

网络出版时间: 2016-8-1 14:07 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160801.1407.060.html>

◇技术与方法◇

不同方法进行种周炎骨重建的对比研究

尹 伟, 刘向辉, 孙卫革, 程义成, 张 磊, 王晨辰

摘要 将6只比格犬即刻植入36枚种植体后建立种周炎骨缺损模型, 后将患有种周炎的种植体随机分组(对照组、传统组、 β -TCP组、BIO-GENE组、Bio-Oss组和不刮治组)后进行骨重建, 术后3个月通过直观测量、X线检查和Micro-CT扫描比较各自成骨的差异。结果显示骨重建后6组间差异有统计学意义($P < 0.05$), 骨重建效果 Bio-Oss组 $>$ BIO-GENE组 $>$ β -TCP组(传统组) $>$ 对照组(不刮治组); 其中 β -TCP组与传统组差异无统计学意义($P > 0.05$), 不刮治组与对照组差异无统计学意义($P > 0.05$)。对比发现翻瓣刮治 + Bio-Oss + 胶原膜可有效进行种周炎骨重建。

关键词 种周炎; 骨缺损; 骨重建; 骨再生

中图分类号 R 782.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)09-1364-05

种植义齿的长期稳定取决于种植体周围一直保持良好的骨质和足够的骨量, 一旦义齿维护不当发生种周炎, 导致种植体周围骨组织缺损, 其长期稳定性即难以得到保障。因此, 如何增加种周炎所致的缺损骨量是目前亟待解决的热点问题之一。研究^[1]显示, 种周炎可通过一定的手段获得种植体表面缺损骨的再结合。该实验在种周炎骨缺损模型的基础上通过3种骨再生材料, 采取6种处理方法进行骨重建, 观察各自的成骨效果并进行对比研究, 为临床种周炎骨缺损的引导骨组织再生研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 6只雄性成年比格犬由南京军区南京总医院比较医学中心提供, (16.2 \pm 0.5) kg, 自

2016-05-04 接收

基金项目: 2014年度南京军区医学科技创新课题面上项目(编号: 14MS045)

作者单位: 安徽医科大学解放军八一临床学院口腔科, 南京 210002

作者简介: 尹 伟, 男, 硕士研究生;

刘向辉, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: njbyliuxh864234@sina.com

Retinal nerve fiber layer thickness changes in obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome: a Meta-analysis

Yu Xi, Gu Yonghao, Ji Qingshan, et al

(Dept of Ophthalmology, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

Abstract Objective To assess the retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness change in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome (OSAHS). **Methods** PubMed, Web of Science, and Wanfang databases were searched to identify relevant cohort studies and case control studies about the correlation between OSAHS and RNFL thickness. The literatures in conference proceedings and some unpublicized articles were also retrieved. Two reviewers independently collected the data, assessed the quality, and conducted the Meta-analysis by using RevMan 5.3 software. **Results** A total of 7 studies were included in this Meta-analysis. The results of Meta-analysis showed that the RNFL thickness was significantly thinner in the OSAHS group when compared with the control group (WMD = -3.42, CI = -5.51 ~ -1.33, $P < 0.001$). In the subgroup analysis stratified by the different grades of OSHAS. There were no significant differences in RNFL thickness between mild/moderate OSAHS and the control group ($P > 0.05$). However, compared with the controls, severe OSAHS group had significantly thinner RNFL thickness (WMD = -5.03, CI = -8.99 ~ -1.06, $P < 0.01$). **Conclusion** The RNFL thickness is thinner in OSAHS group. Between the severity of OSAHS and RNFL thickness shows a positive correlation.

Key words obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome; retinal nerve fiber layer

由饮水,环境温度 19~22 °C,湿度 50%~60%。

1.2 实验材料及仪器 韩国 DIO 种植体(3.8 mm × 10 mm,北京伊诺登公司); Cerasorb M 骨粉(β -TCP,德国 Curasan 公司); 同种异体骨拜欧金(BIO-GENE,北京大清生物公司); Bio-Oss 骨粉(1.0~2.0 mm,瑞士 Geistlich 制药公司); 吉特瑞医用胶原修复膜(GTR膜,福建省博特生物公司); Micro-CT 扫描仪(江苏省医药动物实验基地); 莱卡硬组织切磨系统(北京大学口腔医院硬组织与形态学实验室)。

