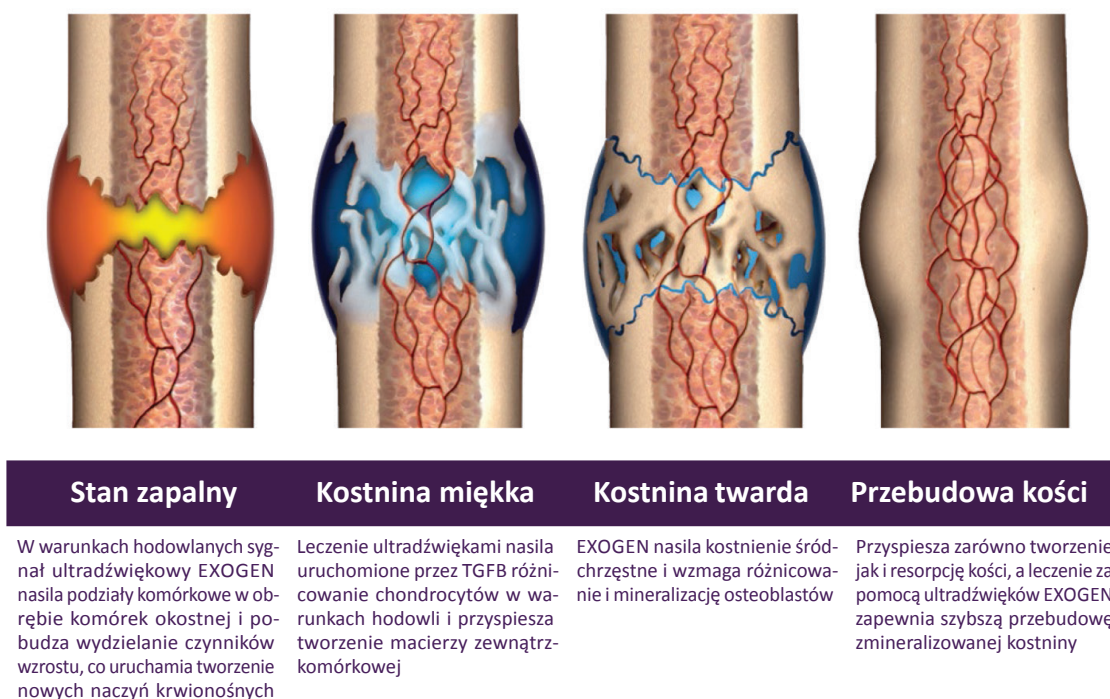


Figure 1. EXOGEN provides therapeutic benefit at all stages of bone healing and repair.



Rycina 1. EXOGEN zapewnia korzyści terapeutyczne na każdym etapie gojenia i odbudowy kości.

EXOGEN's low intensity pulsed ultrasound delivers an intensity of 30 mW/cm², (spatial average-temporal average), similar to foetal applications, 1.5 MHz ultrasound at a pulse rate of 1 KHz. The effect

Ultradźwięki pulsacyjne o niskim natężeniu generowane przez urządzenie EXOGEN dostarczają energii 30 mW/cm² (wartość zbliżona dostosowanej w USG przy badaniu płodu u kobiet w ciąży), o częstotliwości

is nano-mechanical stimulation, known as *nano motion* (Greenleaf *et al.* 2003). The purpose of this review is to provide the current understanding regarding the mechanism and mode of action for EXOGEN.

Methods and results

Evidence of Effect of EXOGEN on Fracture Repair

In order to understand the effect EXOGEN has on fracture repair, numerous pre-clinical models have been used to simulate the clinical situation. One such experimental in vivo model was performed for treating fractures at different periods of repair. A rat closed femoral fracture was created in both hind limbs with the right femur then exposed to EXOGEN, and the left femur was used as a control. The fractures were compared for the torsional strength of control rat fractures to those following application of EXOGEN (Azuma *et al.* 2001). Results showed that a significant increase in force was required to break the bones of the EXOGEN-treated rats (Figure 2).

1,5 MHz, przy pulsacji wynoszącej 1 KHz. Efektem jest stymulacja nanomechaniczna, znana pod nazwą nano motion (Greenleaf i wsp. 2003). Celem niniejszego przeglądu jest przedstawienie obecnego stanu wiedzy odnośnie mechanizmu i sposobu działania urządzenia EXOGEN.

