

[文章编号] 1000-1182(2010)04-0435-04

实验性骨质疏松对种植体周自体骨移植愈合影响的研究

李剑平¹ 张望群¹ 于静¹ 戚孟春¹ 胡静² 王东胜³

(1.华北煤炭医学院 口腔系, 河北 唐山 063000;

2.四川大学华西口腔医学院 口腔颌面外科学教研室, 四川 成都 610041; 3.解放军总医院 口腔科, 北京 100039)

[摘要] 目的 研究实验性骨质疏松(OP)对兔种植体周自体骨移植愈合的影响。方法 将20只雌性日本大耳白兔随机分成对照组和实验组, 实验组行双侧卵巢切除术, 对照组接受假手术。术后12周测量股骨骨密度(BMD), 证实OP状态。同时在2组家兔左侧胫骨近中干骺端制备骨缺损, 行自体髂骨移植和同期种植体植入手术。植骨术后第8、12周分2批处死动物, 切取标本制作不脱钙硬组织切片, 进行组织形态学观察和骨计量学检测。结果 实验组BMD显著低于对照组($P<0.001$), 证实OP造模成功。植骨术后第8、12周, 种植体在2组植骨区均达到了骨结合。然而, 实验组植骨区内骨皮质厚度(TCB)、松质骨区骨量(BVC)、种植体骨结合率(BCR)均显著低于对照组($P<0.01$), 且新生骨量也明显少于对照组。结论 实验性OP虽然不会延迟自体骨移植内种植体骨结合, 但可促进植骨吸收, 减少BVC, 降低BCR。因而, 对于行自体骨移植同期牙种植的患者, OP是一个重要的危险因素。

[关键词] 种植牙; 自体髂骨移植; 骨质疏松; 骨结合

[中图分类号] R 68 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1000-1182.2010.04.023

The effect of experimental osteoporosis on bone healing of autologous iliac crest graft around implants LI Jian-ping¹, ZHANG Wang-qun¹, YU Jing¹, QI Meng-chun¹, HU Jing², WANG Dong-sheng³. (1. Dept. of Stomatology, North China Coal Medical University, Tangshan 063000, China; 2. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Dept. of Stomatology, The General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the influences of experimental osteoporosis(OP) on bone healing of autologous iliac crest graft around dental implants in rabbits. **Methods** Twenty Japanese rabbits were randomly divided into two groups. Bilaterally ovariectomy was performed on experimental group and control group received sham-operation. Twelve weeks later, femoral bones were examined for bone mineral density(BMD) to verify OP status. Then bone defects were made in the proximal metaphysis of the tibiae and autologous iliac crest grafts with simultaneous implant placement were performed. The animals were killed at 8 and 12 weeks after bone graft surgery. Undecalcified sections were prepared and examined histologically and histomorphometrically. **Results** Osteoporotic status caused by ovariectomy was verified by significantly decreased BMD in experimental group($P<0.001$). At 8 and 12 weeks after bone graft surgery, osseointegration was observed in both groups. However, thickness of cortical bone(TCB), bone volume in cancellous area(BVC), implant-bone contact rate(BCR) at bone graft area all significantly decreased in experimental group when compared with control group($P<0.01$). Newly formed bone was also less in experimental group than that in control group. **Conclusion** Although experimental OP may not delay osseointegration of dental implants in autologous iliac crest graft, it certainly promotes resorption of bone grafts, decreases cancellous bone volume and implant-bone contact rate. Therefore it may be an important risk factor for patients receiving autologous bone graft with simultaneous implant placement.

[Key words] dental implant; autologous iliac crest graft; osteoporosis; osseointegration

[收稿日期] 2009-12-23; [修回日期] 2010-01-06

[基金项目] 河北省科技厅基金资助项目(08276101D-73); 河北省教育厅基金资助项目(2008322)

[作者简介] 李剑平(1977—), 男, 河北人, 主治医师, 硕士

[通讯作者] 戚孟春, Tel: 0315-3725038

骨质疏松(osteoporosis, OP)是目前公认的牙种植的重要危险因素^[1-2]。虽然多数临床研究认为OP不是牙种植的绝对禁忌证^[2-4]; 但越来越多的实验研究表明, OP会减少种植区骨量, 降低种植体骨结合率

