

自体骨复合多孔支架上颌窦提升同期种植体植入的实验研究

西安医学院附属医院口腔科(西安 710077) 李立刚 王 军

摘 要 目的:观察聚乳酸材料 PLA/PGA 在同期植入种植体时的成骨效应及种植效果。方法:将预制成形的 PLA/PGA 材料,通过上颌窦提升术植入新西兰兔的上颌窦中,同期植入钛种植体,术后 4、8、12 周进行 X 线检查观察成骨情况,12 周全部处死通过大体、组织学及电镜观察成骨及种植效果。结果:在所有植入 PLA/PGA 材料的兔上颌窦都有新鲜成熟骨形成,在同期植入的种植体稳定与新形成骨紧密结合,同时材料本身完全吸收。结论:自体骨复合多孔支架上颌窦提升同期种植体植入具有简便高效易行的优点。

关键词 自体骨 多孔支架 上颌窦提升 种植体

The experimental study of maxillary sinus floor augmentation by autogenously bone with porous foams grafts and immediate dental implants

Department of Stomatology, the Affiliated Hospital,
Xi'an Medical College(Xi'an 710077) Li Ligang Wang Jun

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of poly acid (PLA/PGA) as scaffold joint with self bone to produce new bone for implanting at the same time. Methods: Implanting the scaffold PLA/PGA by opened maxillary sinus floor lifting to News land rabbits' maxillary sinus, examine the new bone by X-ray 4, 8, 12 weeks after surgery, observing the new bone and the effect of implanting by general observation, microscopy and scanning electron microscopy after sacrificed by the end of 12 weeks. Results: All of the rabbits' maxillary sinus produced the new mature bone, it bond with the dental solidly with the scaffold absorbed thoroughly. Conclusion: The method that this experiment applied can settle the implant problem of none enough bone effectively.

KEY WORDS Self bone Porous foams Maxillary sinus lifting Dental implant

牙种植成功的一个首要条件就是要保证种植区有足够的牙槽骨。种植修复通常要求种植区的骨量高度不低于 10mm,厚度不少于 5mm。然而由于天然牙拔除后,剩余牙槽嵴的宽度在 1 年内将减少约 25%,且此过程持续进行,最终可导致 50% 的牙槽骨丧失^[1]。因此,临床上 40%~60% 的病例均存在骨量不足的问题,使种植体的植入与上部结构的修复均非常困难。本实验采用同期植入 PLA/PGA 支架材料及短种植体,观察成骨及种植效果。

材料和方法

1 聚乳酸材料 PLA/PGA 材料由济南岱罡生物科技有限公司提供的纳米植骨材料,加工成直径 8mm、厚 5mm 圆盘状,无水乙醇湿化,去除无水乙醇,晾干,紫外线照射消毒密封备用。种植体由北京莱顿生物材料有限责任公司提供,表面涂有羟基磷灰石,直径 3mm,长 8mm 的短种植体。

2 动物手术及分组 西安交通大学医学院实验

动物中心提供的新西兰大白兔 8 只,体重 1.8~2.2kg,雌雄不限。速眠新静脉麻醉,固定、消毒、铺巾。在进行完与对照组一样的上颌窦提升术、自体骨移植,在上颌窦窦底放入预制好的 PLA/PGA 多孔支架材料,同时在牙槽嵴顶植入钛种植体,种植体穿过支架材料,缝合关闭伤口。术后保持伤口区清洁,分笼饲养,庆大霉素 8 万单位肌注,每日 1 次,连续 3d,预防感染。

3 观测指标 观察动物基本情况及术区隆起、伤口愈合情况,术后 4、8、12 周进行 X 线拍片观察成骨情况,术后 12 周全部处死,观察多孔支架成骨及与种植体结合情况,并行电镜检查观察新生骨与种植体结合情况。

结 果

1 实验动物情况 手术区均愈合良好,无感染红肿,无移植物排出。

2 大体观察 可见多孔支架已经完全吸收,局部区域已被新生骨组织代替,新形成的骨骨质硬度较皮

骨质略低。新形成骨与种植体紧密结合,种植体无松动。

3 组织学观察 成熟的骨小梁接连成片,可见骨髓腔和骨髓组织形成。植入多孔支架材料已经完全吸收。骨组织边缘可见大量成骨细胞排列,部分区域可见破骨细胞,部分区域可见软骨组织,中心有骨髓腔形成,显示软骨内成骨。

