

[文章编号] 1000-1182(2008)05-0494-05

可吸收性胶原膜引导即刻植入种植体 周围骨组织再生的实验研究

费 伟, 杨小民, 李 铮, 尹明平, 沈志浩, 廖楚航
(四川省人民医院 口腔颌面外科, 四川 成都 610072)

[摘要] 目的 探讨可吸收性胶原膜引导即刻植入种植体周围骨组织再生的效果。方法 在12只成年杂种狗下颌第3、4前磨牙新鲜拔牙创即刻植入种植体的近中形成3 mm×3 mm×5 mm骨缺损区, 按自身同期对照研究设计, 右侧为实验侧, 骨缺损区上覆盖Co膜; 左侧为空白对照侧, 骨缺损区不覆盖Co膜。术后1、2、4、6个月分别处死一组动物, 摘取下颌骨, 采用大体观察、X线摄片、组织学观察、扫描电镜及生物力学(拔出实验)测定等方法检测缺损区骨组织再生的情况。结果 实验侧种植体周围骨缺损区较空白对照侧新骨形成量多、外形好、骨成熟时间早, 加速了骨组织的再生过程。结论 可吸收性胶原膜具有良好的生物相容性和可降解性, 可用作骨组织引导再生膜, 以期促进骨缺损的再生修复, 其促进作用主要表现在骨组织愈合的早期。

[关键词] 可吸收性胶原膜; 引导骨再生; 即刻种植

[中图分类号] R783.2 [文献标识码] A

Experimental study of the bioresorbable collagen membrane used for guided bone regeneration around dental implants FEI Wei, YANG Xiao-min, LI Zheng, YIN Ming-ping, SHEN Zhi-hao, LIAO Chu-hang. (Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of using guided bone regeneration(GBR) technique with an bioresorbable collagen membrane for repairing bone defects around dental implants. **Methods** In 12 mongrel dogs, pure titanium implants were immediately implanted in mandibles after extraction of the mandibular third and fourth premolars of both sides, in which standard bone defects of 3 mm×3 mm×5 mm were created at mesial side of the implants. The defects on right side were covered with Co membrane, the left side was uncovered as control. The dogs were sacrificed 1, 2, 4, 6 months postoperatively. The specimens were removed and studied by gross observation, X-ray radiograph, histological examination, scanning electron microscope(SEM) and pull-out test. **Results** The quantity and quality of new bone formation in experimental side which bone defects covered with Co membrane were much better than that in the control side. **Conclusion** With the biodegradable property and excellent biocompatibility, Co membrane can be used for guided bone regeneration to promote the bone repair progress, and the promotion acts mainly at early stage of bone healing.

[Key words] bioresorbable collagen membrane; guided bone regeneration; immediate implantation

常规牙种植手术一般在拔牙后3~6个月牙槽嵴吸收改建趋于稳定、牙槽嵴形态良好的状况下进行。然而, 随着人们美观要求的不断提高及现代口腔种植技术的不断发展与完善, 即刻种植技术成为当前的研究热点。在即刻种植中, 在种植体植入早期, 周围骨缺损区的存在是影响种植体获得良好骨性结合的主要原因^[1]。本研究采用了引导骨组织再生

(guided bone regeneration, GBR)技术, 旨在通过动物实验评价可吸收性胶原膜引导即刻植入种植体周围骨组织再生的效果, 为其进一步的临床应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

CDIC™纯钛锥状螺纹种植体(SGN3012型)、CDIC-Ⅰ型牙种植机及其专用相应配套器械由卫生部口腔种植科技中心提供, AG-IS万能试验机(日本岛津公司)。BME-10X医用组织引导再生膜/医用胶

[收稿日期] 2008-03-08; [修回日期] 2008-06-28

[基金项目] 四川省卫生厅科研基金资助项目(000106)

