文章编号:1000-5404(2012)12-1197-05

论著

即刻种植即刻加载对 Beagle 犬骨结合界面形成的影响

吴 丹,王 璐,徐 凌,付 钢,游 涛 (401147 重庆,重庆医科大学附属口腔医院修复科)

[摘要] **目的** 研究即刻载荷条件下即刻种植体的种植体骨结合界面形成的状况。**方法** 选用4只健康成年雄性Beagle犬,分别拔除其双侧下颌第3、第4前磨牙,并在其相应的拔牙窝位点即刻植入直径4.1 mm,长度10.0 mm奥齿泰(OSSTEM)SSⅡ系统种植体各1颗,术后24 h采用自行研制的种植体专用垂直加载仪对种植体进行垂直加载,依据加载力值的不同分为:载荷大小5、10、15 N组和不加载的对照组,各加载组每天以2 Hz的频率加载15 min,连续加载8周;加载0 d及第1、2、3、4、5、6、7、8周后分别拍摄术区种植体的X线片,并测量记录种植体垂直骨吸收量(VBL)。加载第4、8周后各处死2只Beagle犬,制作含种植体的骨组织切片,光镜下观察其组织结构并对新生骨进行定量分析。**结果** ①4周后加载5、10、15 N组和对照组的VBL分别为(0.39±0.06)、(0.30±0.10)、(0.31±0.07)、(0.26±0.11)mm,加载组和对照组之间有统计学差异($P<0.05$)。8周后加载5、10、15 N组和对照组的VBL分别为(0.47±0.10)、(0.42±0.08)、(0.50±0.06)、(0.46±0.12)mm,不同加载组以及加载组和对照组之间均无统计学差异($P>0.05$)。②硬组织切片显示4周末加载组种植骨界面的成骨量优于对照组,8周末加载组和对照组种植骨界面的成骨量和质相当。**结论** 在本实验条件下,即刻垂直载荷并不阻碍即刻种植体骨性结合界面形成过程,且早期可能有一定的促进作用。

[关键词] 即刻种植;即刻载荷;骨结合界面
[中图法分类号] R783.4;R318.01;R364.3 [文献标志码] A

Effect of immediate loading of immediate implant on implant-bone interface formation in Beagle dogs

Wu Dan, Wang Lu, Xu Ling, Fu Gang, You Tao (Department of Prosthodontics, Affiliated Stomatology Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 401147, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of immediate loading of immediate implant on the implant-bone interface formation. **Methods** Four male adult Beagle dogs were selected. The bilateral mandibular third and fourth premolars were extracted, and OSSTEM SS Ⅱ implants (4.1 mm in diameter and 10.0 mm in length) were immediately implanted in the corresponding tooth fossa of each dog after 1 h. A special device developed by ourselves was applied for the vertical loading of the immediate implants at 24 h after the operation. The implants were divided into four groups including a 5 N group, a 10 N group, a 15 N group and a control group according to the load. Each group was loaded with 2 Hz frequency for 15 min and continuously for 8 weeks. The vertical bone loss (VBL) and osseointegration of the implants were detected by X-ray once a week for 8 weeks after loading. Two dogs were sacrificed at 4 weeks and two dogs at 8 weeks to prepare hard tissue sections of the implants. The structures of the implants were observed by light microscopy, and the new bone was quantitatively analyzed. **Results** The average VBL of the groups with 5 N, 10 N and 15 N load after 4 weeks were 0.39±0.06, 0.30±0.10 and 0.31±0.07 mm, respectively, which were significantly different from that (0.26±0.11 mm) of the control group ($P<0.05$). The average VBL of the groups with 5 N, 10 N and 15 N load after 8 weeks were 0.47±0.10, 0.42±0.08 and 0.50±0.06 mm, respectively, which were not significantly different from that (0.46±0.12 mm) of the control group ($P>0.05$). The hard tissue sections showed that the quantity of new bone on the implant-bone interface after four weeks in the loading groups were greater than that in the control group, and the quantity and quality of the new bone on the implant-bone interface were the same between the loading groups and the control group after 8 weeks. **Conclusion** The immediate vertical loading of implants can be performed without disturbing the osseointegration process and may have some promoting effect at early stage.