1.3 实验方法 每只比格犬按 0.1 ml/kg 速眠新 II 肌注全麻,参照尹伟等^[2]的方法快速建立种周炎骨缺损动物模型。建模成功后翻瓣直视下测量各项骨缺损指标,并拍摄 X 线片(作为基线数据)。随后将 36 枚骨缺损种植体采用随机数字法分为 6 组:对照组不做任何处理;传统组彻底清除肉芽,50%枸橼酸+3%过氧化氢交替冲洗,最后以 0.9%生理盐水反复冲洗;Bio-Oss 组彻底去污,骨缺损区充填大颗粒 Bio-Oss 骨粉,覆盖 GTR 膜;BIO-GENE 组彻底去污,骨缺损处充填同种异体骨 BIO-GENE,覆盖 GTR 膜; β -TCP 组彻底去污,骨缺损处充填 Cerasorb M 骨粉,覆盖 GTR 膜;不刮治组骨缺损处直接充填 Bio-Oss 骨粉,覆盖 GTR 膜。术中均以小球钻于种植体唇颊侧骨面上钻孔,直至骨髓腔内有血液渗出,然后分别采用以上 6 种骨重建方法进行处理。3 个月处死实验犬,通过直观测量、X 线片检查和 Micro-CT 扫描对比各组效果。见图 1。

1.4 检测指标

1.4.1 直观测量 使用牙周刻度探针及电子游标卡尺测量所有种植体近颊、远颊、近舌、远舌 4 个视野下的各项骨缺损指标值^[3],最后取均值记录:① 缺损深度(DD):骨缺损底部至植体顶端的垂直距离;② 缺损宽度(DW):缺损牙槽骨冠方顶点至植体表面的水平距离;③ 牙槽骨水平(BL):牙槽嵴冠方

顶点至植体顶部的垂直距离。

1.4.2 X 线片检查 数码 X 线片是检测种植体周围骨吸收最方便快捷的方法,其自带的测量软件可以测出种植体垂直向骨吸收的水平^[4]。实验采用平行投照法,相同参数(管电压 60 kV,管电流 7 mA,曝光时间 0.16 s,剂量 0.050 mGy)进行拍摄。最后利用自带软件以种植体顶端螺纹为基准测量所有种植体骨缺损高度(bone defect height, BDH)。

1.4.3 Micro-CT 扫描 Micro-CT 可获取样本内部详尽的三维结构信息,有研究^[5]称其可通过定义任意三维形状的感兴趣区(region of interest, ROI),根据已知密度的体模得到样本内部各点的骨密度值(bone mineral density, BMD),多项研究^[6-7]证实 Micro-CT 可进行种植体周围骨密度的测量。此实验样本根据张亨国等^[8]的方法计算出每个植体 ROI 区域的 BMD 数值。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表达,各组数据先作正态检验,采用方差分析进行统计学处理, $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 直观测量和 X 线检查结果 基线时所有种植体直观测量和 X 线检查的骨缺损指标组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。骨重建后 6 组间差异有统计学意义($P < 0.05$),骨重建效果 Bio-Oss 组 > BIO-GENE 组 > β -TCP 组(传统组) > 对照组(不刮治组);其中 β -TCP 组与传统组比较差异无统计学意义,不刮治组与对照组比较差异无统计学意义。见表 1。

2.2 Micro-CT 扫描结果 通过三维重建发现 6 组种植体周围 BMD 组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。3 种骨重建材料中 β -TCP 组 BMD 值最小,ROI 区域内几乎找不到植骨材料,种植体颈

表 1 骨重建前后直观测量值和 X 线测量 BDH 值($n = 6$, μm , $\bar{x} \pm s$)