[作者简介] 费 伟(1969-), 男, 重庆人, 副主任医师, 博士

[通讯作者] 杨小民, Tel: 13008113389

原膜,简称Co膜,由中国医学科学院生物医学工程研究所研制。医用生物蛋白胶(中外合资广州倍特生物技术有限公司)黏合力10 min为201 g/cm²,30 min为287 g/cm²。

1.2 实验分组

选取由四川省人民医院动物实验中心提供的12只健康成年杂种狗为研究对象,体重15~20 kg,雌雄不限,检查无明显口腔疾患。将实验动物随机分为4组,每组3只。按自身同期对照研究设计原则,每组动物右侧为实验侧,在拔牙创种植体即刻植入后骨缺损区覆盖Co膜;左侧作为空白对照侧,在拔牙创种植体即刻植入后骨缺损区不覆盖Co膜。

1.3 方法

3%戊巴比妥钠30 mg/kg行腹腔内麻醉,常规消毒铺巾,拔除双侧下颌第3、4前磨牙,术中尽量减少对牙槽骨的损伤。参照卢丙仑等^[2]建立的即刻种植动物模型,于双侧下颌第3、4前磨牙远中根近中区适当去骨,用相应型号种植钻在远中根拔牙窝内制备相应的种植床,加深拔牙创3~4 mm,转速控制在1 200 r/min以下,术中用生理盐水降温。然后立即植入CDIC™纯钛锥状螺纹种植体,并在植入种植体的近中形成3 mm×3 mm×5 mm骨缺损区。实验侧适当修剪Co膜,使之完全覆盖骨缺损区并超过牙槽骨缘2~3 mm,Co膜与骨缘之间以医用生物蛋白胶黏合封闭,潜行剥离颊舌侧黏骨膜瓣,褥式加间断严密缝合辅以固定;空白对照侧骨缺损区不覆盖Co膜。术后3 d,肌注青霉素80万单位,每日2次预防感染。分别于术后1、2、4、6个月各处死1组动物,完整摘取下颌骨作大体观察及X线记录。

在每组的3个标本中,取2个新鲜标本先作生物力学(拔出实验)测定,用脱脂棉浸生理盐水以保持湿润,将其两端固定于与AG-IS万能试验机基座连接的支座上,植入种植体的基台用自制夹具夹紧,夹具上端通过万向节与AG-IS万能试验机横梁上的力传感器连接,以1 mm/min的速度加载,直至种植体完全拔出。以TS3865电子式传感器记录试件破坏时的最大力值。测试完成后,将标本用10%中性甲醛溶液固定,常规脱钙,石蜡包埋,沿骨长轴切片,苏木精-伊红染色,光镜下观察并记录;另一个标本用2.5%戊二醛固定,在液氮制冷条件下冷冻断裂形成自然断面,经0.9%NS和0.1 mol/L PBS反复冲洗,再置于0.1 mol/L PBS液中,于超声波振荡器内振荡清洗5~10 min,系列乙醇逐级脱水,乙醚置换乙醇,冷冻干燥,真空镀膜后用JSE-5900LV扫描电子显微镜进行观察、记录,初始电压为15~20 kV。

