文章编号:1000-5404(2011)09-0975-02

短篇论著

富血小板血浆复合材料对种植体周骨缺损修复的影响

韦纪英,贺于奇,杨晶晶,司亚静 (563003 贵州 遵义,遵义医学院附属口腔医院修复科)

【摘要】 目的 研究实验性种植体周骨缺损的修复效果。**方法** 健康新西兰大白兔 24 只,采用自身对照方法,在每只兔胫骨上 1/3 距膝关节 2 cm 处各植入 1 枚种植体,并在种植体一侧建立骨缺损区,左侧为实验组,填充 PRP 与 nano-HA 复合物;右侧为对照组,填充 nano-HA。分别于术后 2、4、6 周处死 8 只动物,通过 X 线片测量种植体周骨密度灰度值;组织学染色观察兔胫骨种植体周骨缺损愈合情况,并进行计算机图像分析,对新生骨面积进行测量。**结果** 术后 2、4、6 周时,骨密度分析显示实验组灰度值显著高于对照组($P<0.05$);术后 2、4、6 周时,实验组新生骨面积显著高于对照组($P<0.05$)。**结论** 富血小板血浆复合纳米羟基磷灰石对实验性种植体周骨缺损的生长有促进作用。

【关键词】 种植;富血小板血浆;纳米羟基磷灰石;骨缺损
【中图法分类号】 R783.1;R782.13;R783.6 **【文献标志码】** A

种植义齿是目前牙列缺损的重要的修复方法之一,但常因各种原因导致骨量不足,直接影响种植体的选择及种植修复的效果。近年研究表明,富血小板血浆可能有促进骨缺损修复的作用[1-2]。本实验将种植体周骨缺损区分别放入纳米羟基磷灰石/PRP 复合物与纳米羟基磷灰石(nanometer-hydroxyapatite,nano-HA),观察 2 组材料对实验性种植体周骨缺损的修复作用,为种植义齿临床选用人工材料增加骨量提供实验参考。

1 材料与方法

1.1 动物

健康新西兰大白兔 24 只(南方医科大学提供),6 月龄,体质量 2~3 kg,雌雄不拘,分笼饲养。

1.2 方法

1.2.1 PRP 的制备 参考韦纪英等[3]采用的 Curasun-type PRPRit 制备方法。

1.2.2 动物分组 新西兰成年大白兔 24 只,采用自身对照方法,将种植体在兔的左右两侧胫骨上 1/3 植入并在种植体一侧形成骨缺损区,左侧作为实验组,缺损区填充 PRP/nano-HA 混合物,右侧作为对照组,缺损区填充 nano-HA。

1.2.3 术前准备及麻醉 在兔耳缘静脉用 0.03 g/L 戊巴比妥钠按 0.03 g/kg 进行麻醉,仰卧位置于手术台上固定,常规消毒、铺巾。

1.2.4 手术方法 取兔左右胫骨内侧做直切口,在胫骨上 1/3,沿胫骨长轴切开约 3 cm 长的切口,切开皮肤、皮下组织及骨膜达骨壁,用涡轮手机接球钻在动物的左右两侧胫骨体部上 1/3 距膝关节 2 cm 处定位打孔、直径 2 mm,深度 4 mm,其间用生理盐水冷却,在实验组种植孔内涂 PRP/nano-HA 混合物,在对照组种植孔内涂 nano-HA,然后在左右胫骨旋入螺纹式种植体于孔内至上端与骨缘平齐,最后在种植体一侧用裂钻造成骨缺损(大小约 2 mm×4 mm×5 mm),分别在实验侧骨缺损内填入 PRP/nano-HA 复合物,对照侧填入 nano-HA。充填完成后,逐层缝合切口,术后 3 d 肌注青霉素 40 万 U/d。于术后 2、4、6 周分别用血管内注射空气法处死实验动物,每次每组取 8 只。取得完整的两组兔胫骨标本。