Metody i wyniki

Dowody potwierdzające działanie EXOGEN w zakresie naprawy złamania

W celu zrozumienia wpływu, jaki wywiera EXOGEN na mechanizm naprawy złamania, przeprowadzono liczne badania przedkliniczne jako symulacje sytuacji klinicznej. Jeden taki eksperymentalny model in vivo zastosowano w leczeniu złamań na różnych etapach gojenia. U szczura wytwarzano obustronnie zamknięte złamanie kości udowej, przy czym prawą kość udową poddawano działaniu EXOGEN, a lewa kość udowa służyła jako kontrola. Porównywano odporność na skręcanie złamań kontrolnych oraz złamań poddanych działaniu EXOGEN u szczurów (Azuma i wsp. 2001). Wyniki wykazały, iż konieczny był znaczący wzrost przyłożonej siły, by złamać kości u szczurów poddanych działaniu EXOGEN (Rycina 2).

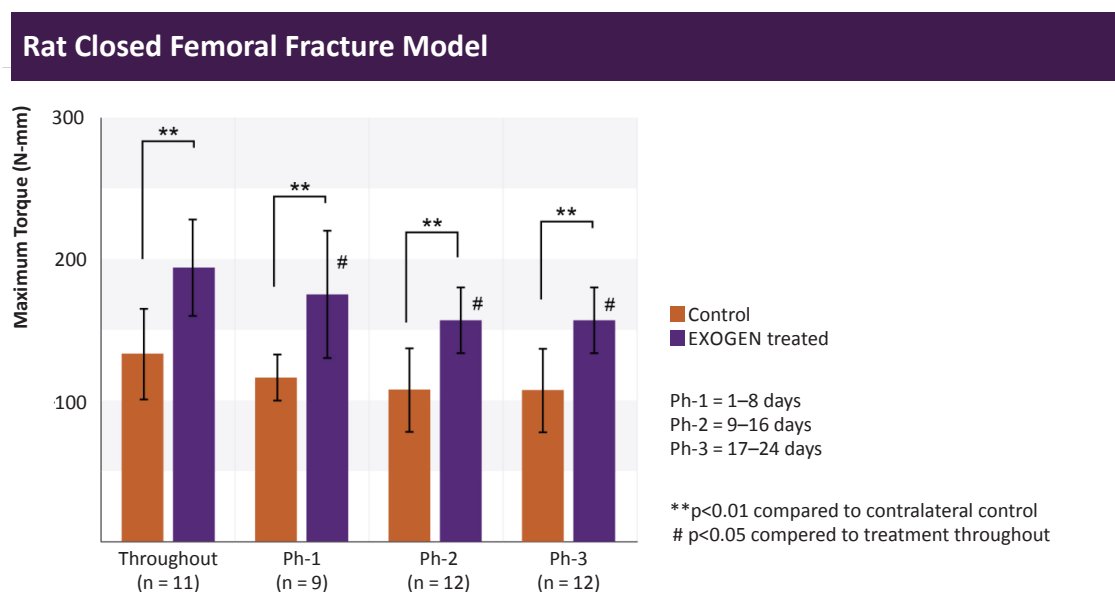
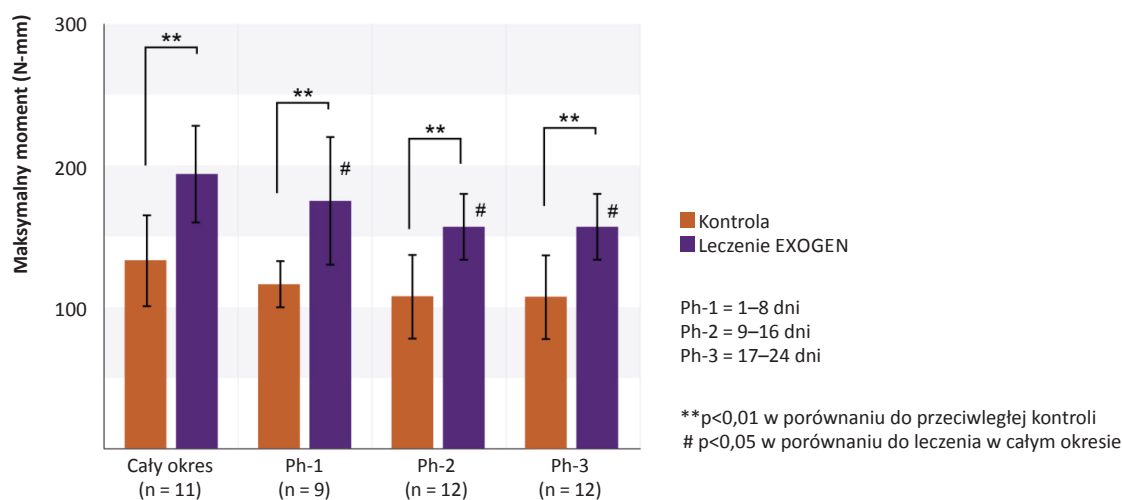