1.4 统计学分析

测量数据分析均由SPSS 13.0统计软件包完成。

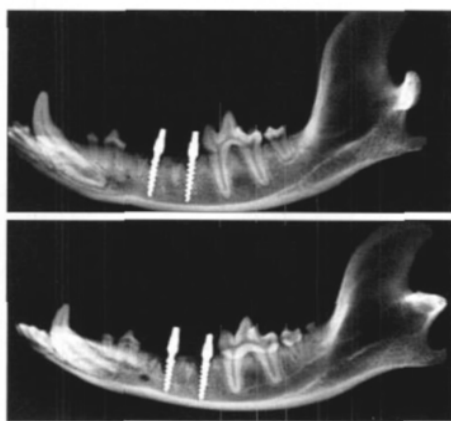
2 结果

2.1 大体标本的观察结果

所有创口均为Ⅰ期愈合,无1例发生术后感染或排异反应。实验侧在术后1个月,Co膜较为完整,与深面组织稍有粘连,缺损区有新骨样组织形成,包埋部分种植体;术后2、4个月,Co膜逐渐吸收变薄或消失,缺损区大部分为新生骨组织充填;术后6个月,Co膜已吸收消失,缺损区完全为新生骨组织充填,与种植体结合紧密。空白对照侧在术后1个月,缺损区黏膜稍显内陷,其内主要为纤维结缔组织充填;术后2个月,缺损区底部有新生骨组织形成,近牙槽嵴顶主要为纤维结缔组织;术后4、6个月,缺损区逐渐为新生骨组织充填,近牙槽嵴顶仍可见部分纤维结缔组织。

2.2 X线观察结果

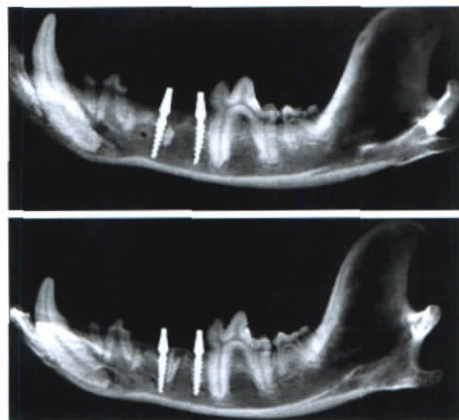
术后1个月,实验侧缺损区底部有密度稍低的新骨生成,近牙槽嵴顶有新生骨组织自宿主骨侧向内生生长,与种植体之间可见密度较低的透光区;空白对照侧缺损区呈较为明显透光区,仅见少量新生骨组织自宿主骨侧生长(图1)。术后2、4个月,实验侧缺损区底部及顶部新骨生长量增多,与种植体之间隐约可见透光区,新生骨密度低于周围宿主骨;空白对照侧底部及顶部新骨生成量也明显增加,近牙槽嵴顶部可见较为明显透光区。术后6个月,实验侧种植体近中骨缺损区完全为新生骨组织充填,骨小梁排列方向与周围宿主骨一致,密度接近宿主骨,二者之间未见明显分界线;空白对照侧缺损区大部分为新生骨组织充填,种植体近牙槽嵴顶部仍可见较窄的透光区(图2)。



上:实验侧;下:空白对照侧

图1 术后1个月,实验侧和空白对照侧的X线观察结果

Fig 1 1 month after operation, X-ray results of the experimental side and the control side



上: 实验侧; 下: 空白对照侧

图2 术后6个月, 实验侧和空白对照侧的X线观察结果

Fig 2 6 months after operation, X-ray results of the experimental side and the control side

2.3 组织学观察结果

实验侧术后1个月, 新骨沿牙槽窝骨壁边缘向缺损区中心方向生长, 新生骨小梁较为粗壮, 彼此连接呈网状(图3)。术后2、4个月, 缺损区新生骨组织量逐渐增多, 由下至上逐渐充填骨缺损区, 主要为编织状骨, 底部编织状新骨开始改建为板层状骨, 并与种植体紧密接触。术后6个月, 骨缺损区为成熟板层状骨修复, 可见哈佛氏系统, 骨小梁内为大量骨陷窝, 周围有少量成骨细胞, 与种植体呈完全骨性结合(图4)。空白对照侧术后1个月, 缺损区主要为纤维结缔组织充填, 其间可见稀疏细条状的骨小梁。术后2、4个月, 缺损区新生骨小梁逐渐增多, 变粗, 彼此连接呈网状或片状, 内含大量骨髓组织。术后6个月, 缺损区主要为编织骨修复, 骨小梁周边可见成骨细胞, 近牙槽嵴顶部见有少量结缔组织。

