

冲顶式上颌窦底提升植骨同期牙种植的实验研究

黄代营, 陈松龄, 周苗, 姚惠

(中山大学附属第一医院口腔科, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨用 Summer's 骨凿冲顶提升上颌窦底后窦底骨质和黏骨膜改变情况以及种植体与周围组织结合生物学变化,为临床应用该项技术提供进一步可靠的实验依据。【方法】16只狗随机分为提升高度不同(2 mm、4 mm)2组,每只狗植入种植体4枚,一侧植骨,一侧不植骨,在不同时间(3、6、12、24周)取材。标本经大体观察,放射检查,组织学检查,四环素荧光检查,抗 BMP-2 免疫组化检测。【结果】移植骨愈合良好,种植体形成骨结合,提升4 mm 不植骨种植体顶端无骨形成。【结论】上颌窦提升2 mm 种植体顶端有骨存在,提升4 mm 时,植入种植体顶端多数情况下无骨存在。

关键词:上颌窦底提升;骨种植;狗

中图分类号:R78

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2005)02-0168-04

Experimental Study on Maxillary Sinus Elevation with Simultaneous Implantation with Osteotome

HUANG Dai-ying, CHEN Song-ling, ZHOU Miao, YAO Hui

(Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract:【Objective】By ways of examining the alternation of the bone together with its membrane in the sinus floor, the biological change of the integration among the implants and circumferential tissue in dogs underwent maxillary sinus elevation with Summer's osteotome, to provide further reliable experimental evidences to such technique in clinical application. 【Methods】We randomly divided 16 dogs into two groups according to various elevating height (2, 4 mm). Each dog had 4 implants inserted, unilaterally bone grafted. Samples were taken postoperatively at the time of 3, 6, 12, and 24 weeks, respectively, evaluated and analyzed by general observation, radiographic observation, histological examination, tetracycline staining test, and immunohistochemical test on BMP-2. 【Results】Grafted bones recovered in good condition; the integration between the implants and bone was firm. No bone formed on the top of implants with 4 mm elevation without bone graft. 【Conclusions】Bone exists on the top of the implants where maxillary sinus was elevated by 2 mm whereas there is little bone existing on the top of the implants in major cases when maxillary sinus was elevated by 4 mm.

Key words: maxillary sinus elevation; bone implant; dogs

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci),2005,26(2):168-171]

临床在作上颌后部种植时,由于生理、病理性原因,术前测量常显示有颌骨高度不足,需行上颌窦底提升术。冲顶式上颌窦底提升术操作简单,损伤小,一经提出,即受到广泛的关注并在临床逐步应用,但仍存在许多需要进一步加深认识的临床和理论问题^[1]。如能否保证上颌窦底黏骨膜的完

整,能否保证一定形成移位的块状骨质,冲顶上升的高度对形成移位骨块的影响。本实验目的是通过动物实验,应用 Summer's 骨凿冲顶提升上颌窦底并行牙种植,提升高度2 mm及4 mm,观察在植骨及不植骨条件下窦底骨质和黏骨膜改变情况以及种植体植入后与周围组织结合等生物学变

收稿日期:2004-03-25

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(2002B11702)

作者简介:黄代营(1966-),男,湖北宜昌人,硕士,主治医师;陈松龄,主任医师,课题负责人,通讯作者。E-mail: chensongling@hotmail.com

com

化,为临床应用提供进一步实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及材料

中山大学动物中心提供的健康成年杂种狗 16 只,雌雄不拘,体质量 12~20 kg,平均 15 kg,按提升高度不同(2 mm、4 mm)随机分为 2 组,每组 8 只。长 10 mm、直径 4 mm 光滑圆柱状纯钛种植体 64 个。

1.2 方法

戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉。沿上颌第一、第二磨牙作梯形切口,翻开黏骨膜瓣。拔除双侧第一、第二磨牙,修整牙槽嵴顶,将修整余留之骨粒剪碎、碾磨备用。用骨扩张器备洞,然后用锤敲击 Summer's 骨凿行上颌窦底提升,即冲顶式上颌窦底提升。Summer's 骨凿顶端成凹形从 1 到 6 号逐渐增粗,本实验使用的是从 2 号依次扩到 4 号。一侧提升 2 mm、植骨,另一侧提升 2 mm、不植骨。同一观察时间段的另 2 只狗,一侧提升 4 mm、植骨,另一侧提升 4 mm、不植骨,每侧植入种植体 2 枚。分别于 3 周、6 周、12 周、24 周处死动物 4 只。标本经大体观察、放射检查、组织学检查、四环素荧光检查、抗 BMP-2 免疫组化检测。