Figure 2. When compared to controls EXOGEN-treated rat fractures have significantly-increased torsional strength once healed.

Model zamkniętego złamania kości udowej u szczura



Rycina 2. W porównaniu do kontroli, z chwilą zagojenia, złamania u szczurów leczone za pomocą EXOGEN wykazują się istotnie zwiększoną odpornością na skręcenie.

Furthermore, the study uniquely examined the use of EXOGEN in one of three different phases of fracture repair: Days 1-8; Days 9-16; or Days 17-24. No matter when EXOGEN was applied, there was a significant increase in biomechanical properties, but overall the most substantial benefit was seen with the use of EXOGEN across all phases.

What is EXOGEN doing in these fractures to provide the better mechanical properties? A key process is the acceleration of endochondral ossification, which has been shown in a number of similar studies in rats to be enhanced when using EXOGEN (Wang *et al.* 1994; Azuma *et al.* 2001). Furthermore, work by Freeman *et al.* also showed that the increase of osteoclasts by EXOGEN stimulation might play a role (Freeman *et al.* 2009). EXOGEN does not just stimulate the anabolic, bone growing effect, it also stimulates the osteoclastic, catabolic effect, and stimulates the whole healing cascade.

Ponadto w badaniu tym w unikalny sposób oceniano zastosowanie EXOGEN w jednej z trzech różnych faz gojenia złamania: Dni 1-8; Dni 9-16; lub Dni 17-24. Niezależnie od tego, kiedy zastosowano EXOGEN, odnotowano znaczący wzrost własności biomechanicznych kości, jednak ogólnie rzecz biorąc najwyraźniejszą korzyść odnotowano wskutek zastosowania EXOGEN we wszystkich fazach gojenia.

W jaki sposób urządzenie EXOGEN oddziałuje na te złamania, by zapewnić lepsze własności mechaniczne kości? Kluczowym procesem jest przyspieszenie kostnienia śródchrzęstnego, które ulega nasileniu wskutek zastosowania EXOGEN, co wykazano w szeregu podobnych badań przeprowadzonych na szczurach (Wang i wsp. 1994; Azuma i wsp. 2001). Ponadto prace autorstwa Freeman i wsp. również wykazały, że nasilenie aktywności osteoklastów wskutek stymulacji urządzeniem EXOGEN może również mieć znaczenie (Freeman i wsp. 2009). EXOGEN nie tylko pobudza anaboliczny mechanizm wzrostu kości, nasila również kataboliczne działanie osteoklastów, pobudzając tym samym całą kaskadę gojenia kości.

A key component in the mineralisation process is the enzyme alkaline phosphatase, which has been shown in a number of human-cell studies to be actively increased by EXOGEN (Leung *et al.* 2004; Hasegawa *et al.* 2009).

Kluczowym elementem procesu mineralizacji jest enzym fosfataza alkaliczna, której aktywność ulega nasileniu wskutek działania urządzenia EXOGEN, co wykazano w szeregu badań na komórkach ludzkich (Leung i wsp. 2004; Hasegawa i wsp. 2009).

Mechanism of biological action

Upon ultrasound stimulation, transmembrane receptors (integrins) on the cell surface cluster and accumulate ancillary proteins that then form focal adhesions – large assemblies that serve as a bridge for mechanical and signalling pathways in the cell (Zhou *et al.* 2004; Mahoney *et al.* 2009). Through the focal adhesion pathway, EXOGEN upregulates cyclooxygenase-2 (COX-2), an enzyme which is vital to the production of the bone-stimulating molecule prostaglandin E2 (PGE2) (Figure 3) (Tang *et al.* 2006).

