

采用骨内型牵张器建立垂直向牙槽骨牵张成骨动物模型

周 苗¹, 陈松龄¹, 黄代营¹, 张继斌¹, 庾晓伟²

(1. 中山大学附属第一医院口腔科, 广东 广州 510080; 2. 中山大学附属第二医院口腔科, 广东 广州 510120)

摘 要:【目的】应用自行研制的骨内型牙槽骨牵张器, 建立犬垂直向牙槽骨牵张成骨动物模型。【方法】实验动物为中山大学动物中心提供的健康成年杂种犬 12 只。实验材料为自行设计, 纯钛制成的骨内型垂直向牙槽骨牵张器, 体部直径 3.75 mm, 长 5 mm。先拔除犬双侧下颌前磨牙, 形成萎缩牙槽嵴的模型。3 月后随机选取一侧行骨切开术, 植入两枚牵张器。1 周后开始牵张, 每天 1 次, 每次 1 mm, 共 5 d; 分别在牵张后 1、2 和 3 月将动物处死进行临床检查, X 线检查和组织学检查。【结果】骨内型垂直向牙槽骨牵张器愈合良好。牙槽骨高度平均增加(4.8±0.50) mm。组织学切片显示在牵张区有骨质形成, 其骨小梁方向与牵引方向一致。【结论】采用该骨内型牙槽骨牵张器成功建立稳定的、重复性好的犬牙槽骨牵张成骨动物模型, 为牙槽骨牵张器的国产化和临床上应用该项技术打下基础。

关键词: 牵张成骨; 牙种植, 骨内/方法; 疾病模型, 动物; 犬

中图分类号: R782.2

文献标识码: A

文章编号: 1672- 3554(2006)05- 0566- 04

An Experimental Animal Model for Vertical Alveolar Distraction Osteogenesis Using Intraosseous Distractors

ZHOU Miao¹, CHEN Song-ling¹, HUANG Dai-ying¹, ZHANG Ji-bin¹, YU Xiao-wei²

(1. Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510060, China;

2. Department of Stomatology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】 To establish an experimental dog model of vertical alveolar distraction osteogenesis using intraosseous distractors which were developed by ourselves.【Methods】 Twelve adult Mongrel dogs were provided from the Experimental Animal Center of SUN Yat-sen University. The intraosseous distractors were made in pure Ti, which were 3.75 mm in diameter and 5 mm in length. The bilateral mandibular premolars were extracted from experimental dogs. After 3 months, an alveolar segmental osteotomy was carried out in the randomly selected unilateral atrophy alveolar and two intraosseous vertical alveolar distractors were placed. After a 7- days latency period, the alveolar bone was augmented at 1.0 mm/d for five days. After a consolidation of 1, 2, and 3 months, the dogs were sacrificed for clinical, radiographic and histological examination.【Results】The intraosseous vertical alveolar distractors obtained good healing. The atrophy alveolar were augmented for 4.8±0.50 mm. Serial histological sections showed that bone had formed in the distraction zone, where bone trabeculae formed parallel to the tension vector.【Conclusion】 A stable and duplicable experimental dog model on study of vertical alveolar distraction osteogenesis have established successfully by the intraosseous distractors, which provides a good foundation for domestic production of alveolar distractor and clinical practice of the technique.

Key words: distraction osteogenesis; dental implantation, endosseous/methods; disease model, animal; dogs

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2006, 27(5):566- 569]

为了避免临床上牙槽骨骨量不足导致的牙种植失败, 牙种植医师常需要选择合适的方法进行

收稿日期: 2006-04-19

基金项目: 广东省科技计划重点资助项目(2004B33101010)

作者简介: 周 苗(1977-), 男, 湖北洪湖人, 现在北京大学口腔医学院攻读博士学位; 陈松龄, 教授, 博士生导师, 课题负责人, 通讯作者. E-mail: chensongling@hotmail.com