1.3 观察指标

1.3.1 大体观察及放射检查 取出狗的上颌骨,用骨锯、剪将上颌骨分为左右两个标本,观察种植体、植入骨及周围组织反应情况并行放射检查

1.3.2 组织学检查 甲醛固定带种植体骨组织标本,硝酸脱钙 2~3 d,取出种植体,脱水,石蜡包埋,制成 4 μ m 厚组织切片,HE 染色,光镜观察。

1.3.3 四环素荧光检查 在动物处死前 7~10 d 静脉推注 30 g/L 四环素氯化钠溶液 (30 mg/kg),将甲醛固定的带种植体标本进行梯度酒精脱水、浸环氧树脂 24~48 h、包埋,使组织块硬固。分切成 2~3 mm 厚的薄片,制作骨组织磨片^[2],荧光显微镜观察。

1.3.4 抗 BMP-2 免疫组化检测 采用 SP 法。石蜡切片脱蜡、水化、PBS 漂洗,柠檬酸抗原修复,滴加 30 g/L 过氧化氢,孵育 10 min,漂洗。滴加非免疫性动物(羊)血清,孵育 10 min,封闭吸附位点,加一滴一抗(BMP-2),过夜。PBS 漂洗,滴加二抗

(羊抗兔)37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, PBS 漂洗。滴加链霉素抗生物素蛋白-过氧化氢酶溶液 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min, PBS 漂洗。滴加新配制的 DAB 溶液,显微镜观察显色,苏木素复染,中性树脂封胶。

1.4 统计学处理

数据分析采用 SPSS 9.0 统计软件,进行 Fisher' exact test,取 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大体与组织学观察

所有动物术后伤口愈合良好,黏膜完整,移植骨与周围组织结合良好,种植体与周围骨结合牢固。X 线检查:提升 2 mm 时,不植骨情况下植入 16 个种植体有 15 个顶端有骨形成,1 个没骨形成。植骨情况下植入的 16 个种植体顶端都有骨形成;提升 4 mm 时,不植骨情况下植入 16 个种植体有 1 个顶端有骨形成,植骨情况下植入的 16 个种植体顶端都有骨形成(表 1)。

2.2 组织学检查

除提升 4 mm 不植骨情况下种植体顶端无成骨外,其它情况均见成骨过程,大量成骨细胞、破骨细胞、成骨细胞分泌的骨基质,增粗骨小梁相互连接、新生毛细血管,晚期可见层状骨含哈佛氏系统。根据不同时期骨标本大体观察、X 线检查及组织切片检查,均证实种植体顶端有骨形成进行。

表 1 提升 2 mm 及 4 mm 植骨与不植骨种植体顶端骨形成情况

Table 1 The statistic results of bone formed on the top of the implants which with bone formation or no bone formation (the elevating heights are 2 and 4 mm)

Group	Bone formation	No bone formation	
Elevated 2 mm	Bone formation ¹⁾	16	0
	No bone formation	15	1
Elevated 4 mm	Bone grafting ²⁾	16	0
	No bone grafting	1	15

1)Elevated 2 mm, compared with no bone formation group, $P=1.000$; 2) Elevated 4 mm, compared with no bone formation group, $P=0.000$

2.3 四环素荧光检查

12 周、24 周种植体顶端移植骨组织磨片显示成熟的骨结构,哈佛氏管周围新骨组织染成黄色(图 1)。

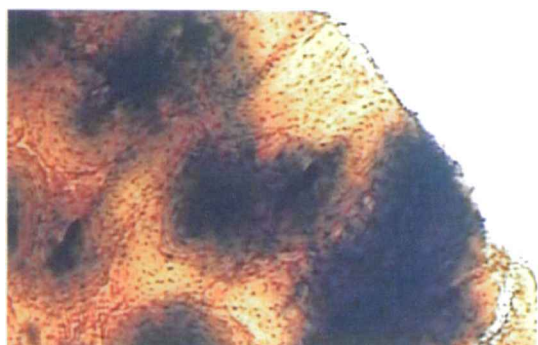


图 1 种植体顶端骨组织磨片图

Fig.1 Ground slice bone on the top of implant
Showing stained mature lamellar bone (12 weeks, $\times 100$)