4 电镜观察 界面的骨组织具有与种植体功能负荷相适应的改建能力。在手术后缝合封闭创口,使种植体在基本不受外力的状态下经过 3 个月的“愈合期”,形成了骨性结合(Osseo integration)的界面状态。此时在植入体穿越皮质骨的区域,可见已钙化的哈佛系统,基质内有大量骨胶原纤维构成网状结构,骨细胞的胞突贯穿骨基质并紧密贴附于由氧化钛分子结构形成的植入体表面。用高倍透射电镜可见骨细胞胞突及规则排列的骨胶原纤维与氧化钛膜之间是一层厚度约 20 μm 的糖蛋白及葡萄胺多糖类等成分构成的非结晶膜。在种植体穿越松质骨的区域,可见成纤维细胞和成骨细胞的胞突及骨小梁伸向氧化膜的表面。

5 X 线检查 术后 4、8 周可见同只兔子术区较对侧未手术区有增高密度影像,提示术区有骨质形成。术后 12 周,可见术区高密度影与周围骨皮质已连接成片,表现为成熟骨质影像学,并且与种植体紧密结合,它们之间无低密度影像。

讨论

种植时面临的种植区骨量不足是临床经常遇到的难题。本实验借鉴了组织工程的思路,使用了组织工程的最新的支架材料 PLA/PGA 来帮助成骨,实验证明了成骨效果优良,种植体同期种植取得了成功。组织工程学研究近年来得到极大重视,其主要包括:种子细胞;细胞载体支架;组织构建^[2]。

种子细胞的选择与培养是骨组织工程中最根本的环节,目前种子细胞的来源有松质骨、骨膜、骨髓及骨外组织,许多研究发现骨髓来源的种子细胞最具有优势^[3]。骨髓基质细胞(Bone marrow stromal stem cells, BMSCs)是来源于骨髓基质的一种间充质细胞,具有多向分化潜能,在一定的诱导下可向成骨细胞分化^[4]。本实验采用开放式上颌窦提升术中取下的兔上颌窦颊侧骨板作为种子细胞的来源,因为自体骨是成骨的最佳材料。骨髓基质细胞的提取培养现在有各种方法,但是成功率及在成骨的效率局不高,由于对于技术和设备以及操作人员的要求很高,目前仅停留在实验阶段,难以大规模的应用于临床。

用于组织工程的支架材料有天然和人工合成两类。虽然早期的结果显示天然衍生物大分子具有良好

的应用前景^[5,6]。组织工程用高度多孔生物可降解支架的制备,但天然材料存在性能难以重现,难以大批量生产,且具有一定的压缩性,在体内水解过程中不能保持空间构型等缺点,这促使一些研究者考虑采用易于大批量生产、性能可调、易于加工成特定微观结构、能满足不同需要的人工合成可降解高分子材料。这类材料易于构建组织工程生长所需的结构;同时免除因取出植入人体而带来的二次手术^[7]。目前用于细胞支架材料的主要是 FDA 批准作为缝合线的人工合成生物可降解聚 α -羟基酯,尤其以聚羟基乙酸(PGA)、聚乳酸(PLA)以及两者的共聚物(PLGA)应用最为广泛^[8]。它们突出的优点是:生物相容性良好,降解速度可调、降解产物易于代谢和排除以及材料易于消毒等。PLA 相对于 PGA 具有疏水性太、结晶性低和降解速度慢的特点,通过改变无定形共聚物中 PLA 和 PGA 的配比可调节共聚物的降解速度。本实验所采用的 PLA/PGA 多孔支架材料,在体内降解时间为 3 个月,与一般骨组织形成的时间相近。许多研究表明,支架材料在体内的降解速度过快,新生骨组织尚未完全取代形成,支架材料就吸收消失失去了引导骨生成的作用,降解速度过慢,支架材料又阻碍干细胞的成骨作用。PLA 与 PGA 的比例,决定了支架材料在体内的降解速度,本实验表明 PLA 与 PGA 的比例 75:25 时具有优良的引导成骨的作用。除考虑材料的降解速度等化学性能,在设计组织工程支架材料时,还必须考虑其物理性能。支架应具有大的表面积和高孔隙率,便于细胞的粘附。本实验采用的孔隙率在 90% 以上,孔隙大小在 100~150 μm ,充分的保证了细胞粘附和营养物质的传送及代谢产物的交换;并且该孔尺寸足够大以利于细胞的充分渗透。

本实验选用的种植体,表面涂有羟基磷灰石,能够增加新生骨与种植体的骨整合。有实验表明,羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HA 或 HAP)是一类具有良好生物相容性的生物活性材料,羟基磷灰石生物活性陶瓷植入体内不仅安全、无毒,还能传导骨生长,即新骨可以从 HAP 植入体与原骨结合处沿着植入体表面或内部贯通性孔隙攀附生长,能与组织在界面上形成化学键性结合。它与骨形成化学键结合表现在:在光学显微镜水平下,新骨和 HAP 植入体在界面上直接接触,其间无纤维组织存在;HAP 植入体-骨界面的结合强度等于甚至超过植入体或骨自身的结合强度,如果发生断裂,则往往是发生在陶瓷或骨的内部,而不是在界面上;HAP 植入体-骨界面的高分辨率透射电子显微镜显示,新生骨中盐晶体系由植入体中晶粒外延生长形成。本实验表明,通过自体骨复合组织工程的多