[基金项目] 重庆市教委资助项目(KJ080315)
[通信作者] 付 钢,E-mail:fg.ras@hotmail.com

[**Key words**] immediate planting; immediate loading; osseointegration

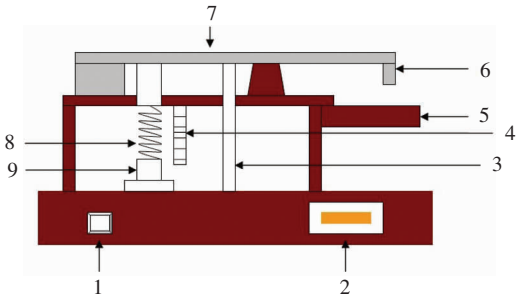
Supported by the Project of Chongqing Education Commission (KJ080315). Corresponding author: Fu Gang, E-mail: fg.ras@hotmail.com

在Branemark的经典种植体理论体系中,种植体不受任何外力干扰的3个月愈合期对于最终获取稳定的种植-骨结合界面至关重要,尽管这样经典理论的正确性已经被大量的临床实践证明,但是长达3个月的愈合等待无论是对于患者还是对于临床医师来说都是一个较漫长的过程,因此对种植体植入后的即刻或早期载荷修复一直是近年来种植修复学研究的热点问题。目前,在大量动物实验中已经证实了种植体即刻载荷的可行性[1-3],同时在一些临床研究报道中已经提到在保证种植体初期稳定的前提下,对种植体进行早期或即刻加载能取得较为成功的种植修复效果而不导致种植失败[4-7]。但是在上述的大多研究和实验中采用即刻加载的种植体均为延迟或早期条件下植入的种植体,同时对于载荷条件的限定并不严谨,即没有对载荷条件中的三因素(加载大小、加载频率、加载时间)作出明确的界定。因此,本实验针对即刻种植体即刻载荷条件下,研究不同固定载荷力值在相同的载荷频率和载荷时间的条件下,对种植体骨结合界面生成的影响,探寻可能促进即刻种植体骨结合界面形成的即刻载荷的条件范围,为临床实践提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 种植体垂直加载仪

自行设计制作的种植体垂直加载仪(由长安集团力学实验室协助制作并行力学性能检验)主要由内部步进电机马达、载荷力值调节部分、载荷力值传递部分、置物台、显示器5部分组成。步进电机马达带动加载弹簧伸缩产生加载力,并通过加载杠杆传递至牙齿作用部分,载荷大小由负荷调节刻度盘通过调控加载弹簧的伸缩变化量来调节产力大小,通过调节刻度盘的位置能将载荷大小精确的调控在5~30 N之间,并在显示器上即刻显示。同时垂直加载仪使用的步进电机马达的加载频率为2 Hz,其加载时间可以通过电源开关来控制(图1~3)。



1:开关;2:显示器;3:步进电机马达传动杆;4:负荷调节刻度尺;5:置物台;6:垂直加载头;7:加载传递杠杆;8:载荷调节弹簧;9:载荷调节螺丝

图1 种植体垂直加载仪设计简图

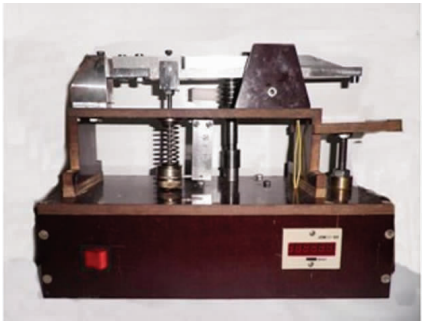


图2 种植体垂直加载仪实物



图3 种植体垂直加载仪对种植体进行加载

1.2 种植系统和主要实验设备

韩国奥齿泰(OSSTEM)SSⅡ种植系统,种植体长10.0 mm,直径4.1 mm,穿龈部分高度2 mm,基台直径4.8 mm,高度6 mm。种植钻头,不锈钢种植扳手,转移杆(韩国奥齿泰种植系统配套),种植机(BienAir,瑞士),X线拍摄机(SATELEC,法国),硬组织切片机(LEICA,德国),倒置显微镜(Nikon,日本)。

