

冲顶式上颌窦提升植骨牙种植动物模型的建立

陈松龄¹, 黄代营¹, 周 苗¹, 庾晓伟², 张继斌¹

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

摘 要: 【目的】建立冲顶式上颌窦提升植骨牙种植的动物模型, 以供上颌窦提升植骨牙种植的深入研究。
【方法】拔除 16 只狗双侧上颌第一、第二磨牙, 行冲顶式上颌窦提升, 提升高度为 2 mm、4 mm, 一侧植骨, 一侧不植骨, 分别于术后 3 周、6 周、12 周、24 周处死动物各 4 只, 标本都经大体观察、放射检查及组织学检查。【结果】移植骨愈合良好, 种植体牢固, 窦底黏膜完整。上颌窦提升 2 mm 时, 种植体顶端可见骨质存在, 提升 4 mm 时, 只见窦黏膜, 不见新骨。上颌窦提升同期植骨并植入种植体, 可见种植体顶端有新骨形成, 覆盖种植体。【结论】狗有理想的上颌窦提升解剖条件, 窦底提升术时可将窦底黏膜提升并保持完整, 移植骨能形成新骨与牙种植体形成骨性结合, 可作为研究上颌窦提升植骨同期牙种植动物模型。

关键词: 上颌窦底提升; 牙种植, 骨内/方法; 疾病模型, 动物; 狗

中图分类号: R782.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)06-0549-05

An Experimental Model for Maxillary Sinus Elevation and Bone Grafting with Simultaneous Implant Placement with Osteotome Technique

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

(1. Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital, 2. Department of Stomatology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To establish an animal model for maxillary sinus elevation and bone grafting with simultaneous implantation with osteotome. 【Methods】The first and second molars of 16 dog's maxilla were extracted and sinus floor were elevated. The heights of elevation were 2 mm and 4 mm. One side was grafted with autogenous bone and the other side was not grafted. After 3, 6, 12, and 24 weeks, 4 dogs were sacrificed at the same time. The samples were evaluated by general observation, radiographic observation, and histology examination. 【Results】Grafted bone integrated with "base bone", the implants got stable, and the sinus membrane remained intact. When sinus elevation achieved 2 mm height, the bone was formed on the top of the implants. When sinus elevation achieved 4 mm height, no bone was formed on the top of implant. All grafted bone formed new bone and osteogenesis of autografted bone was observed at the top of implants. 【Conclusion】Dog has ideal anatomic conditions for maxillary sinus elevation. Membrane remains intact after elevation and grafted bone is integrated with implants. Dog can be used as animal model for maxillary sinus elevation with simultaneous bone graft and implant placement.

Key words: maxillary sinus elevation; dental implantation, endosseous/methods; disease model, animal; dogs

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2004, 25 (6): 549 - 553]

在上颌后部种植手术时, 常遇到棘手的问题 是上颌窦底骨质高度不足, 解决问题有效方法是

收稿日期 2004-07-15

基金项目 广东省科技厅科研基金资助项目 (2002B11702)

作者简介 陈松龄 (1963 -) 男, 海南儋州人, 博士, 主任医师, 博士生导师。

行上颌窦提升及植骨。近年来国内外关于这方面的研究主要来源于临床研究,有病例分析、经验总结^[1-3]。动物实验研究报道较少^[4,5],冲顶式上颌窦底提升的动物实验未见报道。本实验研究采用狗建立上颌窦提升植骨牙种植的动物模型,以进一步观察不同条件下种植体植入后的愈合情况。

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,平均体质量 15 kg。按实验设计骨组织取材时间不同:3 周、6 周、12 周、24 周随机分为 A、B、C、D 4 组,每组 4 只。长 10 mm、直径 4 mm 光滑圆柱状纯钛种植体 64 个。

1.2 手术方法

用戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉。沿上颌第一、第二磨牙近、远中垂直切开翻开黏骨膜瓣。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^[6]。用骨扩张器备洞(达牙槽骨的 4/5 高度)^[7],然后用 Summer's 骨凿行上颌窦提升(图 1),一侧提升 2 mm、植骨,另一侧提升 2 mm、不植骨(用牙周探针测量提升高度)。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。不植骨情况下,上颌窦底冲顶提升后,直接植入种植体;植骨的过程是:上颌窦底冲顶提升后,用 Summer's 骨凿将骨粒送至预备好的植牙洞顶部,种植体植入,分别于 3 周、6 周、12 周、24 周处死动物 4 只。