检测指标	检测时间	对照组	传统组	β -TCP 组	BIO-GENE 组	Bio-Oss 组	不刮治组	F 值
DD	基线时	4.12 ± 0.73	4.32 ± 0.65	4.35 ± 0.52	4.28 ± 0.69	4.17 ± 0.71	4.15 ± 0.63	-
	重建后	4.18 ± 0.81	3.11 ± 0.78*	3.06 ± 0.77*	2.24 ± 0.82*#	1.05 ± 0.69*# Δ	4.06 ± 0.72	18.43
DW	基线时	1.37 ± 0.38	1.46 ± 0.28	1.49 ± 0.32	1.38 ± 0.29	1.47 ± 0.26	1.39 ± 0.36	-
	重建后	1.41 ± 0.29	1.12 ± 0.31*	1.10 ± 0.34*	0.67 ± 0.29*#	0.42 ± 0.18*# Δ	1.40 ± 0.36	5.39
BL	基线时	2.87 ± 0.48	2.62 ± 0.58	2.78 ± 0.57	2.55 ± 0.63	2.81 ± 0.52	2.62 ± 0.56	-
	重建后	2.79 ± 0.51	1.98 ± 0.50*	1.96 ± 0.42*	1.22 ± 0.43*#	0.88 ± 0.35*# Δ	2.84 ± 0.41	7.25
BDH	基线时	4.16 ± 0.63	4.32 ± 0.75	4.27 ± 0.70	4.29 ± 0.69	4.18 ± 0.72	4.20 ± 0.64	-
	重建后	4.20 ± 0.71	3.23 ± 0.68*	3.16 ± 0.77*	2.26 ± 0.52*#	1.08 ± 0.41*# Δ	4.13 ± 0.65	16.57

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与传统组比较: # $P < 0.05$; 与 BIO-GENE 组比较: $\Delta P < 0.05$