1.3 实验动物

由重庆医科大学实验动物中心提供健康Beagle犬4只,雄性,17~19个月,体质量(16±1)kg。

1.4 种植体即刻种植手术及垂直即刻加载

术前3 d和术后3 d,每只动物肌肉注射氨苄青霉素0.5 g,每天2次。即刻种植手术:经腹腔注射速眠新0.1 g/kg,2%利多卡因局部麻醉,微创拔除每只动物双侧下颌第3、第4前磨牙,随即逐级OSSTEM系统专用种植体预备钻头预备拔牙窝,预备中及预备完成后用0.9%生理盐水反复冲洗,将韩国奥齿泰(OSSTEM)SSⅡ种植系统种植体植入预备完成的即刻种植窝中,种植体初期稳定性均达35 N·cm。每侧2颗,共16颗种植体。加载组种植体安放直径4.8 mm,高度6 mm基台,不加载的对照组安放愈合帽,常规缝合。术后24 h开始加载,每天1次。加载过程:麻醉实验Beagle犬,固定其下颌于垂直加载仪置物台上,使加载仪的加载头对准种植体的基台进行垂直加载(图3),加载条件为:载荷大小5、10、15 N组,载荷频率2 Hz,加载时间15 min。上述3个不同加载大小组对应的种植体为5 N组左侧下颌第3前磨牙,10 N组为左侧下颌第4前磨牙,15 N

组为右侧下颌第3前磨牙,对照组为右侧下颌第4前磨牙。加载0 d及第1、2、3、4、5、6、7、8周后分别拍摄术区种植体的X线片,测量并记录每个种植体的垂直骨吸收量。加载第4周和第8周后各处死半数实验动物,取其下颌骨制作带种植体的骨组织切片,Masson染色后于光镜下观察骨结合界面形成情况。整个实验过程中动物进流食,每日用0.1%洗必泰冲洗术区1次。

1.5 影像学观察

加载0 d及第1、2、3、4、5、6、7、8周分别拍摄术区种植体X线片,运用CDR DICOM for windows图像处理软件测量种植体位于下颌牙槽骨内段的近远中向高度所得数值即为X线片种植体骨结合高度,并通过种植体骨结合实际高度=种植体实际长度/X线片种植体测量长度×X线片种植体骨结合高度,对实际骨结合高度进行计算校准,与加载第0天的实际骨结合高度的差值即为垂直骨吸收量(VBL,mm)。

1.6 硬组织切片观察

处死实验动物后,取含种植体的骨组织块,4%多聚甲醛固定,蒸馏水冲洗24 h,梯度乙醇脱水,树脂包埋,置于硬组织切片机上进行切片,经Masson染色后,置于倒置显微镜下观察种植体骨界面生成的情况,并运用图像分析仪对所形成的新骨进行定量分析[8]:选择视野清晰的组织学切片,在10×10倍光镜下,随机测量5个视野,以种植体2个相邻螺纹顶点连线与种植体间的面积为总面积,通过MIAS-300图像分析仪测量出新生骨的积分光密度面积百分比(每组可得10个数据),比较各组数据,并进行统计学检验。

1.7 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件,对加载组与对照组之间以及不同加载组之间垂直骨吸收量进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 临床观察

所有载荷组和对照组的种植体均未出现牙龈红肿、种植体松动,且在种植体周未探及深牙周袋,临床愈合良好。

2.2 影像学观察及垂直骨吸收量的统计分析

由图4观察到:加载0 d时,种植体的螺纹和骨质间有明显的间隙,种植体颈部未见到骨吸收现象;加载4周时,种植体的螺纹和骨质间的间隙已有减小,种植体颈部有轻微骨吸收现象;加载8周时,种植体的螺纹和骨质间已经形成较致密的种植体骨结合界面,种植体颈部有轻微骨吸收现象。