牙槽骨增量。常用的牙槽骨增量技术主要有自体骨移植 (autografts)、异体骨移植 (homografts)、人工合成骨移植 (alloplasts)、骨引导再生 (guide bone regeneration, GBR) 等^[1,2]。但令人遗憾的是这些方法并不能解决所有临床上的难题,特别是牙槽骨高度需增高达 10 mm 以上的疑难病例。应用牙槽骨牵张成骨 (alveolar distraction osteogenesis, ADO) 进行牙槽骨增量由于具有成骨量大 (可增骨达 10 mm 以上)、不需要骨移植、无需开辟供骨区等优点,是一种很有前途的牙槽骨骨增量方法,现已成为牙种植领域的研究热点^[3]。牙槽骨牵张器是一种专门用于牙槽骨牵张成骨促进骨再生的器材,主要用于种植前牙槽骨的重建等。牙槽骨牵张器按照其与牙槽骨的位置关系可分为骨外型 (extraosseous) 和骨内型 (intraosseous) 两种。由于国外的骨内型牙槽骨牵张器价格昂贵,影响了该项技术在中国的推广应用。根据 ADO 技术的基本原理,作者研制了一种新型骨内型垂直向牙槽骨牵张器,并在初步的动物实验研究中取得了良好的效果^[4]。本实验以犬作为实验对象,采用自行研制的骨内型牙槽骨牵张器,建立垂直向牙槽骨牵张成骨的动物模型,观察其骨钙化过程,为进一步的研究和临床上开展这项技术打下基础。

1 材料与方 法

1.1 实验动物以及牙槽骨牵张器

中山大学动物中心提供的健康成年犬 12 只,成年犬的标志是第三磨牙完全萌出,雌雄不拘,体质量 12~20 kg,平均体质量 15 kg。实验犬无系统性疾病,口腔内无感染性病灶,进食正常,活泼好动。动物购回后先圈养 3~14 d,使其适应周围环境以及半流质饮食。

自行研制的骨内型垂直向牙槽骨牵张器 (图 1A)。配套用的牵张器输送圈、底座取出杆、微型骨锯、球钻、裂钻、直径分别为 3.0 mm 和 3.75 mm 的种植钻头、直径为 3.75 mm 的自攻钻、微型骨凿。

1.2 垂直向牙槽骨牵张成骨动物模型

1.2.1 形成萎缩的牙槽嵴 腹腔注射戊巴比妥钠 (30 mg/kg),常规消毒铺巾。拔除双侧下颌前磨牙,沿牙槽嵴顶切开黏膜,翻瓣后暴露牙槽骨骨突,将牙槽嵴顶进行修整后缝合伤口。拔除对颌牙,拔牙创内填塞明胶海绵止血。术后 1 周给予流

质饮食,1 周后拆除缝线。3 月后随机选择一侧进行牙槽骨牵张器的植入。

1.2.2 牙槽骨牵张器的植入 麻醉方法基本同上。充分暴露术区,常规消毒铺巾,检查萎缩牙槽嵴的愈合情况。采用牙槽嵴顶式的切口,沿犬下颌尖牙和第一磨牙的牙槽嵴顶切开,并各向两端延长一个牙位,向颊侧延伸 1 cm 左右,完整分离骨膜,并注意小心保护。检查牙槽嵴的宽度和厚度,以能进行牙种植手术为准。先设计移动骨块,用消毒铅笔画出长 3 cm,高 0.5 mm 的矩形锯骨线,两侧垂直截骨线稍向外倾。用金刚砂片形成水平锯骨线,同时用手指接触牙槽骨舌侧的黏骨膜,防止手术中损伤 (图 1B);锯骨后用小骨凿在水平截骨线处彻底分离移动骨块和基骨。随后,用小裂钻进行垂直截骨,将颊侧完全分离而舌侧的骨质保留。然后可以进行牵张器的植入,基本的手术程序同牙种植术。先用小裂钻定位,然后用球钻将种植窝扩大,分别用直径为 2 mm、3 mm、3.75 mm 的种植钻将窝洞扩大;再用自攻钻手动制备洞壁的螺纹,植入牵张器和底座。植入后进行试牵张,旋入螺纹杆,将移动骨块升高 3 mm,观察提升过程中移动骨块与基骨之间有无干扰。在锯骨和牵张器备洞时,同时喷水以保护牙槽骨,避免骨灼伤。将移动骨块复位后,保留骨间隙 1 mm,最后分骨膜层和黏膜层进行缝合。术后 3 d 每天肌注头孢拉定 2 g,并用 H₂O₂ 和生理盐水清洁术区。