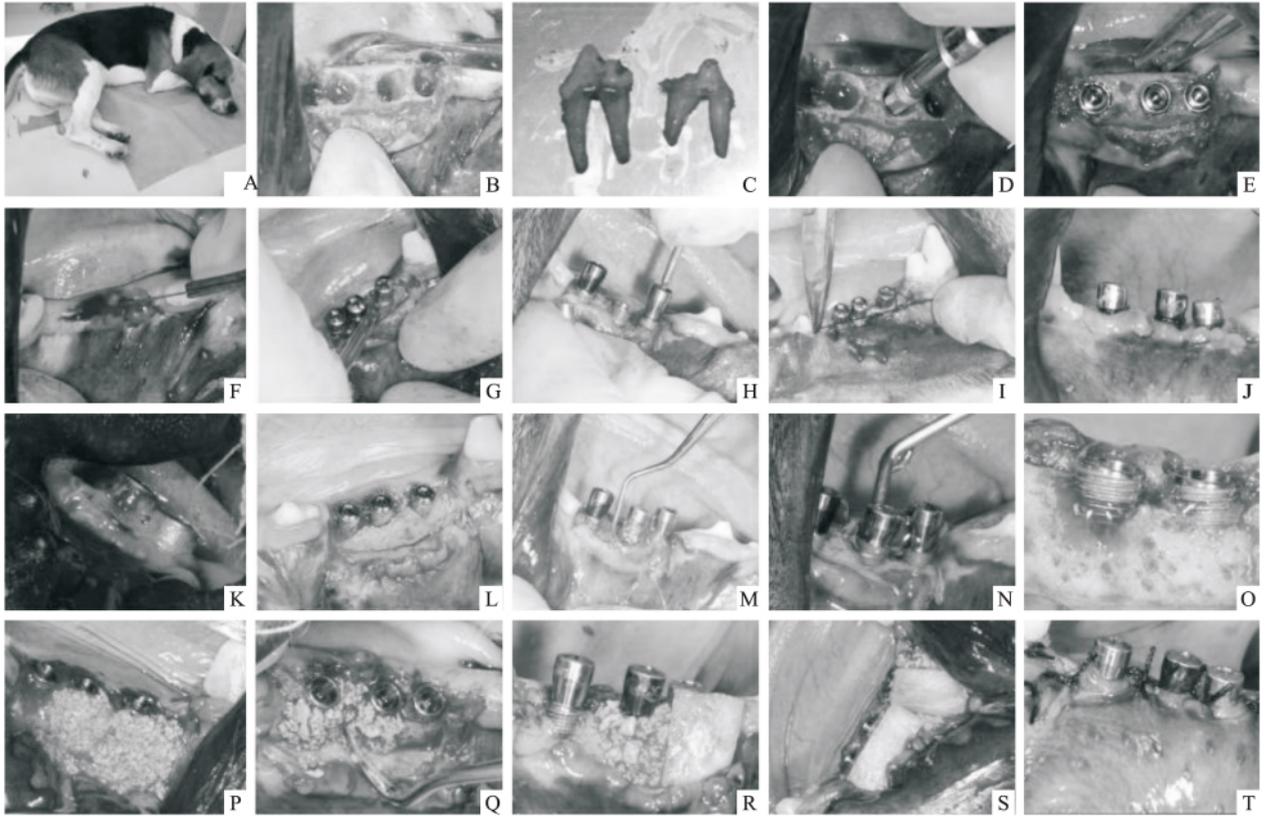


图1 种周炎骨缺损建模(1-12)及后期骨重建(13-20)过程

A: 比格犬; B: 即刻拔除; C: 离体前磨牙; D: 即刻植入; E: 每侧3枚; F: 二期切开; G: 局部去骨; H: 接基台; I: 缝合; J: 丝线结扎; K: 建模成功; L: 翻瓣后所见; M: 刮治; N: 反复冲洗; O: 唇颊面钻孔; P: 植骨; Q: Bio-Oss 骨粉; R、S: 覆盖骨膜; T: 缝合

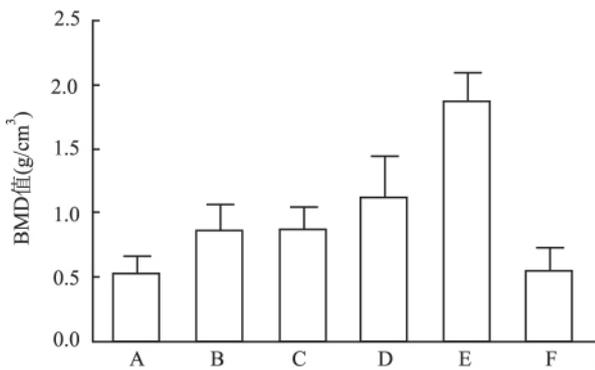


图2 各组种植体周围 ROI 区域重建后 BMD 值

A: 对照组; B: 传统组; C: β-TCP 组; D: BIO-GENE 组; E: Bio-Oss 组; F: 不刮治组

部骨缺损较为明显(图3B); BIO-GENE 组次之,扫描图像上 ROI 区域内可见未被完全吸收替代的植骨材料高密度影像(图3C); Bio-Oss 组 BMD 值最大,扫描图像上 ROI 区域内的影像密度与种植体底部骨密度接近,骨缺损区域明显缩小(图3D)。

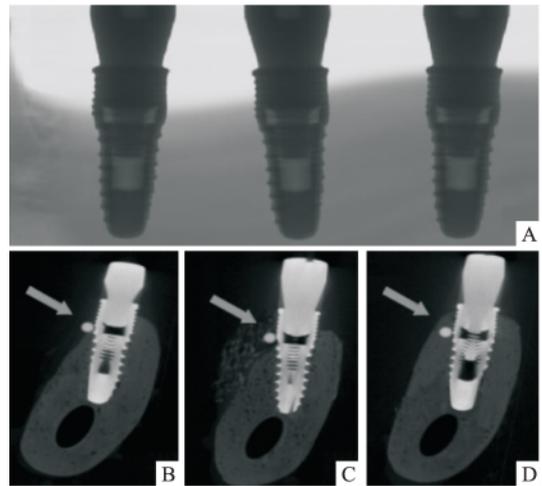


图3 Micro-CT 扫描 ROI 区域 BMD 值测量

A: 3种不同植骨材骨重建的 Micro-CT 影像; B: β-TCP 组; C: BIO-GENE 组; D: Bio-Oss 组

3 讨论

种周炎如不及时治疗将导致种植体松动脱

落^[9]。目前对于种周炎的处理,其治疗原则是去除菌斑控制感染,终止骨丧失诱导骨再生^[10]。与以往建模方式不同,实验通过“局部去骨+丝线结扎+高糖饮食”诱导产生种周炎骨缺损模型,为后续的骨重建研究提供了一种快速建模途径。