Biologiczny mechanizm działania

Po stymulacji ultradźwiękami, receptory przezłonowe (integryny) na powierzchni komórki łączą się i gromadzą białka pomocnicze, które tworzą punktowe zrosty – duże skupiska działające jak most dla szlaków mechanicznych i przekąźnikowych w obrębie komórki (Zhou i wsp. 2004; Mahoney i wsp. 2009). Poprzez mechanizm powstania punktowego zrostu, urządzenie EXOGEN pobudza wydzielanie cyklooksygenazy-2 (COX-2), enzymu o kluczowym znaczeniu dla produkcji pobudzającej metabolizm kości cząsteczki prostaglandyny E2 (PGE2) (Rycina 3) (Tang i wsp. 2006).

The EXOGEN Ultrasound Bone Healing System is a non-invasive orthobiologic that works at the cellular level

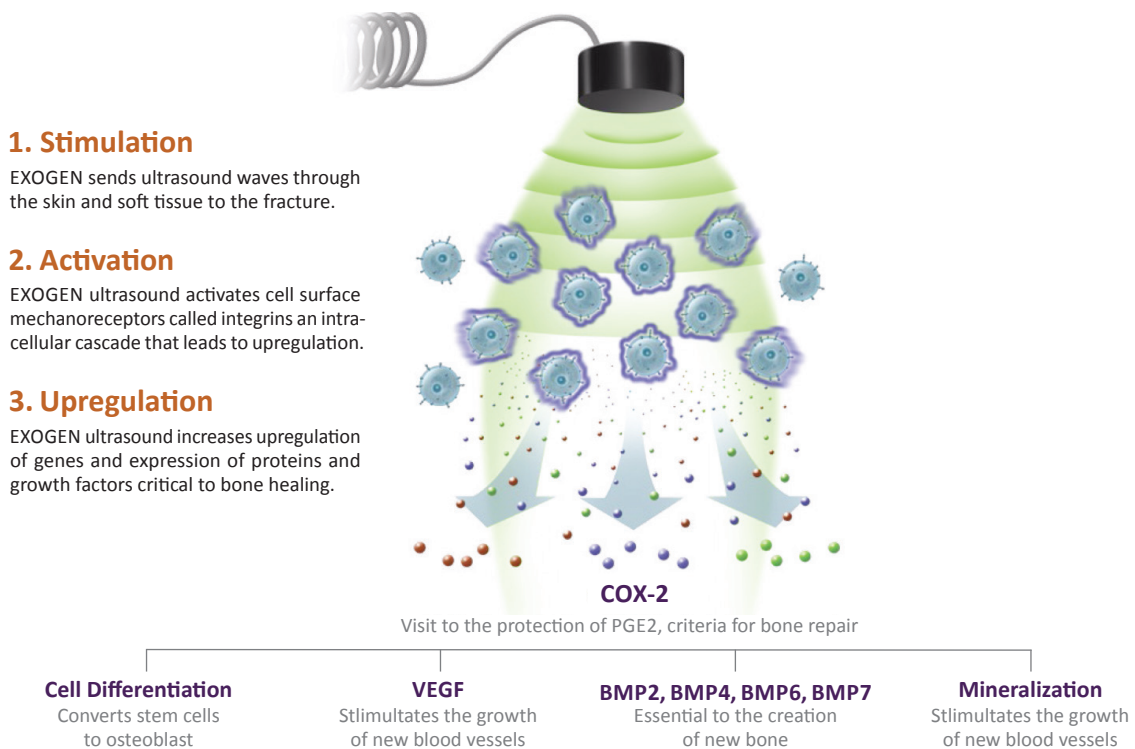


Figure 3. Schematic of the cellular stimulation, activation and upregulation cascade caused by EXOGEN.