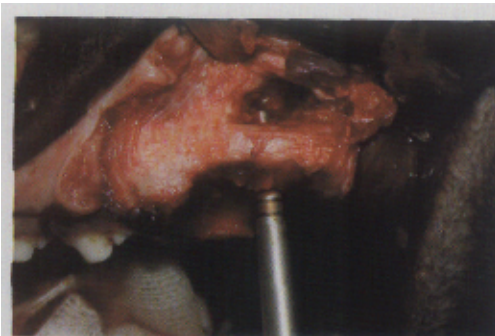


图 1 用 Summer's 骨凿行狗的上颌窦提升

Fig. 1 Elevating of dog's maxillary sinus floor using Summer's osteotome

1.3 观察方法

1.3.1 大体观察 伤口及周围软组织情况,切开

标本后观察植入骨及周围组织情况,种植体的牢固度。以游标卡尺测量人头颅骨(16 个,中山大学解剖学教研室提供)上颌窦黏膜厚度和实验狗上颌窦黏膜厚度。

1.3.2 放射检查 采用牙科 X 线机,拍摄不同时期带种植体颌骨标本。拍摄条件:40 kV、100 mA、曝光时间 0.05 s,拍摄距离约 5 cm。

1.3.3 组织学检查 将带种植体骨组织标本甲醛固定,硝酸脱钙 2~3 d,以组织刀能切开为准。取出种植体,脱水,石蜡包埋,制成 4 μm 厚组织切片。HE 染色,光镜观察。

2 结果

2.1 大体观察

除术后前几天动物精神较差,进食少以外,在实验过程中,实验狗精神基本保持良好,表现动物好动,争食。每只狗在处死前均未发生伤口感染,5~7 d 后伤口愈合良好,线头自行脱落。狗的上颌窦矢状面为窄长梯形,前方较窄,后方较宽,较宽区域位于第一、第二磨牙根方,此处高约 1.0~1.5 cm,黏膜富弹性。冠状切面上呈椭圆形。狗的上颌窦大小约 5~6 cm³,垂直径大于颊舌径,黏膜厚度约 0.6~0.8 mm。拔牙后可植入 2 枚种植体。

人的上颌窦黏膜厚度测量:5 个标本约 0.4~0.6 mm,平均 0.51 mm。

切开颌骨的标本所见:3~24 周各个时期上颌窦黏膜都保持完整,所有种植体与骨组织结合牢固。提升 2 mm 时见种植体顶端有骨形成,提升 4 mm 时种植体顶端未见骨形成(图 2)。提升上颌窦



图 2 上颌窦底不植骨时图(12 周)

Fig. 2 Maxillary sinus floor without bone grafting after 12 weeks

Showing no bone on the top of the implant when maxillary sinus elevated up 4 mm without bone grafting after 12 weeks

同期牙种植和植骨时,种植体顶端移植骨存在。3周时,新骨较软,6~12周硬度增加(图3),24周时,触之硬,已似正常基骨(图4)。

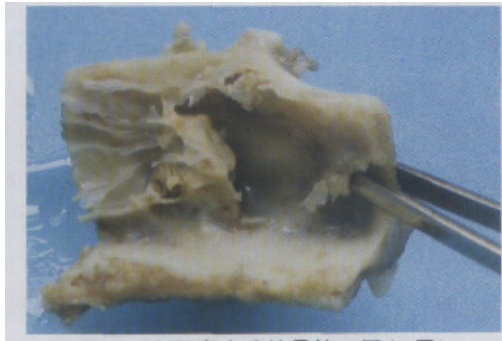


图3 上颌窦底移植骨情况图(6周)

Fig. 3 Maxillary sinus floor with bone grafting after 6 weeks

Showing the grafted bone is well formed after maxillary sinus elevated by 4 mm

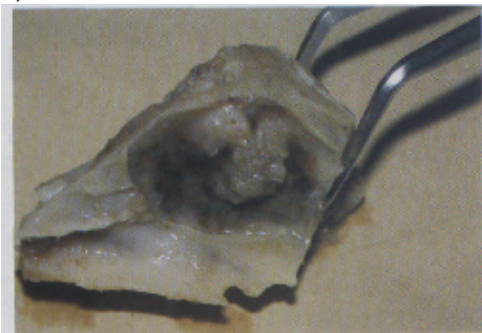


图4 上颌窦底移植骨情况图(24周)