加载组与对照组的骨结合高度及垂直骨吸收量见表1。经重复测量单因素多水平分析结果显示,加载4周5、10、15 N组骨结合高度和垂直骨吸收量与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。8周加载各组骨结合高度和垂直骨吸收量与对照组相比及各加载组间相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。

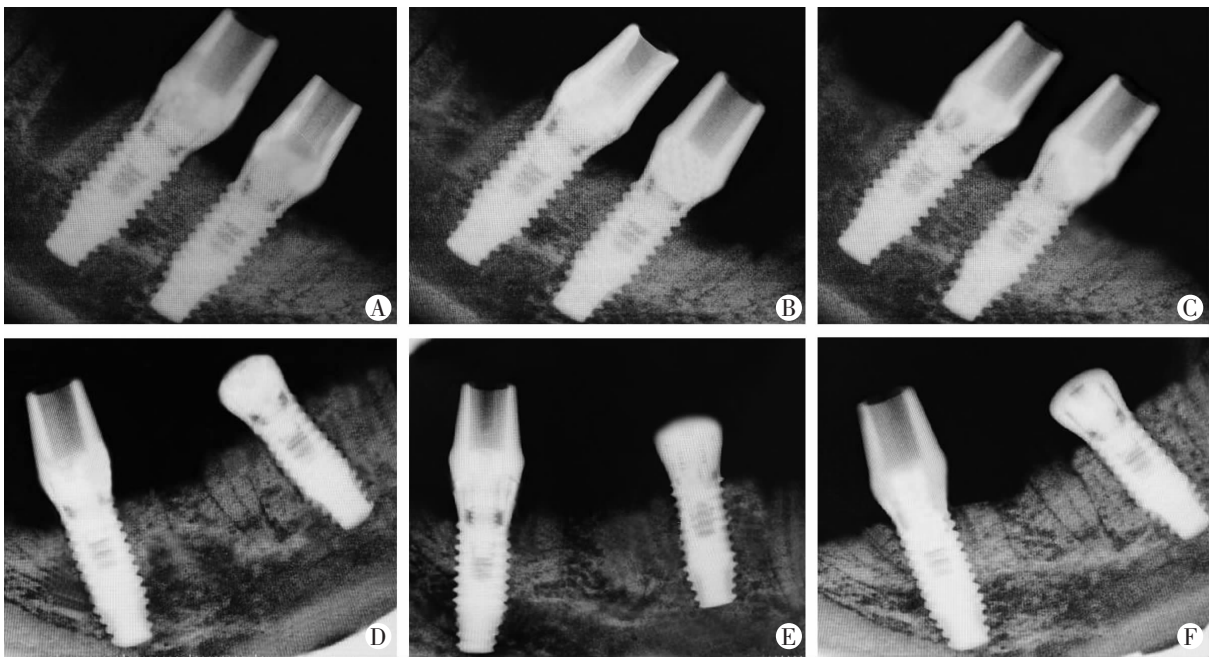
表1 加载组与对照组的骨结合高度及垂直骨吸收量比较 (mm, $\bar{x}\pm s$)

组别	0 d	骨结合高度		垂直骨吸收量	
		4周	8周	4周	8周
5 N	10.23±0.08	9.84±0.06[a]	9.76±0.07	0.39±0.06[a]	0.47±0.10
10 N	10.35±0.06	10.05±0.11[a]	9.93±0.13	0.30±0.10[a]	0.42±0.08
15 N	10.07±0.15	9.76±0.14[a]	9.57±0.08	0.31±0.07[a]	0.50±0.06
对照组	10.21±0.12	9.95±0.08	9.75±0.11	0.26±0.11	0.46±0.12