Ultradźwiękowy System Gojenia Kości EXOGEN jest nieinwazyjnym systemem ortobiologicznym działającym na poziomie komórkowym

1. Pobudzenie⁷

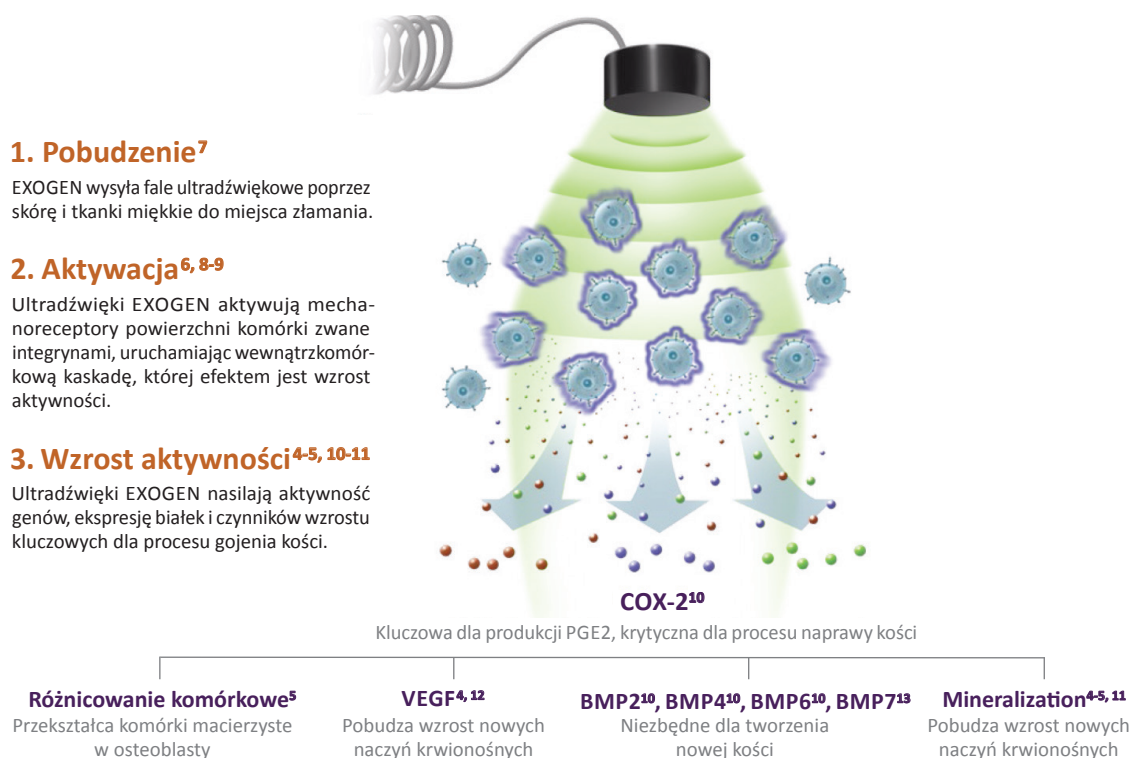
EXOGEN wysyła fale ultradźwiękowe poprzez skórę i tkanki miękkie do miejsca złamania.

2. Aktywacja^{6, 8-9}

Ultradźwięki EXOGEN aktywują mechanoreceptory powierzchni komórki zwane integrzynami, uruchamiając wewnątrzkomórkową kaskadę, której efektem jest wzrost aktywności.

3. Wzrost aktywności^{4-5, 10-11}

Ultradźwięki EXOGEN nasilają aktywność genów, ekspresję białek i czynników wzrostu kluczowych dla procesu gojenia kości.



Rycina 3. Schemat kaskady pobudzenia, aktywacji i wzrostu aktywności komórki, wywołanej przez EXOGEN.

The resulting increase COX2 in response to EXOGEN drives the production of other proteins such as increases in bone morphogenetic proteins (proteins essential for the creation of new bone) (Suzuki *et al.* 2009; Naruse *et al.* 2010) and around a 100-fold increase in vascular endothelial growth factor (VEGF), strong angiogenic agent, which can be detected following EXOGEN stimulation (Naruse *et al.* 2010; Coords *et al.* 2011). This cascading effect is long-lasting; one 20 minute dose of EXOGEN causes the cells to react for 24 hours (Tang *et al.* 2006).