早在上世纪90年代就有研究者指出种植体-骨界面的结合率是25%~85%的一个动态平衡,因此骨重建处理后局部骨再结合率可相对变高^[11]。实验通过6种方法进行骨重建,其中GTR膜主要为去除末端肽的I型胶原蛋白,可引导软硬组织缺损的修复再生;Bio-Oss是一种天然的具有骨引导作用的多孔状骨重建材料,经过特殊工艺处理保留骨小梁结构;BIO-GENE是一种同种异体骨,完全保留了天然骨的三维网架结构; β -TCP骨粉是一种可吸收的生化填充材料,主要成分是高纯度的 β -磷酸三钙含钙化合物。本研究结果显示骨重建后Bio-Oss组新生骨量足够维持种植体的长期稳定[植体在骨内(9.02±0.32)mm,植体长10mm],其他两组均不及Bio-Oss组,实验证实Bio-Oss的成骨效果最为理想。

影响种周炎缺损骨重建的因素有很多,如种植体的表面去污、骨重建的材料种类、引导性骨再生技术(GBR)的操作方法、患者的自身免疫等,其中种植体的表面去污是骨重建和骨再生的关键,也是难点^[12]。对比不刮治组和对照组发现,各项检测指标均显示两者差异无统计学意义,说明GBR骨重建之前的翻瓣刮治非常重要;如果不对植体表面的污染层进行彻底清理,即使植入最理想的骨重建材料也无明显成骨效果。而对比传统组与对照组发现,两者差异有统计学意义,说明单纯的植体去污也可促进新骨形成,实验中通过物理方法(纯钛刮治器清理)和化学方法(50%枸橼酸和3%过氧化氢)共同作用实现种植体的表面去污,为成骨细胞的再生提供一个良好的环境,促使种植体-骨界面的动态平衡向高结合率转化。本研究仅对种植体表面的彻底去污进行研究,其他因素如何影响骨再生尚有待下一

步深入研究。

综上所述,针对种周炎所致的骨缺损采用“彻底去污+Bio-Oss+胶原膜”共同作用是一种可行的骨重建方法。

参考文献

- [1] Neugebauer J. Using photodynamic therapy to treat peri-implantitis. Interview [J]. Dent Implantol Update 2005, 16(2): 9-16.
- [2] 尹伟,刘向辉,孙卫革,等.比格犬种植体周围炎骨缺损模型的建立[J].医学研究生学报,2016,29(1):34-9.
- [3] Schwarz F, Becker K, Renvert S. Efficacy of air polishing for the non-surgical treatment of peri-implant diseases: a systematic review [J]. J Clin Periodontol 2015, 42(10): 951-9.
- [4] De Bruyn H, Vandeweghe S, Ruyffelaert C, et al. Radiographic evaluation of modern oral implants with emphasis on crestal bone level and relevance to peri-implant health [J]. Periodontol 2000, 2013, 62(1): 256-70.
- [5] Zou W, Hunter N, Swain M V. Critical Review in Oral Biology & Medicine: Application of polychromatic microCT for mineral density determination [J]. J Dent Res 2011, 90(1): 18-30.
- [6] 张迪,金东春,周聪,等.应用Micro-CT骨组织微细解剖学分析[J].安徽医科大学学报,2012,47(7):859-60.
- [7] Snoeks T J, Kaijzel E L, Que I, et al. Normalized volume of interest selection and measurement of bone volume in MicroCT scans [J]. Bone, 2011, 49(6): 1264-9.
- [8] 张亨国,刘向辉,孙卫革,等. Micro CT应用于犬即刻种植即刻加载后种植体-骨界面骨结合的研究[J].安徽医科大学学报,2014,49(4):455-9.
- [9] Ata-Ali J, Ata-Ali F, Galindo-Moreno P. Treatment of periimplant mucositis: a systematic review of randomized controlled trials [J]. Implant Dent, 2015, 24(1): 13-8.
- [10] Romeo E, Ghisolfi M, Murgolo N, et al. Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part I: clinical outcome [J]. Clin Oral Implants Res 2005, 16(1): 9-18.
- [11] Gross K A, Berndt C C, Goldschlag D D, et al. *In vitro* changes of hydroxyapatite coatings [J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1997, 12(5): 589-97.
- [12] Padijal-Molina M, Suarez F, Rios H F, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of peri-implant diseases [J]. Int J Periodontics Restorative Dent 2014, 34(6): e102-11.