a: $P<0.05$,与对照组比较

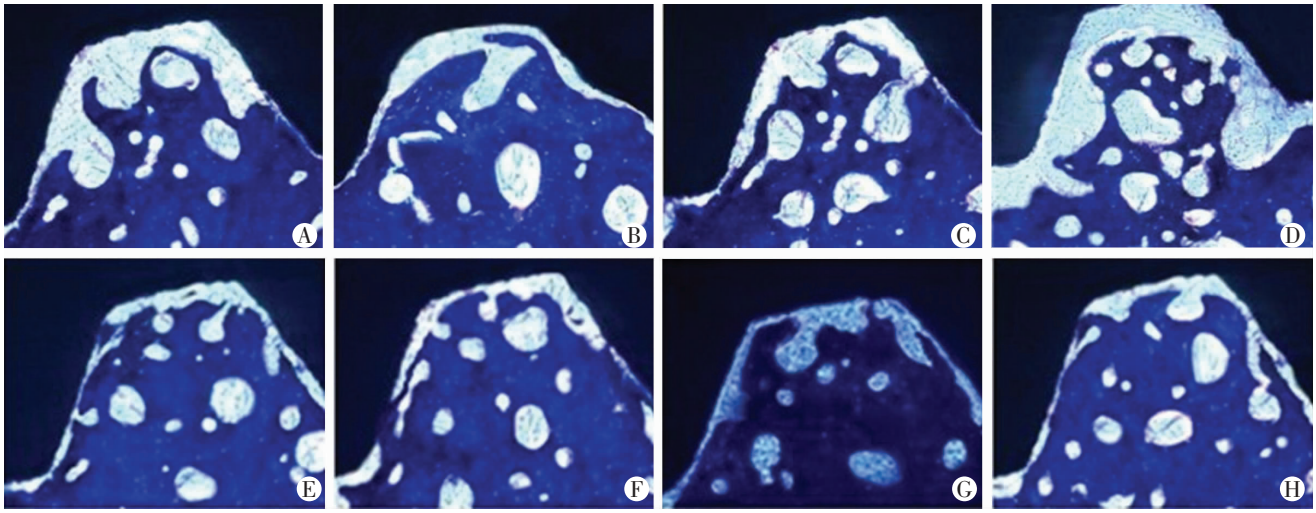
2.3 种植体骨界面的硬组织切片观察

加载组和对照组植入种植体均能与骨组织结合,组织相容性好,无排异反应。各组种植体骨界面的愈合过程呈现与时间



A~C:分别为5 N组(左)和10 N组(右)种植体加载0 d、4、8周后X线片观察;D~F:分别为15 N组(左)和对照组(右)种植体加载0 d、4、8周后X线片观察

图4 种植体加载4、8周种植体周X线片表现



蓝色:新生骨组织;黑色:种植体螺纹;淡蓝色:成骨细胞分泌的未矿化基质;A~D:分别为加载4周5、10、15 N组及对照组;E~H:分别为加载8周5、10、15 N组及对照组

图5 种植体加载4、8周后种植体骨结合界面硬组织切片Masson染色观察 (×200)

呈正相关的成骨效应。种植体和新骨之间有明显间隙,加载组种植体骨界面新生骨量较多,种植体与新生骨间隙较对照组小。其中以10 N组在种植骨界面处成骨量最多(图5A~D)。种植体和新骨之间的间隙已随新骨的生成明显减小,同时各组之间的种植体骨结合界面骨生成状况相接近(图5E~H)。加载组与对照组的新骨形成分析见表2,经重复测量单因素多水平分析结果显示,加载4周5、10、15 N组与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。8周加载各组与对照组相比及各加载组间相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表2 加载组与对照组新骨形成的定量组织学分析 (%, $n=10$, $\bar{x}\pm s$)