1.2.3 牵张过程 牵张器植入后的间隙期为 7 d,其间喂以流质饮食。第 7 天开始牵张 (图 1C),牵张前肌肉注射氯胺酮诱导麻醉 (10 mg/kg) 进行快速的诱导麻醉。牵张参数是每天 1 次,每次 1 mm,连续 5 d。牵张前用 H₂O₂ 和生理盐水对牵张部位和牵张杆进行仔细的清洗。动物分别在 1、2 和 3 月处死。

1.3 观察指标

1.3.1 临床观察 肉眼观察牵张后的犬的下颌牙槽骨标本,观察牵张器与周围组织的愈合情况。

1.3.2 放射学检查 在牵张 5 d 结束后即将犬用戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 全麻进行 X 线检查。在固定期的 1、2 和 3 月时,将犬处死后取带牵张器的标本进行放射学检查。

1.3.3 组织学检查 分别将在固定期的 1、2 和 3 月处死动物后获得的带牵张器的标本用甲醛固定,硝酸脱钙 2~3 d,以组织刀能切开为准。取出牵

张器,脱水,石蜡包埋,制成 4 μm 厚组织切片。进行三色染色,光镜观察。

2 结果

2.1 临床观察

全部的犬都可以耐受整个手术过程,犬在手术

后的第 2 天都可以进食。在牵张期,犬进食良好。牵张后,可以明显感到移动骨块明显增高。随着牵张次数的增多,牵张间隙逐渐增大。牵张结束后,软组织未见变化。在牵张前和牵张后的 1、2 和 3 月,牙槽黏膜和牙龈颜色未见明显变化。牵张器与周围组织愈合良好,牙龈紧密围绕牵张器(图 2A)。