2.4 免疫组化检测

3 周, 种植体顶端界面及新骨中成骨细胞胞浆呈棕黄色阳性表达, 6 周、12 周、24 周表达逐渐减弱, 染色变浅(图 2)。

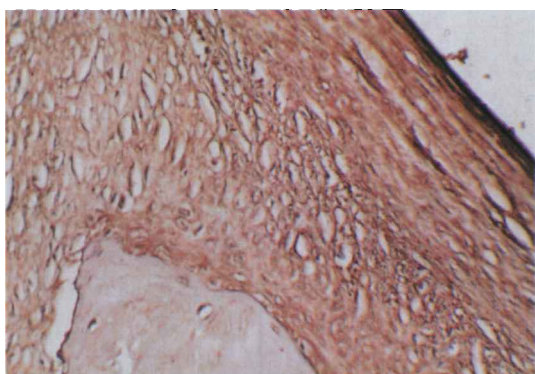


图 2 种植体顶端骨组织免疫组化图

Fig.2 Immunohistochemical observation on BMP
Showing that the intensive positive expression in interface and new formed bone (3 weeks, $\times 100$)

3 讨论

3.1 关于提升高度

临床医师在行冲顶式上颌窦提升同期牙种植的过程中, 常常会遇到及感到困惑的问题是: 提升高度多少则需要植骨才能保证种植体成功。本实验设计的两个提升高度 2 mm 及 4 mm 是根据临床实践常遇到的情况而定。多数学者一致认为^[3-6]: 上颌窦底提升同期牙种植时, 上颌窦底剩余牙槽嵴高度至少是 5 mm, 当余留牙槽嵴高度少于 5 mm 时, 需延期种植, 以便于取得种植体的初期稳定。具体地说, 牙槽嵴的高度为 5 mm 时, 植入一个长度为 8 mm 的种植体时, 提升高度则需要 3

mm。骨在受力的情况下, 有一定的延伸性, 正是基于此一点, 才能用骨凿行冲顶式上颌窦底的提升。但是上颌窦底骨质冲顶提升的延伸性是有限的。在冲顶提升时能否如期地提升一定高度的骨质, 保证种植体顶端有骨质支持, 目前未见到动物实验的解释。本实验中, 当上颌窦底提升 2 mm 时: 不植骨情况下共植入 16 个种植体, 有 15 个种植体顶端有骨质形成, 1 个种植体顶端没有骨质形成; 植骨情况下共植入了 16 个种植体, 均有骨质形成, 差异没有显著性($P > 0.05$); 当上颌窦底提升 4 mm: 不植骨情况下共植入 16 个种植体, 只有 1 个种植体顶端有骨质形成, 15 个种植体顶端没有骨质形成; 植骨情况下共植入了 16 个种植体, 顶端皆有骨质形成, 差异有显著性($P < 0.01$); 所以, 当上颌窦底提升 2 mm 时, 植骨或者不植骨种植体顶端均存在移位的骨组织且大都能与基骨结合; 当上颌窦底提升 4 mm 时, 绝大部份种植体顶端没有骨组织只有黏膜组织, 故需要在植入种植体时同期植骨。

3.2 关于植骨材料的选择

虽然目前用于上颌窦底提升的材料有多种, 但最理想的材料仍然是自体骨。可用于上颌窦底提升的材料有: 自体骨移植、自体骨与其它材料混合移植、异体骨、异种骨、HA(羟基磷灰石)、BMP(骨形成蛋白)及生物膜。临床上最常见自体骨移植是颌面骨移植, 包括下颌升支前缘、外侧缘、下颌正中联合、上颌结节, 从这些部位取骨入路容易、取材快、骨量充足^[7,8]。髂骨移植很少用于上颌窦底提升, 原因是需另开辟手术区、损伤大, 还可伴有诸多并发症, 如感染、血肿、疼痛、功能障碍^[9,10], 与临床常用自体骨移植一样, 本实验采用自体骨移植取得了满意的效果。

3.3 新骨生成及 BMP 的检测

众多实验已证明 BMP 具有促进成骨细胞分化和强诱导成骨能力^[11]。目前 BMP 在骨折、骨缺损修复中的病理生理作用研究日渐增多。BMP 在骨损伤的修复过程中起重要作用, 其呈阶段性分泌^[12], 使未分化的间充质细胞向骨系细胞分化, 从而诱导新骨生成, 诱导周围软组织以软骨内成骨方式向软骨及骨组织分化。有研究表明, 设法提高 BMP 在骨缺损区浓度, 并使其均匀分布, 使得自骨端向缺损区生长的具有成骨潜能的间质细胞始终受到有效量 BMP 的作用, 将是促进骨修复的有

效途径。本实验利用免疫组化检测 BMP 的表达。冲顶提升上颌窦底在种植体顶端有移位骨存在时,3 周时种植体顶端界面及新骨中成骨细胞胞浆呈棕黄色强阳性表达,6 周、12 周及 24 周的表达逐渐减弱。检测结果表明,在新骨生成早期,BMP 分泌浓度高骨诱导作用强。晚期,BMP 分泌减少,作用减弱。植入移植骨的 BMP 表达过程也呈 3 周强表达,6、12、24 周逐步减弱,说明骨创伤分泌的 BMP 和移植骨本身含有的 BMP 的成骨作用。