时间	5 N组	10 N组	15 N组	对照组
4周	60.15±0.72[a]	69.33±2.65[a]	61.27±1.83[a]	50.58±1.68
8周	90.52±1.65	91.26±1.86	90.16±2.03	91.03±1.87

a:$P<0.05$,与对照组比较

3 讨论

本实验就针对控制载荷条件下的单颗牙即刻种植后行即刻载荷的情况进行了研究。从实验的结果来看,在本实验条件下的所有单颗牙即刻种植后行即刻载荷的种植体均成功地生成了较好的种植体骨结合界面,该结果与Maniatopoulos[9]和Ko等[10]在种植体延期种植方式的早期加载结果十分相似。从本实验的结果中我们也能得出:单颗牙即刻种植后行即刻载荷不会对种植体骨整合界面的形成产生不利的影响。不难看出除了种植方式不同以外,2个研究在对载荷的控制方面十分相似,而这样精确地控制载荷条件地目的就是要在种植体骨结合界面上形成合理的"微动"。通过有限元分析Ko计算出在6.5 N的载荷条件下会在种植骨界面产生70 nm的微小应变,按照他的计算结果我们可以推论出本实验中所采用的5、10、15 N等载荷值会在种植骨界面产生50~150 nm的应变大小。这样的应变大小是在合理的微动应变的大小范围之内,因此对骨结合界面的形成产生了良好的促进作用。尽管在本实验中5、10、15 N 3组载荷值条件下的种植体骨结合垂直骨吸收量没有统计学差异,但从表1数据得出,10 N组的VBL值在3个载荷组中最小,表明在载荷过程中10 N所引起的VBL值最少;从表2可得出10 N组的新骨形成百分比在3个载荷组中最高,表明10 N在界面处新骨的形成量最多。因此提示在本实验条件下,10 N可能是即刻加载的最佳力值。

载荷条件除了载荷力值的大小外,还考虑载荷的频率、载荷的时间及载荷的方向等。在以往的研究中,种植体的加载方式多采用的是自然咬合加载,尽管在这样的加载条件下,部分研究者也得出了正面的实验结果,但是由于每种实验对象的咬合条件不尽相同,因此所有的研究者没有给出一个有可能很好指导临床的全面具体的种植体加载条件。本实验通过自行研制的种植体垂直咬合加载仪对载荷力值的大小、载荷的频率、载荷的时间及载荷的方向都进行了较为精确的定量控制。结合研究[11],人日常咀嚼活动中咀嚼频率为1~2 Hz,咀嚼时间9~17 min,本实验载荷的频率、载荷的时间分别设定为2 Hz和10 min。从实验结果来看这种和生理状态下相似的载荷频率和时间对单颗牙即刻种植后行即刻载荷的种植体骨界面的形成没有什

么负面的影响。当然在 Rubin 等[12-13]的研究中采用了 20~30 Hz 较高频率刺激骨的生长且也取得了较好的效果,因此也提示我们可以在今后的研究中可以考虑更高加载频率的使用。

通过对植入 1 个月后的种植体骨结合界面硬组织切片地观察可以发现:与不加载的对照组相比,即刻加载组的种植体在种植体表明周围有更多的新骨形成且骨组织成熟度较高,而对照组虽然也能观察到成骨现象,但其种植体周骨细胞数目较少,骨小梁结构较紊乱,并以松质骨为主,且新骨生成的量和质都较加载组差,这表明即刻加载组的骨结合程度明显要优于对照组,即刻加载使种植体周发生了活跃的骨改建活动,早期适当的机械应力刺激可以加速种植骨结合界面的生成速度和提高界面的整合质量。相关体外培养成骨细胞加载研究也证明[14-17]:成骨细胞未受力时,早期即刻基因 c-fos、c-jun 在细胞静止期内不表达;受力学刺激后初期即明显增加,其表达一般与细胞的增殖分化同时出现,因而其转录翻译蛋白可能对其他晚应答的基因转录起调控作用。Ikegame 等[18]发现:加载 6 h 后,骨形成蛋白-4(BMP-4)基因表达增加,成骨特异性转录因 cbfa1/Osf-2 也随着 BMP-4 基因表达开始表达。上述的相关细胞分子学的研究结果可能正是我们研究结果的机制所在。

综上所述,通过较为精确地控制种植体的载荷大小、载荷频率和载荷时间对于即刻载荷条件下的即刻种植体进行加载不仅可以加速骨界面生成的速度和质量而且还可以取得和延迟加载种植体一样的骨结合高度。

参考文献:

[1] Blanco J, Linares A, Perez J, *et al*. Ridge alterations following flapless immediate implant placement with or without immediate loading. Part Ⅱ: a histometric study in the Beagle dog[J]. J Clin Periodontal, 2011, 38(8): 762-770.