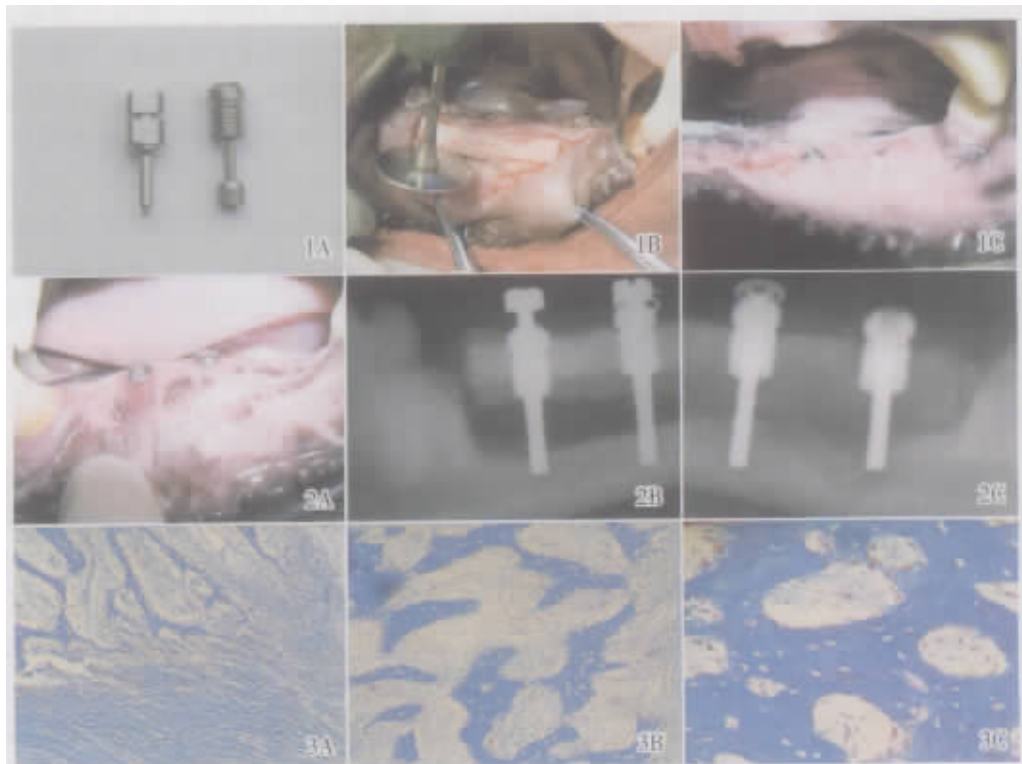


图 1 骨内型牙槽骨牵张器及植入过程

图 2 牵张后外观及 X 线图

图 3 固定期后组织学观察

Fig.1 Intraosseous alveolar distractor and its implantation

A: the distractor; B: horizontal osteotomy; C: 1 week after implantation.

Fig.2 Appearance and X-ray after distraction.

A: Appearance after distraction 3 months; B: radiograph of the completion of distraction for 5 days; C: radiograph 2 months later

Fig.3 Histological graph of the distraction zone after consolidation

A: 1 month, the direction of the new-born trabeculae and fibers was conformed to the distraction vector; B: 2 months, showed the presence of the woven bone in the distraction zone, which became more thick, dense and regular than 1 month; C: 3 months, the distraction zone was mainly occupied by lamellar bone and woven bone; Masson $\times 40$

2.2 放射学检查

根据牵张结束后的拍摄的 X 线可以明显看到,移动骨块和基骨之间有明显的透射影。牵张后牙槽嵴的高度平均增高(4.8 \pm 0.50) mm,移动骨块的两端有明显的骨突(图 2B)。牵张后 1 月,牵张区仍然明显,移动骨块两端的骨突变钝。牵张后 2

月,整个牵张区的阻射较 1 月明显上升,移动骨块两端的骨突与周围骨呈平滑曲线连接(图 2C)。3 月时,牵张区的阻射较 2 月又有提高。牵张区与周围正常骨的阻射程度没有明显差别。

2.3 组织学检查

1 月组发现在牵张区主要由三个区组成(图

3A)。两端的宿主骨(基骨和移动骨块)之间是由疏松的网状骨小梁组成,中间为纤维组织区。纤维结构区可见纤维组织排列与牵张方向一致,其间可见大量的毛细血管,新生血管的方向与牵张方向一致。2月组牵张区大部分由网状的骨小梁组成,形成骨桥(bone bridge)。骨小梁结构进一步变粗、变密和规则(图3B)。3月组观察到牵张区主要由板状骨和编织骨组成,牵张骨内有规则的哈佛氏管形成。骨组织内的营养管的方向与牵张的方向一致。板状骨中可以观察到破骨细胞,提示存在着骨的改建(图3C)。

3 讨 论

3.1 实验动物的选择

由于实验动物的种类和年龄等对骨缺损修复的能力和速度有很大的影响,所以选择合适的动物模型对实验结果非常重要。最早的牵张成骨和牙槽骨牵张成骨动物实验研究都成功地采用犬建立动物模型^[5,6]。有学者报道同时采用小型猪和犬建立 ADO 的动物模型,结果犬取得成功而小型猪获得失败^[7]。从本实验以及其他学者的实验结果来看,无论是采用骨内还是骨外牙槽骨牵张器材,犬都可以建立成功的 ADO 动物模型。