Conclusion

The EXOGEN signal is transmitted through tissue to the fracture site, cells are able to sense this signal by forming focal adhesions and signalling pathways which are initiated within the cell and how COX2 is produced leading to increased production of PGE2. The EXOGEN signal has had a long history

Zjawisko to ma miejsce równoległe do wzrostu zawartości białek morfogenetycznych kości (białek kluczowych dla tworzenia nowej kości) (Suzuki i wsp. 2009; Naruse i wsp. 2010) oraz około 100-krotnego wzrostu stężenia czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), silnego czynnika angiogenego, wykrywanego w następstwie pobudzenia za pomocą urządzenia EXOGEN (Naruse i wsp. 2010; Coords i wsp. 2011). Ten efekt kaskadowy jest długotrwały; jedna 20-minutowa dawka EXOGEN wywołuje reakcję komórkową trwającą 24 godziny (Tang i wsp. 2006).

Wnioski

Sygnal EXOGEN przekazywany jest poprzez tkanki do miejsca złamania, komórki wykazują zdolność odbioru tego sygnału poprzez wytworzenie punktowych zrostów i szlaków przekąźnikowych, uruchamiających w obrębie komórki, wskutek czego dochodzi do wytworzenia COX2, a następnie

of safe and efficacious use and with continuing investigation more information will be generated on how this technology can stimulate the healing of tissues.

do zwiększonej produkcji PGE2. Urządzenie EXOGEN posiada długą historię bezpiecznego i skutecznego stosowania, a wraz z dalszymi badaniami uzyskamy dalsze informacje odnośnie tego, w jaki sposób technologia ta może pobudzać gojenie tkanek.



REFERENCES

- Azuma Y., Ito M., Harada Y., Takagi H., Ohta T., Jingushi S.** *Low intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fracture callus.* Journal of Bone and Mineral Research 2001; 16,4: 671–680.
- Coords M., Breitbart E., Paglia D., Kappy N., Gandhi A., Cottrell J., Cedeno N., Pounder N., O'Connor J.P., Lin S.S.** *The effects of low-intensity pulsed ultrasound upon diabetic fracture healing.* Journal of Orthopaedic Research 2011; 29,2: 181–188.
- Freeman T.A., Patel P., Parvizi J., Antoci V.J., Shapiro I.M.** *Micro-CT analysis with multiple thresholds allows detection of bone formation and resorption during ultrasound-treated fracture healing.* Journal of Orthopaedic Research 2009; 27,5: 673–679.
- Greenleaf J.F., Kinnick R.R., Bronk J.T., Bolander M.E.** *Ultrasound induced tissue motion during fracture treatment.* Poster Presentation AIUM Annual Meeting 2003, Montreal, Canada.
- Hasegawa T., Miwa M., Sakai Y., Niikura T., Kurosaka M., Komori T.** *Osteogenic activity of human fracture haematoma-derived progenitor cells is stimulated by low-intensity pulsed ultrasound in vitro.* The Journal of Bone & Joint Surgery 2009; 91,2: 264–270.
- Leung K.S., Cheung W.H., Zhang C., Lee K.M., Lo H.K.** *Low intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic activity of human periosteal cells.* Clinical Orthopaedics and Related Research 2004, 418: 253–259.
- Mahoney C.M., Morgan M.R., Harrison A., Humphries M.J., Bass M.D.** *Therapeutic ultrasound bypasses canonical syndecan-4 signaling to activate rac1.* The Journal of Biological Chemistry 2009; 284.13: 8898–8909.
- Naruse K., Sekiya H., Harada Y., Iwabuchi S., Kozai Y., Kawamata R., Kashima I., Uchida K., Urabe K., Seto K., Itoman M., Mikuni-Takagaki Y.** *Prolonged endochondral bone healing in senescence is shortened by low-intensity pulsed ultrasound in a manner*