(implant-bone contact rate, IBCR), 从而影响种植体的长期成功率^[5-8]。由于需种植修复的牙缺失患者大多是中老年人, 在面临OP威胁的同时, 各种原因造成的牙槽骨缺损也是常面临的重要问题, 而自体骨移植合并牙种植则是修复此类牙缺失的重要手段^[9-11]。本研究通过建立兔OP动物模型, 探讨OP对自体髂骨移植骨愈合及移植骨内种植体骨结合的影响, 为临床此类患者的牙种植手术提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

采用5月龄雌性日本大耳白兔20只作为实验动物, 平均体重4.0 kg, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。种植体采用纳米羟磷灰石涂层纯钛螺纹状种植体(长12 mm, 直径2 mm, 螺纹间距1 mm, 螺沟深度0.25 mm), 由四川大学生物材料测试中心提供。

1.2 方法

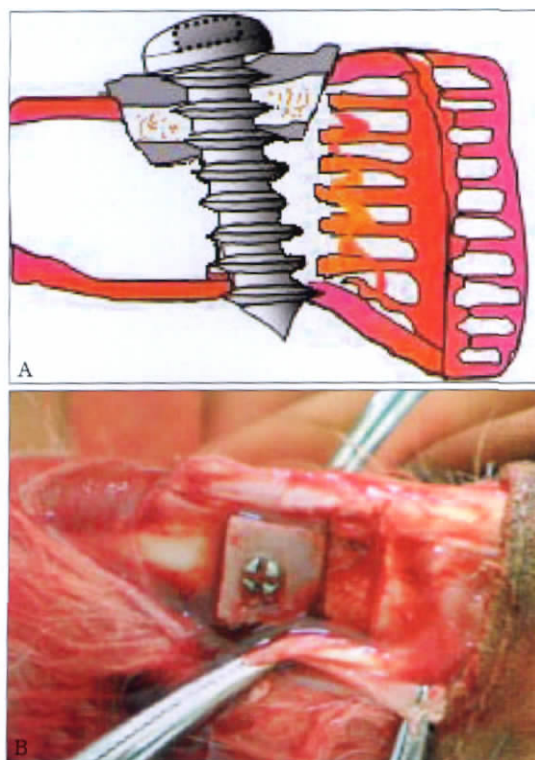
1.2.1 兔OP模型的建立 将实验动物随机分为对照组和实验组, 各10只。用25%乌拉坦($4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)行耳缘静脉麻醉, 实验组摘除双侧卵巢, 对照组施行假手术。术后12周用双能X线骨密度测量仪(XR36, Norland公司, 美国, 精确度 $<1\%$, 准确度 $<1\%$)测量2组兔左侧股骨的骨密度(bone mineral density, BMD), 证实造模是否成功。

1.2.2 种植体的植入 术后12周, 在家兔左侧胫骨近中干骺端用牙科电钻制备边长8 mm的正方形骨缺损(只去除骨皮质), 在家兔髂前上嵴处切取相应大小的全层骨块, 置于胫骨骨缺损内。在植骨块中央制备种植体窝, 穿透对侧骨皮质, 旋入种植体(图1), 分层缝合切口。术后常规饲养, 术后前3 d实验动物每天肌肉注射青霉素每千克5万单位。

1.2.3 标本的收获及处理 在种植术后第8、12周分2批处死实验动物, 每批处死5只。处死后切取带种植体的胫骨标本, 长约10 mm, 10%中性甲醛固定, 4°C 下丙酮固定、脱脂、脱水, 真空冰浴中浸透液浸透, 4°C 下树脂包埋。包埋块在CP3000硬组织切片机(EXAKT公司, 德国)上沿种植体长轴制作带种植体的厚50 μm 的不脱钙切片, 采用甲苯胺兰和亚甲基蓝染色, 然后将切片置于Olympus显微镜下观察。

1.2.4 骨组织形态计量学分析 用医学数码图像分析系统Med 6.0在植骨区(距种植体螺纹顶3 mm的区域内)对下述参数进行测量: 1)骨皮质厚度(thickness of cortical bone, TCB)(μm): 外层皮质骨的平均厚度。2)IBCR(%): 植骨区种植体与骨直接接触

的部分占种植体总表面的百分比。3)松质骨区骨量(bone volume in cancellous area, BVC)(%): 松质骨内矿化骨占骨组织面积的百分比。