犬下颌的局部解剖适合作为 ADO 的动物模型。犬下颌尖牙和第一前磨牙之间有一间隙,其第一磨牙又比较宽大^[8]。在尖牙和第一磨牙间可以创造一个 3 cm 以上的萎缩牙槽骨区域;犬的下颌骨上下径在 2.5~3 cm 左右,拔除前磨牙后,牙槽嵴有一定的萎缩,其高度可以维持在 2.5 cm,足以形成一个 3 cm 长、0.5 cm 高的移动骨块,基骨具有一定的高度和厚度,可以支撑移动骨块向上移动。

3.2 技术要点

微创是牙槽骨牵张成骨成功的重要保证。在实验过程中,要注意保护局部的软组织。无论是手术后伤口的感染还是牵张后局部黏膜的裂开,都容易造成实验的失败^[9]。在实验过程中,我们注意保护局部的组织,防止了这些并发症的产生。

犬的下颌骨很厚,在形成萎缩牙槽骨后能保留基骨一定的厚度以容纳牵张器,还可避免基骨的骨折。在进行锯骨和牵张器的植入时,要注意降温,防止骨灼伤。移动骨块设计成倒梯形,防止倒凹形成,这样牵张时才能顺利提升骨段。

3.3 ADO 的成骨特点

牵张成骨的愈合过程和骨折的愈合过程有根本的差异。骨折的愈合可以分为血肿形成、血肿机化、骨盐沉积、骨痂形成及改建等。现在的研究表明 DO 是在一个恒定的拉力的作用下的多个阶段的统一体,即在骨痂的钙化过程中,骨钙化及改建的多个阶段同时存在。在骨折愈合的过程中,骨小梁的方向和纤维的方向是杂乱无章的^[10]。而 DO 的一个重要特点是牵张区的纤维和骨小梁的方向和牵张方向一致^[5],本实验的结果也验证这一点。这说明本动物模型是成功的。其新生骨与牵张的方向一致,垂直于犬下颌骨骨小梁的方向。

综上所述,此模型符合犬的解剖特点、易操作、重复性好,是一种较为理想的牙槽骨牵张成骨动物模型。

参考文献:

- [1] 陈松龄,王文章.羟基磷灰石/脱矿骨复合物增高牙槽嵴的实验研究[J].中山医科大学学报,2000,21(4):280-283.
- [2] 陈松龄,陈宇,匡代军,等.超薄钛膜用于牙种植引导骨再生的临床研究[J].中山大学学报:医学科学版,2004,25(2):161-164.
- [3] SAMCHUKOV M L,COPE J B,CHERKOSHIN A M. Craniofacial distraction osteogenesis [M]. St. Louis: Mosby Inc, 2004: 379-454.
- [4] 黄代营,陈松龄,周苗,等.骨内型垂直向牙槽骨牵张器的研制[J].中山大学学报:医学科学版,2006,27(4S):14-16.
- [5] ILIZAROV G A. The principle of the Ilizarov method[J]. Bull Hosp J Dis Orthod Inst, 1988. 48(1):1-11.
- [6] BLOCK M S, CHANG A, CRAWFORD C. Mandibular alveolar ridge augmentation in the dog using distraction osteogenesis [J]. J Oral Maxillofac Surg, 1996, 54(3): 309-314.
- [7] MARTINEZ - GONZALEZ J M,CANO - SANCHEZ J, CAMPO- TRAPERO J, et al. Evaluation of minipigs as an animal model for alveolar distraction [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005, 99(1): 11-16.
- [8] 卢耀增.实验动物学[M].北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1995:14-15.
- [9] GARCIA A G, MARTIN M S,VILA P G. Minor complications arising in alveolar distraction osteogenesis [J].J Oral Maxillofac Surg, 2002, 60(5):496-501.
- [10] 邱贵兴,容国威.骨科学[M].北京:中国协和医科大学出版社,2002:13-30.

(编辑 刘清海)