Fig. 4 Maxillary sinus floor with bone grafting after 24 weeks

The completion of the reconstruction of grafted bone after maxillary sinus elevated by 4 mm is satisfying

2.2 X线检查

不植骨情况下:提升2 mm时,第3周处死动物后的带种植体颌骨X线片显示种植体体部周围骨组织影,顶端薄骨组织影像。提升4 mm种植体顶端无骨组织影。所有种植体体部与周围骨组织见窄的透射影。6周、12周,X线片显示种植体体部与周围骨组织已不见窄的透射影,提升2 mm的种植体顶端有薄层骨组织影,提升4 mm种植体顶端未见骨组织影。24周观察到所有种植体与周围密度增高骨组织结合,其间阴影消失,提升2 mm时,种植体顶端有骨组织影,密度与周围骨组织相同(图5);提升4 mm,多数种植体顶端未见骨组织影。

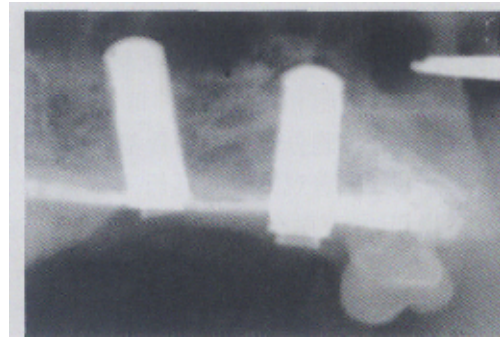


图5 上颌窦骨质X线片图(24周)

Fig. 5 X-ray examination of the bone of maxillary sinus after 24 weeks

X-ray indicating the construction on the top of the implant after maxillary sinus lifted up by 2 mm without bone grafting after 24 weeks

植骨情况下:3周的X线片显示所有种植体顶端密度较低骨组织影,种植体体部与周围骨组织见窄的透射影。6周、12周,种植体顶端骨组织密度较3周时高。种植体体部与周围骨组织已不见透射影。24周时,无论提升2 mm还是4 mm,种植体周围均见正常骨组织影,种植体顶端移植骨密度与种植体周围骨组织密度无差异。

2.3 组织学观察

不植骨情况:提升2 mm,3周时种植体体部及顶端周围见有成骨过程,脱钙骨组织切片镜下见成骨细胞、破骨细胞、早期骨基质(图6)。随着观察时间延长,6周及12周时,成骨细胞、破骨细胞数量减少,骨细胞逐渐成熟(骨陷窝),其分泌之基质逐渐增多、骨小梁增多,24周时见大片成熟骨组织,可见哈佛氏管结构,血管数目少。提升4 mm时种植体顶端未见骨形成。

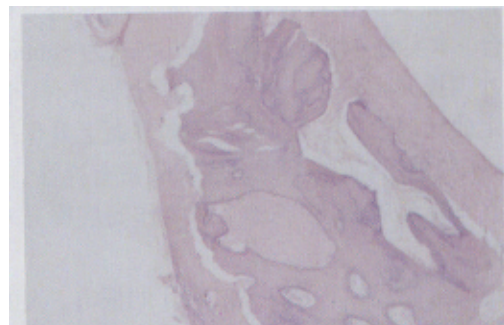


图6 窦底骨质组织图

Fig. 6 Histological graph of the bone found on maxillary sinus floor

Osteogenous process is observed on the top of implant (3 weeks 100 ×)

植骨情况:3周种植体顶端切片见移植骨重建组织像,见植入的移植骨骨粒,大量新生毛细血管、成骨细胞、破骨细胞和骨基质,移植骨周边见破骨细胞存在,成骨细胞分散分布于骨基质内,初见疏松骨小梁形成。随着观察时间延长,6周及12周时见骨小梁增粗,相互融合,其间血管数目逐渐减少,管径变大。24周时,层状骨形成,含哈佛系统,血管数目少。