3.4 四环素荧光检查

四环素类药物具有与钙或其它金属离子相结合从而形成复合物的能力,这种能力使四环素沉积于矿化中的骨组织中^[13]。非脱钙切片或磨片上,经一定波长的紫外光发出金黄色荧光,显示新骨的形成部位。四环素荧光检查方法简便,已广泛地应用于骨生长代谢,新骨形成定位和速率测定研究中。本实验 12 周、24 周的骨组织磨片显示种植体顶端移植骨已改建成熟,哈佛氏管周围黄色四环素荧光染色。从另外一个角度检测到了种植体顶端有新骨生成,通过改建形成成熟骨组织。

本研究提示:①用 Summer's 骨凿经牙槽骨冲顶提升上颌窦底,能保持窦底的完整性。②骨凿提升上颌窦 2 mm 时,一般能保持种植体植入后,种植体顶部有提升的骨质存在,且与基骨完整结合。③骨凿提升上颌窦底 4 mm 高度时,植入种植体顶部多数情况下不见骨质存在,只见窦底黏膜覆盖。④上颌窦底提升高度较高时,以同期植骨为宜,自体骨是上颌窦底提升增高牙槽骨的理想骨移植材料。

3.5 关于“冲顶式”这一名称

国内文献有用“闭合式”、“内提升”、“冲顶式”来表达“osteotome technique”,根据我国著名口腔种植专家刘宝林在最近的学术会议的建议使用“冲顶式”这一词,所以本文用“冲顶式”来表达“osteotome technique”之意。此种术式从牙槽骨进路,手术损伤小、简单、植骨量明显减少、可改善牙槽骨种植洞壁的密度和质量,缺点也就是本文引言中所提出的问题。

参考文献:

[1] Van den Bergh JP, Ten Bruggenkate CM, Krekeler G, et al. Sinus floor elevation and grafting with autogenous iliac crest bone[J]. Clin Oral Implants Res, 1998, 9(6): 429-35.

- [2] 董宝财,秦霞南,丁仲鹏. 带金属种植体的牙周组织制片技术[J]. 中国口腔种植学杂志, 2001, 6(3): 133, 147.
- [3] Kent JN, Block MS. Simultaneous maxillary sinus floor bone grafting and placement of hydroxylapatite-coated implants[J]. J Oral Maxillofac Surg, 1989, 47(3):238-42.
- [4] Jensen J, Sindet-Pedersen S, Oliver AJ. Varying treatment strategies for reconstruction of maxillary atrophy with implants: results in 98 patients[J]. J Oral Maxillofac Surg, 1994, 52(3):210-6.
- [5] Moy PK, Lundgren S, Homlmes RE. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation [J]. J Oral Maxillofac Surg, 1993, 51(8):857-62.
- [6] Lundgren S, Moy P, Johansson C, et al. Augmentation of maxillary sinus floor with particulated mandible. A histologic and histomorphometric study [J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1996, 11(6):760-6.
- [7] Khoury F. Augmentation of the sinus floor with mandibularbone block and simultaneous implantation: a 6-year clinical investigation [J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1999, 14(4): 557-64 .
- [8] Raghoobar GM, Vissink A, Reintsema H, et al. Bone grafting of the floor of the maxillary sinus for the placement of endosseous implants [J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 1997, 35(2): 119-25.
- [9] Lundgren S, Nystrom E, Nilson H, et al. Bone grafting to the maxillary sinuses, nasal floor and anterior maxilla in the atrophic edentulous maxilla. A two-stage technique[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 1997, 26(6): 428-34.
- [10] Blomqvist JE, Alberius P, Isaksson S. Two-stage maxillary sinus reconstruction with endosseous implants: a prospectivestudy [J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1998, 13(6): 758-66.
- [11] 马 秦, 毛天球, 刘宝林, 等. 生物珊瑚、胶原和 rhBMP-2 合成人工骨修复兔下颌骨缺损的实验研究 [J]. 实用口腔医学杂志, 1998, 14(1): 24-6.
- [12] Chen D, Harris MA, Rossini G, et al. Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) enhances BMP-3, BMP-4, and bone cell differentiation marker gene expression during the induction of mineralized bone matrix formation in cultures of fetal rat calvarial osteoblasts[J]. Calcif Tissue Int, 1997, 60(3):283-90.
- [13] Gerhart TN, Kirker-Head CA, Kriz MJ, et al. Healing segmental femoral defects in sheep using rhBMP [J]. Clin Orthop, 1993, (293):317-26.

(编辑 刘清海)