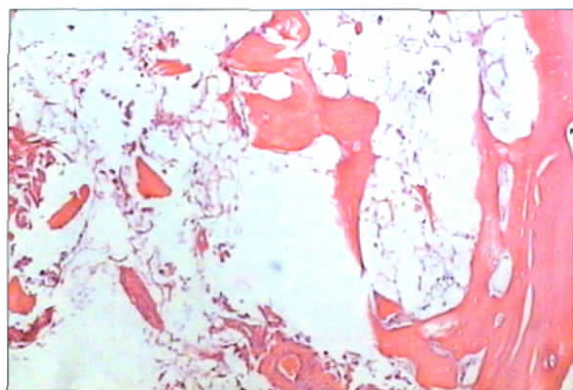


图3 术后1个月, 实验侧缺损区新骨沿牙槽窝骨壁边缘向中心方向生长 HE ×40

Fig 3 1 month after operation, new bone grew from the alveolar socket into the defect of experimental side HE ×40

2.4 扫描电镜观察结果

扫描电镜下观察可见, 实验侧术后1个月, 缺损区底部新生骨组织直接与种植体表面接触, 骨小

梁排列不规则, 近牙槽嵴顶界面区内可见大量无定形未完全钙化骨基质和尚未完全钙化的纵横交错的胶原纤维, 表面有团块状钙盐结晶沉积, 形成类骨样基质, 显示活跃的成骨活动(图5)。术后2、4个月, 缺损区新生骨与种植体之间紧密接触, 种植体周围大量新生骨组织形成, 呈编织状, 内含大量哈佛氏系统及骨陷窝, 并逐步向板层状骨改建。术后6个月, 缺损区内新生骨组织排列较为致密, 且有规律, 呈板层状, 与原宿主骨完全骨性融为一体, 低倍镜下可见种植体螺纹的横断面。空白对照侧术后1个月, 种植体与宿主骨之间以钙化程度较低的骨基质和大量排列紊乱的胶原纤维为主, 界面上可见较多形状不规则的钙盐沉积。术后2个月, 缺损区底部有新生骨组织形成, 但排列不规则, 骨与种植体间尚可见少量未钙化完全的骨基质样物质, 近牙槽嵴顶主要为纤维结缔组织。术后4、6个月, 缺损区新骨生成量逐渐增多, 骨与种植体结合趋于紧密, 但排列不如宿主骨规则, 近牙槽嵴顶附近种植体周围仍可见尚不成熟的新生骨组织。

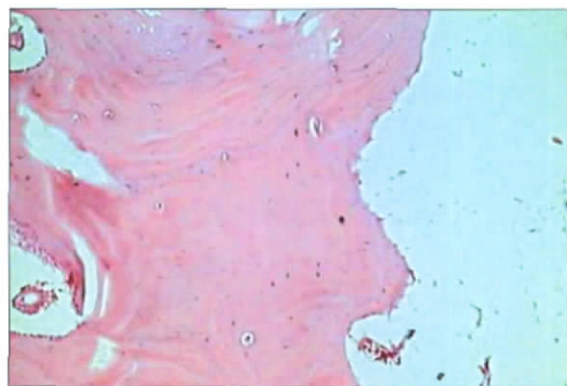


图4 术后6个月, 实验侧缺损区为成熟板层状骨修复, 与种植体呈完全骨性结合 HE ×40

Fig 4 6 months after operation, completely osseointegration between the host bone and the implant in experimental side HE ×40