A: 手术示意图; B: 手术照片。

图1 髂骨移植及种植体植入

Fig 1 Iliac crest transplantation and implant placement

1.3 统计学分析

采用SPSS 10.0统计软件对计量资料进行 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

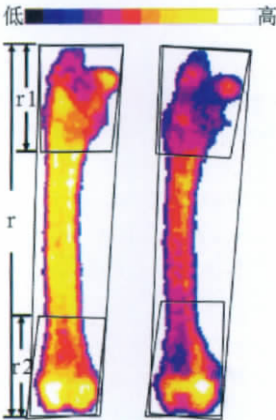
2.1 BMD的测量结果

卵巢摘除术后12周, 用骨密度测量仪对家兔左侧股骨分3段行BMD测定, 即股骨上段(r_1)、股骨下段(r_2)、全段(r)(图2)。实验组 r_1 、 r_2 、 r 的BMD分别为(0.1806 ± 0.0057)、(0.2216 ± 0.0034)、(0.2199 ± 0.0055) $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$; 对照组 r_1 、 r_2 、 r 的BMD分别为(0.2510 ± 0.0037)、(0.3021 ± 0.0042)、(0.2951 ± 0.0053) $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。实验组 r_1 、 r_2 、 r 的BMD均显著低于对照组($P<0.001$)。上述结果说明OP模型的建立是成功的。

2.2 组织学观察结果

种植术后第8周, 对照组植骨区外层骨皮质(outer cortical bone of iliac, OCBI)和内层骨皮质(inner cortical bone of iliac, ICBI)与种植体表面结合较为紧密, 骨皮质较厚; OCBI表面骨膜反应活跃, 有密集的新生骨(new bone, NB)沉积; 种植体周松质骨区(cancellous bone of iliac, CBI)骨量较

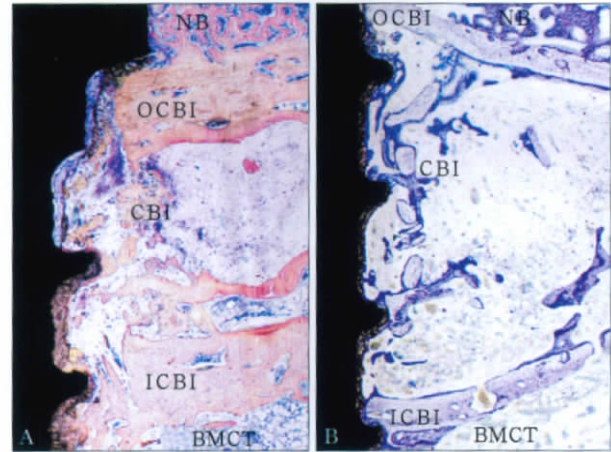
多，骨小梁较粗；IBCR较高。实验组与对照组比较，OCBI和ICBI与种植体虽然结合也较为紧密，但骨皮质相对较薄；OCBI表面NB沉积较少；CBI骨小梁细而稀疏(图3)；IBCR较低。种植术后第12周，对照组植骨区OCBI较厚，与种植体形成紧密结合，而ICBI已逐步改建吸收；CBI骨量较多，骨小梁粗大；NB由编织骨变成成熟的板层骨；IBCR进一步增加，明显高于术后8周。实验组OCBI进一步变薄，ICBI改建吸收，接近消失；CBI骨小梁更加稀疏，以致植骨区与胫骨骨髓腔(bone marrow cavity of tibia，BMCT)界限不清；IBCR较术后8周明显增加，但明显少于对照组(图4)。



左：对照组；右：实验组。

图 2 双能X线测定兔股骨骨密度

Fig 2 Determination of BMD of rabbit femoral bone with dual energy X-ray



A：对照组 亚甲基蓝染色 ×12；B：实验组 甲苯胺蓝染色 ×12。

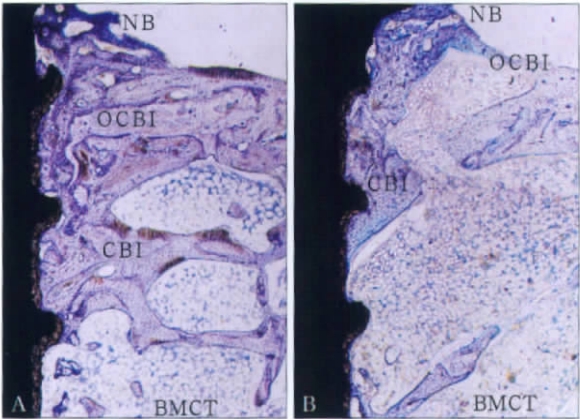
图 3 种植术后8周对照组和实验组植骨区形态学比较

Fig 3 Morphological comparison of control group and experimental group in the iliac graft area 8 weeks after implant surgery