REFERENCES

- Azuma Y., Ito M., Harada Y., Takagi H., Ohta T., Jingushi S.** *Low intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fracture callus.* Journal of Bone and Mineral Research 2001; 16,4: 671–680.
- Coords M., Breitbart E., Paglia D., Kappy N., Gandhi A., Cottrell J., Cedeno N., Pounder N., O'Connor J.P., Lin S.S.** *The effects of low-intensity pulsed ultrasound upon diabetic fracture healing.* Journal of Orthopaedic Research 2011; 29,2: 181–188.
- Freeman T.A., Patel P., Parvizi J., Antoci V.J., Shapiro I.M.** *Micro-CT analysis with multiple thresholds allows detection of bone formation and resorption during ultrasound-treated fracture healing.* Journal of Orthopaedic Research 2009; 27,5: 673–679.
- Greenleaf J.F., Kinnick R.R., Bronk J.T., Bolander M.E.** *Ultrasound induced tissue motion during fracture treatment.* Poster Presentation AIUM Annual Meeting 2003, Montreal, Canada.
- Hasegawa T., Miwa M., Sakai Y., Niikura T., Kurosaka M., Komori T.** *Osteogenic activity of human fracture haematoma-derived progenitor cells is stimulated by low-intensity pulsed ultrasound in vitro.* The Journal of Bone & Joint Surgery 2009; 91,2: 264–270.
- Leung K.S., Cheung W.H., Zhang C., Lee K.M., Lo H.K.** *Low intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic activity of human periosteal cells.* Clinical Orthopaedics and Related Research 2004, 418: 253–259.
- Mahoney C.M., Morgan M.R., Harrison A., Humphries M.J., Bass M.D.** *Therapeutic ultrasound bypasses canonical syndecan-4 signaling to activate rac1.* The Journal of Biological Chemistry 2009; 284.13: 8898–8909.
- Naruse K., Sekiya H., Harada Y., Iwabuchi S., Kozai Y., Kawamata R., Kashima I., Uchida K., Urabe K., Seto K., Itoman M., Mikuni-Takagaki Y.** *Prolonged endochondral bone healing in senescence is shortened by low-intensity pulsed ultrasound in a manner*

dependent on COX-2. *Ultrasound in Medicine & Biology* 2010; 36,7: 1098–1108. **Suzuki A., Takayama T., Suzuki N., Kojima T., Ota N., Asano S., Ito K.** *Daily low-intensity pulsed ultrasound stimulates production of bone morphogenetic protein in ROS 17/2.8 cells.* *Journal of Oral Science* 2009; 51,1: 29–36.

Tang C.H., Yang R.S., Huang T.H., Lu D.Y., Chuang W.J., Huang T.F., Fu W.M. *Ultrasound stimulates cyclooxygenase-2 expression and increases bone formation through integrin, focal adhesion kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and Akt pathway in osteoblasts.* *Molecular Pharmacology* 2006; 69,6: 2047–2057.

Wang S., Lewallen D.G., Bolander M.E., Chao E.Y., Illstrup D.M., Greenleaf J.F. *Low Intensity Ultrasound Treatment Increases Strength in a Rat Femoral Fracture Model.* *Journal of Orthopaedic Research* 1994; 12,1: 40–47.

Zhou S., Schmelz A., Seufferlein T., Li Y., Zhao J., Bachem M.G. *Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts.* *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279.52: 54463–54469.

Author declared no conflict of interest.

Author responsible for correspondence: Andrew Harrison, Bioventus Coöperatief, Taurusavenue 31, 2132 LS Hoofddorp, The Netherlands, e-mail: andrew.harrison@bioventusglobal.com

dependent on COX-2. *Ultrasound in Medicine & Biology* 2010; 36,7: 1098–1108. **Suzuki A., Takayama T., Suzuki N., Kojima T., Ota N., Asano S., Ito K.** *Daily low-intensity pulsed ultrasound stimulates production of bone morphogenetic protein in ROS 17/2,8 cells.* *Journal of Oral Science* 2009; 51,1: 29–36.

Tang C.H., Yang R.S., Huang T.H., Lu D.Y., Chuang W.J., Huang T.F., Fu W.M. *Ultrasound stimulates cyclooxygenase-2 expression and increases bone formation through integrin, focal adhesion kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and Akt pathway in osteoblasts.* *Molecular Pharmacology* 2006; 69,6: 2047–2057.

Wang S., Lewallen D.G., Bolander M.E., Chao E.Y., Illstrup D.M., Greenleaf J.F. *Low Intensity Ultrasound Treatment Increases Strength in a Rat Femoral Fracture Model.* *Journal of Orthopaedic Research* 1994; 12,1: 40–47.

Zhou S., Schmelz A., Seufferlein T., Li Y., Zhao J., Bachem M.G. *Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts.* *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279.52: 54463–54469.

Autor nie zgłaszał konfliktu interesów.

Autor do korespondencji: Andrew Harrison, Bioventus Coöperatief, Taurusavenue 31, 2132 LS Hoofddorp, The Netherlands, e-mail: andrew.harrison@bioventusglobal.com