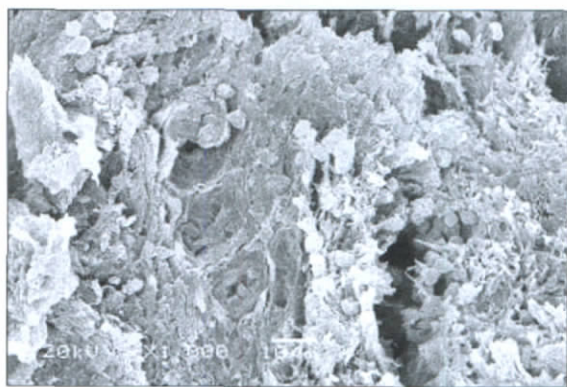


图5 术后1月, 实验侧缺损区大量类骨样基质, 显示活跃的成骨活动 SEM ×1000

Fig 5 1 month after operation, there were numerous osteoid matrix in the defect of experimental side SEM ×1000

2.5 生物力学测定结果

术后1、2、4、6个月时,实验侧和空白对照侧植入种植体的最大拔出力值结果见表1。由表1可见,术后1、2、4个月时,实验侧和空白对照侧植入种植体的最大拔出力值间差异具有统计学意义($P<0.05$),而术后6个月时,实验侧和空白对照侧植入种植体的最大拔出力值间差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 不同时期植入种植体的最大拔出力值(kN, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 The pulling maximum strength of two sides at different stage(kN, $\bar{x}\pm s$)

时间	实验侧	空白对照侧	P值
术后1个月	0.354 4±0.052	0.242 7±0.051	0.023
术后2个月	0.678 9±0.112	0.479 1±0.096	0.035
术后4个月	0.766 5±0.087	0.623 1±0.064	0.039
术后6个月	1.240 3±0.041	1.075 1±0.127	0.082

3 讨论

种植区骨量不足可降低种植修复的成功率,限制种植义齿的适用范围。人们应用多种骨移植材料和技术来修复种植体周围骨缺损,以恢复牙槽骨的高度和丰满度,提高种植修复的远期成功率并获得理想的美学效果。其中引导骨组织再生技术的应用愈来愈受到重视,成为修复各种类型骨缺损的常规治疗手段^[3]。引导骨组织再生技术的基本原理是:将膜置于软组织与骨缺损之间,建立生物屏障,阻止干扰骨形成且迁移速率较快的龈结缔组织细胞和上皮细胞进入,允许有潜在再生能力、迁移速率较慢的骨细胞优先进入骨缺损区,优势生长,同时保护血凝块,减缓覆盖组织的压力,实现缺损区骨组织的再生修复。研究表明以聚四氟乙烯膜为代表的不可吸收性膜需二次手术取出,增加了患者的痛苦,同时易发生感染及膜暴露,导致新生骨量下降。而以胶原膜为代表的可吸收性膜由于其自身的可吸收性,无需二次手术取出,减轻了患者的痛苦^[4-5]。

本研究所采用的Co膜主要由牛腱中提取的Ⅰ型胶原构成,具有双层结构,外层致密,面向软组织,可防止纤维结缔组织细胞过早进入骨缺损区,内层粗糙多孔,面向骨缺损区,可稳定血凝块,为成骨细胞的黏附和骨的沉积提供支架,从而引导骨组织再生。大体标本观察发现,Co膜术后1个月尚较完整,其下有新生骨样组织生成;术后2、4个月,Co膜逐渐吸收变薄或消失,缺损区大部分为新生骨组织充填;术后6个月,Co膜已完全吸收消失。整个观察期内组织学检测未发现明显炎症反应,表明