Comparative study of bone reconstruction using different methods for bone defects caused by peri-implantitis

Yin Wei, Liu Xianghui, Sun Weige, et al

(Dept of Stomatology, The PLA 81st Hospital of Anhui Medical University, Nanjing 210002)

Abstract 6 beagles were implanted 36 implants, then to construct the peri-implantitis bone defects model. 36 im-

低温对小鼠骨髓源树突状细胞生物特性的影响

邓汝淇, 胡何节, 方征东, 王晓天, 孙小杰, 葛新宝

摘要 取 C57BL/6 小鼠骨髓细胞, 在不同时期进行低温冻存的条件下对其进行诱导和培养, 获得树突状细胞(DCs)。经过冻存的 DCs 复苏后存活率差异无统计学意义; 各组 DCs 均高表达 CD11c, 低表达 CD80、CD86 及主要组织相容性复合体-II(MHC-II) 分子; 混合淋巴细胞反应及培养上清液中白介素-10(IL-10)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1) 水平的差异无统计学意义。表明在不同时期进行低温冻存的 DCs 仍能保持稳定的生物特性。

关键词 低温保存; 树突状细胞; 细胞培养

中图分类号 R 654.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)09-1368-04

自 1973 年首次报道树突状细胞(dendritic cells, DCs)以来, 对其进行了深入研究, 是目前已知的体内功能最强大的专职抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC), 是免疫系统的重要组成部分^[1]。DCs 经常被选择用于研究疾病的进展机制、癌症以及自身免疫性疾病等。目前认为下肢动脉硬化性闭塞症(atherosclerosis occlusion, ASO)是一种慢性炎症的病理过程^[2]。研究^[3]表明, 血管树突状细胞(vascular dendritic cell, VDC)可能参与了 ASO 的炎症性免疫反应。外周血中 DCs 较少, 而利用 DCs 进行免疫治疗的研究中需要大量 DCs, 为获得

生物特性良好的 DCs, 对小鼠骨髓源 DCs 低温保存的研究具有重要意义, 为进一步研究 ASO 的细胞免疫治疗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物 6~8 周龄 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠和 BALB/c 小鼠, 约 20 g, 购自安徽医科大学实验动物中心。

1.2 主要试剂 RPMI 1640 全培养液、南美胎牛血清(fetal bovine serum, FBS) 购自美国 Hyclone 公司; 重组小鼠粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(recombinant murine granulocyte macrophage colony stimulating factor, rmGM-CSF)、重组小鼠白介素-4(rmIL-4) 购自美国 Peprotech 公司; 流式荧光抗体 FITC anti-mouse CD11c、PerCP-CyTM5.5 anti-mouse CD80、APC anti-mouse CD86、PE anti-mouse MHC-II 及其同型对照抗体购自美国 BD 公司; Cell Counting Kit-8(CCK-8) 购自日本同仁化学研究所; 小鼠白介素-10(interleukin-10)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司。

1.3 主要仪器 恒温细胞培养箱购自美国 SHEL LAB 公司; 倒置显微镜购自日本 Olympus 公司; -80 °C 超低温冰箱购自美国 Advantage 公司; 流式细胞仪购自美国 BD 公司; 酶标仪购自美国 BioTek 公司。

1.4 小鼠骨髓源 DCs 的培养与分组 颈椎脱臼法处死 C57BL/6 小鼠, 75% 酒精浸泡至少 10 min, 再无菌剥除小鼠股骨、胫骨上肌肉组织, PBS 反复洗涤

2016-04-19 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1408085MH177)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院普通外科, 合肥 230001

作者简介: 邓汝淇, 男, 硕士研究生;

胡何节, 男, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: huhejie@hotmail.com

plants with peri-implantitis were randomly divided into control group, traditional group, β -TCP group, BIO-GENE group, Bio-Oss group and non scraping group, then to be reconstructed bone. 3 months after surgery, the differences of osteogenesis were compared by direct measurement, X-ray examination, and Micro-CT scan. The results showed that the bone reconstruction effect was Bio-Oss group > BIO-GENE group > β -TCP group (traditional group) > control group (non scraping group) ($P < 0.05$). Among them, there was no statistical difference between β -TCP group and traditional group ($P > 0.05$), and the same between non scraping group and control group ($P > 0.05$). The comparative study finds "flap curettage + Bio-Oss + collagen membrane" can be used for bone reconstruction of peri-implantitis.

Key words peri-implantitis; bone defect; bone reconstruction; bone regeneration