2.3 骨计量学比较

种植术后第8、12周，实验组和对照组的外层TCB、IBCR、BVC的测量结果见表1。在2个时间点，实验组TCB、IBCR、BVC均显著低于对照组($P <$

0.01)。而12周时，实验组的TCB、BVC明显低于8周时($P < 0.05$)，IBCR则显著高于8周时($P < 0.01$)；12周时，对照组的TCB、BVC则均显著高于8周时($P < 0.05$)，IBCR也显著高于8周时($P < 0.01$)。



A：对照组；B：实验组。

图 4 种植术后12周对照组和实验组植骨区形态学比较 甲苯胺蓝染色 ×12

Fig 4 Morphological comparison of control group and experimental group in the iliac graft area 12 weeks after implant surgery toluidine blue staining ×12

表 1 种植术后第8、12周2组骨计量学指标的比较($n=5$)

Tab 1 Comparison of bone histomorphometric indices between control group and experimental group 8 and 12 weeks after implant surgery($n=5$)

时间	组别	TCB/ μm	IBCR/%	BVC/%
8周	对照组	815.22 \pm 88.64	22.55 \pm 2.82	21.45 \pm 4.21
	实验组	271.63 \pm 69.47*	12.75 \pm 2.15*	13.25 \pm 3.30*
12周	对照组	923.51 \pm 89.52 [#]	81.26 \pm 15.64 Δ	24.71 \pm 7.70 [#]
	实验组	215.92 \pm 26.73**	56.57 \pm 11.23* Δ	11.85 \pm 4.56**

注：*为与对照组比较， $P < 0.01$ ；*为该组与8周比较， $P < 0.05$ ； Δ 为该组与8周比较， $P < 0.01$ 。

3 讨论

目前有多种实验动物用于OP动物模型的研究，如大鼠、家兔、狗等^[12-13]。大鼠因容易获得、易于饲养、成熟早，且其胫骨干骺端松质骨区有类似于人类颌骨的骨小梁，故被大多学者采用^[5-8,12-13]；但其全身骨骼细小，不适于进行植骨的相关研究。狗体型较大，可进行植骨研究，但饲养费用较高，难以大量实验，因而限制了其应用。家兔成本低廉，饲养方便，有明显的哈弗氏系统，骨转换率高，去势术后3个月即可出现明显的OP表现，是最常用的OP造模动物。鉴于其体型适中，适于植骨研究，因而本实验采用家兔作为实验动物。

去势法是目前最常用的OP造模的方法。动物切除卵巢后,雌激素水平迅速下降,降低钙的吸收,增加破骨细胞活性,导致骨组织骨矿含量降低,出现OP^[6-8 12-13]。本实验通过卵巢切除来建立OP模型,在术后12周,实验组r1、r2和r的BMD均显著低于对照组($P<0.001$),说明OP造模是成功的。

种植牙已成为目前修复牙缺失的主要手段。研究表明,OP可能会对种植体的长期成功率产生潜在的威胁^[5-8];因而,OP被认为是牙种植的重要危险因素,被列为种植牙的相对禁忌证^[1-2]。接受牙种植的中老年人面临OP威胁的同时,还面临另一个重要问题,就是因牙槽嵴萎缩、拔牙创伤、外伤、肿瘤切除等原因造成的牙槽骨缺损,这就需要在牙种植的同时进行植骨治疗^[9-11]。Erdoğan等^[4]通过对牙槽骨植骨并行牙种植的患者进行临床回顾性研究,认为OP虽然不是牙种植的绝对禁忌证,但存在促进植骨块吸收、造成植骨不愈或延期愈合等风险,从而对种植体成功率产生潜在的影响。

本研究从组织学和骨计量学角度研究OP对自体髂骨移植同期牙种植骨愈合的影响。结果显示,对照组和实验组植骨区内种植体在8、12周均形成了骨结合,但实验组IBCR在2个时间点均显著低于对照组,说明OP对植骨内IBCR具有负面影响。另外,实验组植骨区内BVC、TCB在2个时间点也均显著低于对照组,这与多数有关OP对牙种植体影响的实验研究报道^[5-8]相一致;从本实验中可见虽然2组的IBCR在短期内(12周)随时间的延长而增加,但是实验组12周BVC和TCB较8周时均降低。