本研究所采用的Co膜具有良好的生物相容性和可降解性。然而,该膜吸湿后变软,单独使用易发生移位或塌陷。膜的固定为新骨组织的再生提供稳定的环境,其微小的移动将会影响骨再生的效果,因此膜早期的固定至关重要。本研究采用黏合固定和缝合固定方式对Co膜进行固定,术后无1例发生膜暴露或感染,固定效果良好。医用生物蛋白胶的主要成分是纤维蛋白黏合剂,具有封闭剂和黏合剂或塑形剂的作用^[6]。本实验X线观察发现,实验侧术后1个月,缺损区底部有密度稍低的新骨生成,近牙槽嵴顶有新生骨组织自宿主骨侧向内生长。其后缺损区底部及顶部新骨生长量逐渐增多。至术后6个月,缺损区完全为新生骨组织充填,骨小梁排列方向与周围宿主骨一致,密度接近宿主骨。而空白对照侧术后6个月,缺损区大部分为新生骨组织充填,种植体近牙槽嵴顶部仍可见较窄的透光区。组织学观察结果显示,实验侧术后1个月,缺损区可见新骨沿牙槽窝骨壁边缘向中心方向生长,由下至上充填骨缺损区。术后6个月,骨缺损区为成熟板层状骨修复,与种植体呈完全骨性结合。而空白对照侧术后6个月,缺损区主要为编织骨修复。扫描电镜观察结果表明,实验侧术后1个月,缺损区内可见大量无定形不完全钙化骨基质和尚未完全钙化的纵横交错的胶原纤维,表面有团块状钙盐结晶沉积,形成类骨样基质,显示活跃的成骨活动。术后6个月,缺损区内新生骨组织排列规律、致密,呈板层状,低倍镜下可见种植体螺纹的横断面,表明与原宿主骨完全骨性融为一体。而空白对照侧术后6个月,近牙槽嵴顶附近种植体周围仍可见尚不成熟的新生骨组织。生物力学测定结果表明,术后1、2、4个月时,实验侧和空白对照侧植入种植体的最大拔出力值间差异具有统计学意义($P<0.05$),而术后6个月时,实验侧和空白对照侧植入种植体的最大拔出力值间差异则无统计学意义($P>0.05$)。本实验研究结果表明,实验侧比空白对照侧新骨形成量多,外形好,骨成熟时间早,Co膜可用作骨组织引导再生膜,以期加速促进即刻植入种植体周围骨缺损的再生修复,其促进作用主要表现在骨组织愈合的早期。

有研究发现,种植体周围骨缺损在1 mm以下时不必植骨,而1 mm以上时应植骨,以利于新骨修复和种植体的早期固位^[7]。然而对于种植体周围骨缺损植入材料的选择,多年来一直未能很好地解决。人们曾将羟磷灰石、脱钙冻干骨和胶原等材料植入骨缺损区,对骨缺损的修复起到一定的促进作用,提高了即刻种植的成功率,但均存在一定的不足。

本研究观察发现,即刻牙种植体周围骨缺损区的愈合过程类似于拔牙创的愈合。空白对照术后6个月,除近牙槽嵴顶部有少量结缔组织,为纤维性界面外,缺损区主要为编织骨修复,与实验侧一样也已形成骨性界面。这与卢丙仑等^[8]研究结果相符。谭包生等^[9]研究发现,种植体植入后1个月松质骨植入组新骨量明显增多,而植入后3个月则未能发现松质骨植入组与未植入组之间有明显差别,表明植入松质骨仅在早期对诱导新骨生成有一定作用。本研究结果表明,可吸收性胶原膜在即刻植入种植体周围缺损区骨组织再生修复中也起到类似的作用,有望为临床即刻种植修复提供一条新的途径。

本研究发现成年杂交狗下颌前磨牙远中根拔牙创较近中根大,与卢丙仑等^[2]建立的即刻种植动物模型不同,选用其下颌第3、4前磨牙远中根近中区适当去骨,形成种植体即刻植入后其近中3 mm×3 mm×5 mm骨缺损区的动物模型,减少了人为因素对牙槽骨的损伤,结果更为客观可靠。

【参考文献】

- [1] Barzilay I. Immediate implants: Their current status[J]. Int J Prosthodont, 1993, 6(2): 169-175.
- [2] 卢丙仑, 刘宝林, 陈小文, 等. 即刻种植动物模型的建立及意义[J]. 华西口腔医学杂志, 1997, 15(4): 319-320.
LU Bing-lun, LIU Bao-lin, CHEN Xiao-wen, et al. Establishment of immediate implant animal model in mongrel dogs fresh extraction socket[J]. West China J Stomatol, 1997, 15(4): 319-320.
- [3] 宿玉成. 现代口腔种植学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004:

- 205-216.
- SU Yu-cheng. Contemporary oral implantology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 205-216.
- [4] 郭莉, 蒋中华. 膜引导组织再生在口腔种植学中的应用研究[J]. 国外医学口腔医学分册, 1995, 22(4): 225-228.
GUO Li, JIANG Zhong-hua. Application study of membrane guided tissue regeneration in oral implantology[J]. Foreign Medical Sciences(Stomatology), 1995, 22(4): 225-228.
- [5] Zitzmann NU, Naef R, Schärer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1997, 12(6): 844-852.
- [6] Soffer E, Ouhayoun JP, Anagnostou F. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2003, 95(5): 521-528.
- [7] 卢丙仑, 刘宝林, 孙庆妹, 等. 即刻种植骨结合式牙种植体的实验研究[J]. 中华口腔医学杂志, 1999, 34(2): 94-95.
LU Bing-lun, LIU Bao-lin, SUN Qing-mei, et al. Experimental study of osseointegrated dental implants placed into fresh extraction sockets in dogs[J]. Chin J Stomatol, 1999, 34(2): 94-95.
- [8] 卢丙仑, 刘宝林, 洪咏龙, 等. 牙种植体即刻种植骨愈合过程的组织学观察[J]. 实用口腔医学杂志, 1998, 14(4): 277-278.
LU Bing-lun, LIU Bao-lin, HONG Yong-long, et al. Histomorphologic observation of bone healing response around immediate dental implant in dogs[J]. J Pract Stomatol, 1998, 14(4): 277-278.
- [9] 谭包生, 朱宣智, 佐藤淳一, 等. 牙种植体即刻种植的实验研究[J]. 中华口腔医学杂志, 1995, 30(1): 10-12.
TAN Bao-sheng, ZHU Xuan-zhi, Junichi SATO, et al. Experimental study of immediate endosseous implantations[J]. Chin J Stomatol, 1995, 30(1): 10-12.

(本文编辑 王 晴)

当代舌侧隐形正畸高级研修班通知

由国家卫生部中日友好医院口腔医学中心主办,北京大学口腔医学院、上海交通大学口腔医学院、同济大学口腔医学院、浙江大学口腔医学院协办的国际舌侧隐形正畸技术高级研修班(理论班和操作班)将于2008年11月30日—12月4日在北京举行。

11月30日—12月2日舌侧隐形正畸技术理论学习班由意大利 Scuzzo 教授和日本 Takemoto 教授联合讲授:当代最新的预成舌侧矫治器 STB 矫治器的设计原理、临床应用技巧及典型病例分析(全程中文翻译)。12月2日由徐宝华教授、钱玉芬教授、刘月华教授、林新平教授、贾培增副教授和武冠英医师分别讲授计算机辅助设计制作的个性化舌侧正畸技术、舌侧自锁托槽技术以及舌侧正畸的临床操作程序和技巧、常见问题处理和技工室加工操作方法等内容。12月3—4日操作班由徐宝华教授系统培训舌侧正畸各矫治阶段的弓丝弯制方法和技术要点。

学员经考试合格颁发结业证书并授予国家继续教育 类学分 10 分。代办住宿,欢迎从事与本专业相关的临床医生参加。

报名时间:2008年11月29日全天;报到地点:北京朝阳区樱花东街2号中日友好医院综合楼五层口腔科,邮编:100029;学费:舌侧隐形正畸技术理论学习班1600元;操作班2000元;材料费500元。联系人:武冠英,马俐丽;联系电话:010-84205263或010-84205269;E-mail:xubaohua2000@yahoo.cn;网站:www.zrkq.com。

北京中日友好医院