上述所有种植体在3周时与基骨未形成完全骨性结合,6周开始,种植体与基骨大部形成骨性结合,12~24周,结合更加紧密,其间未见纤维组织。

3 讨论

3.1 动物模型的建立

随着上颌窦提升植骨牙种植在临床成功应用,上世纪90年代后,国内外学者进行了大量临床研究,较少进行动物实验研究,因而寻找一种理想的动物模型非常必要。狗做为上颌窦提升实验动物,与其它常用的实验动物相比具有易捕捉,来源充足,对环境适应力强,耐受力好,抗感染力强,且口裂大诸多优点,有利于种植这种复杂的手术进行^[8]。

本实验观察到狗上颌窦有足够的高度、大的空腔、黏膜富有弹性、在磨牙区根方的容积垂直径约1.0 cm以上,黏膜厚0.6~0.8 mm,与人的0.4~0.6 mm厚度差别较小,这些都是上颌窦底提升必要的客观条件。

上颌窦提升最关键的是窦底骨质提升后黏膜仍然保持完整及所植骨材料有新骨生成并能与种植体结合。本实验采用的上颌窦提升术式为Summer's骨凿冲顶提升方法,实验发现上颌窦提升时,骨质有一定的延展性,黏膜能随骨质提升而上升保持不穿破。实验提示:狗的上颌窦底黏膜富有弹性,窦底骨质有一定延展性,在狗的上颌窦作窦底提升术是可行的。

狗的上颌窦位于第一、二磨牙的根方,人的上颌窦位于第二前磨牙、第一、二磨牙的根方;狗的上颌窦窄长形,人的上颌窦为锥形。临床应用时应注意根据X线准确判断上颌窦位置及窦底骨质情况来行窦底提升术。

3.2 移植材料的选择

骨移植包括血管化骨移植(VBG)和非血管化骨移植(NVBG)^[9]。VBG保留了正常血供,不经过“爬行替代”这种方式,而NVBG骨块愈合主要通过骨引导和骨诱导形成新骨^[10,11]。本实验采用的是种植区周围上颌牙槽骨组织移植方法,所用的移植骨为非血管化移植骨。通过对于不同时期种植体周围骨组织标本组织学切片检查,证实了第3周开始种植体顶端移植骨即有成骨现象,移植骨与种植体开始结合,此时期结合有纤维组织成份,随着时间延长,种植体与骨组织界面纤维成分减少,骨性成分增多,新骨与种植体直接结合。而且种植体顶端移植骨逐渐成熟,形成片状骨,继而成熟为含哈佛系统的骨单位。移植骨在提升的上颌窦黏膜下能产生新骨,与基骨结合,保证种植体顶端有骨支持。

3.3 种植体与骨结合的界面观察

对种植体与界面进行形态学观察,是判断骨内种植体能否达到种植成功的基本手段和重要指标。骨结合反映种植体材料的生物相容性,种植体植入后,其周围的骨反应、骨愈合机制与骨创伤相同。种植体植入初期,组织学反应开始主要为血浆蛋白、血小板和其他血液因子凝集的一系列复杂反应过程,这种初期反应取决于种植材料的生物相容性和机体正常的血供,这对骨内种植成功是十分重要的。本实验组织学显示种植体植入后既能与牙槽骨形成骨性结合,也能与移植新生骨形成骨性结合。

3.4 Osteotome technique 上颌窦提升的中文名称和临床应用

目前Osteotome technique一词的中文释义有冲顶式、经牙槽嵴式、内提升式几种,作者认为用冲顶式这种译法更贴切其手术过程。此种技术已在临床种植中应用,具有易操作、损伤小、成功率高的优点。

参考文献:

- [1] Van den Bergh J P, Ten Bruggenkate C M, 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] Aparicio C, Perales P, Rangert B. Tilted implants as alternative to maxillary sinus grafting: a clinical, radiologic, and periotest study[J]. Clin Implant Dent Relat Res, 2001, 3(1): 39-49.
- [3] Cordioli G, Mazzocco C, Schepers E, et al. Maxillary

- sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2001, 12(3): 270-8.
- [4] Quinones C R, Hurzeler M B, Schubach P, *et al.* Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and osseointegrated dental implants in monkeys. Part II. Evaluation of porous hydroxylapatite as a grafting material[J]. *Clin Oral Implants Res*, 1997, 8(6): 487-96.
- [5] Hurzeler M B, Quinones C R, Kirsch A, *et al.* augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part III. Evaluation of autogenous bone combined with porous hydroxylapatite[J]. *Clin Oral Implants Res*, 1997, 8(5): 401-11.
- [6] 陈松龄,连克乾,冉炜,等. Endopore 种植体即刻种植的临床研究[J]. *中山医科大学学报*, 2002, 23(6): 462-4.
- [7] 陈松龄,冉炜,连克乾,等. 上颌前部牙槽骨内圆柱洞形扩宽同期牙种植[J]. *中山医科大学学报*, 2001, 22(6): 359-61.
- [8] Sisson S. 家禽解剖学[M]. 张鹤宇,林大诚,孔繁瑶,等译. 北京: 科技出版社, 1962. 452-523.
- [9] Dominici J T. Treatment of a microvascular reconstructed mandible using a implant-supported overdenture: case report[J]. *J Oral Implant*, 1995, 21(4): 309-18.
- [10] Zlotolow I M, Huryn J M, Pire J D, *et al.* Osseointegrated implants and functional prosthetic rehabilitation in microvascular fibula free flap reconstructed mandibles[J]. *Am J Surg*, 1992, 164(6): 677-86.
- [11] 张志勇,黄伟,孙坚. 血管化与非血管化移植骨同期种植的比较研究[J]. *中国口腔种植学杂志*, 1997, 2(3): 123-5.

(编辑 刘清海)

(上接第 548 页 from page 548)

的哮喘特征性的病理炎症改变(如气道 EOS 和淋巴细胞浸润,典型的气道重塑)^{5]}。因此, T-bet 基因的表达低下与哮喘发病具有直接的相关性。Schwartz^[6]在《新英格兰医学杂志》上回顾以上工作的基础上,肯定了 T-bet 基因的发现是哮喘发病机制研究中的一新进展,并进一步提出 T-bet 可作为哮喘治疗的新基因靶点之一。

本实验是在明确 T-bet 基因表达低下与支气管哮喘发病密切相关的基础上,将 T-bet cDNA 克隆到腺病毒 5 型 E1 区缺失复制缺陷型腺病毒中,进一步研究 T-bet 基因在哮喘模型中的作用机制。腺病毒是目前用于基因转移最广泛的载体之一,重组腺病毒除感染谱广、安全性高、容量大、体外可操作性好等优点外,腺病毒载体能利用真核细胞系统表达加工的蛋白质进行翻译后处理,与天然蛋白质的磷酸化、折叠、复折叠、二酯键一致,具有很高的生物活性。且腺病毒感染宿主细胞后,不依赖于宿主细胞增殖而表达外源基因,绕开了气道上皮细胞复制慢的问题,为呼吸道疾病的靶向基因治疗中一种高效载体。本文所用的腺病毒载体勿须同源重组,只在体外连接,并在穿梭质粒和腺病毒载体上设计稀有的酶切位点,避免反向连接及自身环化,便可保证重组腺病毒载体正确构建^[7]。本实验成功构建了小鼠 T-bet 基因重组腺病毒载体,并在 HEK293 细胞中成功包装出重组腺病毒,为支气管哮喘等呼

吸性疾病的防治研究提供了一种理想的生物载体表达体系,为以后的进一步研究奠定了基础。

参考文献:

- [1] Szabo S J, Kim S T, Costa G L *et al.* A novel transcription factor, T-bet, direct Th1 lineage commitment[J]. *Cell*, 2000, 100(6): 655-69.
- [2] 魏海明,田志刚,许晓群,等. 肺癌患者转录因子 T-bet 和 GATA3 的基因表达状况及药物干预研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2002, 24(1): 34-6.
- [3] 麦贤弟,赵莉,檀卫平,等. 哮喘患儿 IL-12、IL-13 与总 IgE 水平变化 [J]. *中山医科大学学报*, 2000, 21(5): 400-2.
- [4] Larche M, Robinson D S, Kay A B. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111(3): 450-63.
- [5] Finotto S, Neurath M F, Glickman J N, *et al.* Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet[J]. *Science*, 2002, 295(5553): 336-8.
- [6] Schwartz R S. A new element in the mechanism of asthma [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(11): 857-8.
- [7] Mizuguchi H, Kay M A. Efficient construction of a recombinant adenovirus vector by an improved *in vitro* ligation method[J]. *Hum Gene Ther*, 1998, 9(17): 2577-83.

(编辑 张恩健)