1.3 观察指标

1.3.1 骨密度分析 术后 2、4、6 周各处死 8 只动物,取下胫骨标本。采用 trophy X 线机及 Kodak RVG 6000 数字成像系统(电压 60 kV,管电流 8 mA,曝光时间 0.08 s)。将感应片放置于标本下,球管置于其上方 3.6 cm 处,距离标本 1 cm 处,采用平行投照法对其进行数字牙片拍摄。骨密度(bone mineral density,BMD)以灰度值(mean grey values,MGVs)表示。测量软件显示:完全透射区 MGVs 为 0,完全阻射区 MGVs 为 256。BMD 越大,MGVs 越高。方法为:选取不同时间段的数字牙片,由 3 人分别测量种植体两侧及底部的骨密度,每人每个部位测量 3 次,取其平均数值(测量骨密度仪,ChallengerDMS 公司)。

1.3.2 组织学检查及新生骨面积测定 标本固定脱钙,石蜡包埋,切片染色观察。在 100 倍显微镜视野下每组随机取 5 张组织学切片,每张切片选取 3 个视野,图像采集输入计算机图像分析系统,对每个视野下新生骨组织面积进行计算及分析(图像分析系统 BI-2000 型,四川)。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,对照组和实验组各评分结果采用 SPSS 16.0 统计软件进行配对 t 检验。

2 结果

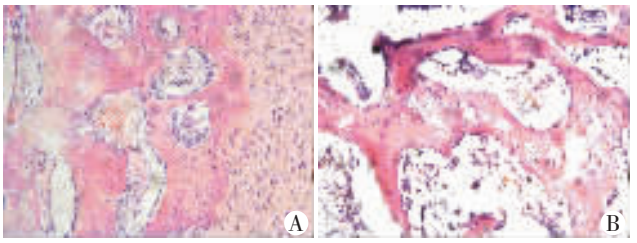
2.1 X 线观察结果

结果显示,术后 2 周,实验组和对照组均见密度减低、不均,呈透射阴影,实验组和对照组差异不明显;术后 4 周,实验组和对照组见密度稍增高,实验组种植体周阻射区域比对照组多;术后 6 周,2 组种植体周骨界限与旁正常骨组织不清,密度均匀,灰度值与周围骨组织相近,实验组种植体周阻射区域比对照组明显多。

【基金项目】 贵州省卫生厅科技基金[黔卫发(2007)119 号]
【通信作者】 杨晶晶 电话:(0852)8650815,E-mail:yangjingjing4010@163.com

2.2 组织学观察结果

术后2周：实验组骨小梁较粗大，对照组骨小梁呈线状；术后4周：实验组骨小梁有连接成网状的趋势，对照组骨小梁细小散乱。术后6周，实验组骨小梁粗大致密，常见融合成片（图1A）；对照组骨小梁比较细小，排列比较散乱（图1B）。



A：实验组；B：对照组

图1 两组术后6周骨组织病理学观察 （HE ×100）

2.3 骨密度分析

术后2、4、6周，实验组骨密度灰度值与对照组相比，具有统计学意义（$P<0.05$）。见表1。

表1 不同时间点两组骨密度灰度值、新生骨所占面积百分比比较（$n=8, \bar{x}\pm s$）

组别	骨密度(MGVs)			新生骨所占面积百分比(%)		
	2周	4周	6周	2周	4周	6周
实验组	61.00±3.19	90.50±1.00	111.20±3.62	43.46±1.53	59.80±1.09	73.68±2.02
对照组	48.75±2.80	78.88±2.11	97.12±2.15	31.34±1.05	53.01±1.04	63.68±1.24
t值	3.376	4.761	3.955	14.430	3.864	3.981
P值	0.012	0.002	0.005	0.000	0.006	0.005

3 讨论

纳米级的羟基磷灰石有以下优点[4]：①微结构类似于天然骨基质，可以被骨组织直接利用；②释放的钙、磷等离子可能有更多的成分参与骨代谢，更好地促进骨形成；③低结晶度和含碳酸根特征，具有与骨键合的能力，用这种材料制成的骨植体表面可提供适宜的环境促进胶原和矿物的沉积以及成骨细胞的黏附[5]，有良好的成骨效应，但缺乏良好的骨诱导作用[6]。富血小板血浆是自身动脉血经梯度离心后获得的血小板浓缩物，将PRP经特殊的激活剂（常用10%氯化钙溶液和凝血酶）激活，形成具有黏性的富含高浓度纤维蛋白原及各种生长因子的血小板胶，有良好的骨诱导作用[7]。