[2] Jayme S J, de-Oliveira R R, Muglia V A, *et al*. The effects of different loading times on the bone response around dental implants: a histomorphometric study in dogs[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 2010, 25(3): 473-481.

[3] Moon S Y, Kim S G, Lim S C, *et al*. Histologic and histomorphometric evaluation of early and immediately loaded implants in the dog mandible [J]. J Biomed Mater Res A, 2008, 86(4): 1122-1127.

[4] Ravindran D M, Sudhakar U, Ramakrishnan T, *et al*. The efficacy of flapless implant surgery on soft-tissue profile comparing immediate loading implants to delayed loading implants: A comparative clinical study [J]. J Indian Soc Periodontal, 2010, 14(4): 245-251.

[5] Tealdo T, Bevilacqua M, Menini M, *et al*. Immediate versus delayed loading of dental implants in edentulous maxillae: a 36-month prospective study[J]. Int J Prosthodont, 2011, 24(4): 294-302.

[6] Eccellente T, Piombino M, Piattelli A, *et al*. Immediate loading of dental implants in the edentulous maxilla[J]. Quintessence Int, 2011, 42(4): 281-289.

[7] Babbush C A, Kutsko G T, Brokloff J. The all-on-four immediate function treatment concept with NobelActive implants: a retrospective study[J]. J Oral Implantol, 2011, 37(4): 431-445.

[8] 赵建华,廖维宏,刘鹏,等. 消旋聚乳酸/羟基磷灰石/脱钙骨基质人工骨修复兔桡骨大段骨缺损的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(21): 1943-1946.

[9] Maniatopoulos C, Pilliar R M, Smith D C. Threaded versus porous-surfaced designs for implant stabilization in bone-endodontic implant model [J]. J Biomed Mater Res, 1986, 20(9): 1309-1333.

[10] Ko C C, Douglas W H, DeLong R, *et al*. Effects of implant healing time on crestal bone loss of a controlled-load dental implant[J]. J Dent Res, 2003, 82(8): 585-591.

[11] Botticelli D, Persson L G, Lindhe J, *et al*. Bone tissue formation adjacent to implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in dogs[J]. Clin Oral Implant Res, 2006, 17(4): 351-358.

[12] Rubin C T, McLeod K J. Promotion of bony in growth by frequency-specific, low-amplitude mechanical strain [J]. Clin Orthop Relat Res, 1994, (298): 165-174.

[13] Rubin C, Turner A S, Bain S, *et al*. Anabolism. Low mechanical signals strengthen long bones[J]. Nature, 2001, 412(6847): 603-604.

[14] Peake M A, El-Haj A J. Preliminary characterisation of mechanoresponsive regions of the c-fos promoter in bone cells[J]. FEBS Lett, 2003, 537(1/3): 117-120.

[15] Kletsas D, Basdra E K, Papavassiliou A G. Effect of protein kinase Inhibitors on the stretch-elicited c-Fos and c-Jun up-regulation in human PDL osteoblast-like cells[J]. J Cell Physiol, 2002, 190(3): 313-321.

[16] Kreja L, Lieder A, Hasin S, *et al*. Mechanical regulation of osteoclastic genes in human osteoblasts[J]. Biochem Biophys , 2008, 368(3): 582-587.

[17] Scott K K, Naris R A, Potter S S, *et al*. GeneChip microarrays facilitate identification of Protease Nexin-1 as a target gene of the Prx2(S8) homeoprotein [J]. DNA Cell Biol, 2003, 22(2): 95-105.

[18] Ikegame M, Ishibashi O, Yoshizawa T, *et al*. Tensile stress induces bone morphogenetic protein 4 in preosteoblastic and fibroblastic cells, which later differentiate into osteoblasts leading to osteogenesis in the mouse calvariae in organ culture[J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(1): 24-32.

(**收稿**:2012-01-12;**修回**:2012-03-04)

(编辑 张 维)