孔支架可以有效成骨,并且同期植入的种植体在动物实验中取得了良好的效果。本实验方法具有简便、易行、高效的特点,避免了采集骨髓及体外组织工程扩增成骨二次手术植入的繁琐和痛苦,可以有效缩短临床治疗时间和病人承担的费用。本实验为临床种植体种植及同期成骨提供了理论依据。

参考文献

- [1] Ulrich J, Johannes K. Reconstruction of the severely restored jaws: routine or exception. *Craniofacial Surg*, 2000, 28:1-4.
- [2] Haynesworth SE, Gotham M, Goldberg VM, et al. Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone*, 1992, 13(3):81-88.
- [3] Miguel A, Cogent P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med*, 2001, 226(4):507-520.
- [4] Demy W, Brock M, Fischer SE. In vitro differentiation of human marrow stromal cells into early progenitor stroma cells by conditions that increases intracellular AMP. *Biopsy Res Commun*, 2001, 282(6):148-152.
- [5] Grande DA, Halberstadt C, Haughton G, et al. Evaluation of matrix scaffolds for tissue engineering of auricular cartilage grafts. *Biomed Mater Res*, 1997, 34:211-220.
- [6] Dennis JE, Goldberg VM. Harmonic acid based polymers as cell carriers for tissue engineered repair of bone and cartilage. *Biomed Mater Res*, 1999, 17:205-213.
- [7] Temenoff JS, Mikes AG. Review Tissue engineering for regeneration of auricular cartilage. *Biomaterials*, 2000, 21:431-440.
- [8] Thomson RC, Wake MJ. Biodegradable polymer scaffolds to regenerate organs. *Advances in Polymer Science*, 1995, 122:245-274.

(收稿:2008-08-08)

4 种保存液对静脉桥管收缩和舒张功能的影响

陕西省人民医院心外科(西安 710068) 宋宝国 孙宗全

摘要 目的:比较自体全血(WB)、普通盐溶液(NSS)、生理盐溶液(PSS)和 Wisconsin 液(UWS)4种保存液对兔股静脉内皮细胞和血管平滑肌细胞功能的影响。方法:5只成年家兔离体股静脉分离后,分别在4种保存液中保存3h。然后将静脉分别悬挂于含有WB、NSS、PSS和UWS的组织槽中作张力测定,并记录以下各个张力反应强度数值:对递增浓度($10^{-8} \sim 10^{-4}$ M)的去甲肾上腺素(NE)的收缩反应。对递增浓度(20~100mM)的氯化钾(KCl)的收缩反应。用KCl预收缩后,对递增浓度($10^{-7} \sim 10^{-4}$ M)的血管扩张剂罂粟碱的舒张反应。用NE预收缩后,对钙离子导入剂A23187(10^{-5} M)的舒张反应。结果:保存于4种液体中的静脉对血管去甲肾上腺素($10^{-8} \sim 10^{-4}$ M)的收缩反应表现出相似的敏感性及其强度。保存于WB及NSS液中的静脉与保存于PSS液及UWS液中的静脉比较,前两者对递增浓度的KCl(20~100mM)的收缩反应显著低于后两者。保存于WB及NSS液中的静脉与保存于PSS和UWS液中的静脉相比,前两者对递增浓度的罂粟碱($10^{-7} \sim 10^{-4}$ M)的舒张反应显著低于后两者。在WB液中保存的静脉环对钙离子导入剂A23187(10^{-5} M)诱导的舒张反应的程度明显低于其余3组。结论:保存于NSS液及WB液中的静脉桥管的内皮细胞和血管平滑肌细胞的活性受到了损伤,收缩及舒张功能受到损害;PSS液及UWS液可较好地保护静脉桥管的内皮细胞和血管平滑肌细胞的活性。

关键词 静脉 收缩 舒张 @生理盐溶液 @普通盐溶液 @自体全血 @UWS液

作自体静脉冠状动脉旁路移植前,将自体静脉桥管放置于何种保存液中保存,能够最有效地保护内皮细胞和血管平滑肌细胞的活性,存在着广泛的争论。有些学者认为自体全血(WB)对静脉有较好的保护作用,而另一些学者则认为普通盐溶液(NSS)或生理盐溶液(PSS)较好。以往对这些液体的评价多围绕着是

否对静脉桥管产生组织学的损伤。然而,这些液体有可能对静脉产生一些功能上的损伤,用组织学的指标并不能反映这些损伤。因此,本实验比较了4种保存液对静脉桥管的内皮细胞和血管平滑肌细胞功能的保护作用,进一步比较它们的优缺点。旨在找到一种能最大地保护内皮细胞和血管平滑肌细胞功能的液体。