本实验中，将富含高浓度生长因子的PRP与nano-HA结合应用于种植体周骨缺损区，与nano-HA单独应用于种植体周骨缺损区比较，X线检查发现，实验组种植体周骨缺损区比对照组比较有较高的灰度值，实验结果提示，PRP/nano-HA复合物可能是综合了2种材料各自的骨传导和骨诱导能力，组成一种功能互补的修复材料，该材料具有很高的黏附性及生物相容性，其可促使细胞分泌促进骨形成的多种特异蛋白，从而使其具有骨引导与骨诱导的双重能力。

组织学观察显示，实验组在术后的第2、4周可以看到较多的成骨前体细胞及成骨细胞，新生骨组织也较对照组多，这可能与PRP释放的高浓度生长因子有关[8]，当PRP放入种植体周围时，其释放的生长因子可引导机体骨母细胞和其他未分化间充质细胞向种植体表面趋化移行、贴壁并分化，依托纤维蛋白原及其他生物材料为支架逐渐增殖、矿化并融合机体骨最终达到新骨生成[9]。术后6周，实验组见大量片状新生骨形成，对照组新生骨面积较小，这与我们的前期研究结果一致[3]。新生骨面积测量结果与骨密度分析结果一致，提示PRP与nano-HA结合的植入材料保持了持续的成骨效应，使种植体周围骨缺损区的骨组织生长加速，缩短了种植体与骨结合的时间，提高了种植体与骨结合界面的骨愈合速度，增加了种植体的初期稳定性，为临床上骨量不足的病例进行种植义齿修复提供了可能性，缩短种植义齿的修复疗程、扩大了种植义齿的适应范围。但是，临床上牙槽骨骨量不足的原因较多，除正常的牙槽骨萎缩吸收外，炎症、肿瘤等原因也常常引起牙槽骨骨量不足，本实验应用PRP/nano-HA复合物修复正常骨缺损时能有效提高骨修复的速率和质量，对异常原因引起的骨组织缺损是否有效，有待进一步的实验研究。

参考文献：

[1] Kovacs K, Velich N, Huszar T, *et al*. Histomorphometric and densitometric evaluation of the effects of platelet-rich plasma on the remodeling of beta-tricalcium phosphate in beagle dogs[J]. J Craniofac Surg, 2005, 16(1): 150-154.

[2] Okuda K, Kawase T, Momose M, *et al*. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells *in vitro*[J]. J Periodontol, 2003, 74(6): 849-857.

[3] 韦纪英，何霞，贺于奇，等. PRP复合纳米羟基磷灰石对兔牙槽骨缺损的修复作用[J]. 广东医学，2009，30(12)：1786-1788.

[4] 富建明，赵民朝，贾刘合，等. 纳米羟基磷灰石修复兔颌骨缺损的组织学研究[J]. 现代口腔医学杂志，2008，22(4)：389-391.

[5] 刘冰，王忠义，陈鹏，等. 纳米晶羟基磷灰石复合胶原材料在拔牙创修复中的作用[J]. 临床口腔医学杂志，2005，21(5)：259-261.

[6] 温波，陈治清，蒋引珊，等. 纳米羟基磷灰石骨细胞相容性的研究[J]. 华西口腔医学杂志，2004，22(6)：456-459.

[7] 黄爱文，金丹，裴国献，等. 复合PRP的可注射型组织工程骨修复兔桡骨缺损的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2007，29(14)：1374-1377.

[8] Lamberg A, Schmidmaier G, Soballe K, *et al*. Locally delivered TGF-beta1 and IGF-1 enhance the fixation of titanium implants: a study in dogs[J]. Acta Orthop, 2006, 77(5): 799-805.

[9] 阳懿，孙勇. 骨组织替代材料修复牙种植受植区骨缺损的研究进展[J]. 西南国防医药，2009，19(8)：854-856.

（收稿 2010-10-26 修回 2010-12-10）

（编辑 王 红）