由于OP对全身骨骼均有不同程度的影响,因而在种植体植入时植入实验组骨缺损的髂骨移植骨块同样会受到影响,处于OP状态。因而,OP对种植体周植骨愈合的影响可以从2个方面发挥作用:一方面OP会降低移植骨块的质量,使之变得比较疏松;另一方面OP会进一步加快移植骨块植入后骨组织的吸收,使移植骨TCB和BVC下降,从而影响IBCR。本研究的计量学结果也支持OP对移植骨的上述作用。

本研究证实,实验性OP虽然不会延迟移植骨内种植体骨结合,但会加快移植骨吸收,使皮质骨变薄,松质骨量减少,降低植骨区IBCR,减弱骨组织对种植体的支持。然而,OP对移植骨的上述不良作用是否足以改变种植体的力学性能,进而影响其长期成功率;同时,上述研究是在种植体无咀嚼功能负荷下进行的,在口内种植体处于咀嚼功能刺激下

又会产生怎样的结果,均需进一步研究。

[参考文献]

- [1] Keller JC, Stewart M, Roehm M, et al. Osteoporosis-like bone conditions affect osseointegration of implants[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 2004, 19(5): 687-694.
- [2] Hwang D, Wang HL. Medical contraindications to implant therapy. Part 1: Relative contraindications[J]. Implant Dent, 2007, 16(1): 13-23.
- [3] Tzolaki IN, Madianos PN, Vrotsos JA. Outcomes of dental implants in osteoporotic patients. A literature review[J]. J Prosthodont, 2009, 18(4): 309-323.
- [4] Erdoğan O, Shafer DM, Taxel P, et al. A review of the association between osteoporosis and alveolar ridge augmentation[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007, 104(6): 738.e1-e13.
- [5] Kozai Y, Kawamata R, Sakurai T, et al. Influence of prednisolone-induced osteoporosis on bone mass and bone quality of the mandible in rats[J]. Dentomaxillofac Radiol, 2009, 38(1): 34-41.
- [6] Viera-Negrón YE, Ruan WH, Winger JN, et al. Effect of ovariectomy and alendronate on implant osseointegration in rat maxillary bone[J]. J Oral Implantol, 2008, 34(2): 76-82.
- [7] Qi MC, Zhou XQ, Hu J, et al. Oestrogen replacement therapy promotes bone healing around dental implants in osteoporotic rats[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2004, 33(3): 279-285.
- [8] 戚孟春, 周秀青, 胡静, 等. 实验性骨质疏松对种植体骨结合影响的组织学观察[J]. 现代口腔医学杂志, 2003, 17(2): 120-122.
QI Meng-chun, ZHOU Xiu-qing, HU Jing, et al. The effect of osteoporosis on osseointegration of titanium implants: A histological observation[J]. J Modern Stomatol, 2003, 17(2): 120-122.
- [9] Peñarrocha-Diogo M, Gómez-Adrián MD, García-Mira B, et al. Bone grafting simultaneous to implant placement. Presentation of a case[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2005, 10(5): 444-447.
- [10] Acocella A, Sacco R, Nardi P, et al. Simultaneous implant placement in sinus floor augmentation using iliac bone block grafts in severe maxillary atrophies: Case report[J]. Implant Dent, 2008, 17(4): 382-388.
- [11] Sjöström M, Sennerby L, Nilson H, et al. Reconstruction of the atrophic edentulous maxilla with free iliac crest grafts and implants: A 3-year report of a prospective clinical study[J]. Clin Implant Dent Relat Res, 2007, 9(1): 46-59.
- [12] Turner AS. Animal models of osteoporosis—necessity and limitations[J]. Eur Cell Mater, 2001, 1: 66-81.
- [13] 戚孟春, 周秀青, 杜兆军, 等. 骨质疏松动物模型的研究进展[J]. 现代口腔医学杂志, 2002, 16(2): 185-187.
QI Meng-chun, ZHOU Xiu-qing, DU Zhao-jun, et al. Research developments on animal osteoporotic models[J]. J Modern Stomatol, 2002, 16(2): 185-187.

(本文编辑 王晴)