

Bio-oss 结合纤维蛋白胶修复犬下颌骨缺损

田 刚,徐晓刚*,周中华*

(第二军医大学长海医院口腔科,上海 200433)

[摘要] **目的:**评价 Bio-oss 以纤维蛋白胶(FG)作为赋形材料后的成骨性能。**方法:**拔除 9 条杂种犬双侧下颌第 2、4 前臼齿及第 2 臼齿,造成 1 cm×1 cm 大小的骨缺损区,将 Bio-oss、Bio-oss+FG 以及 FG 分别植入第 2、4 前臼齿及第 2 臼齿的骨缺损区,分别在术后 4、8、12 周各处死 3 条实验犬,观察软组织的愈合情况,X 线观察骨密度,大体标本观察骨粉性状,组织切片观察新生骨组织形态学,计算机图像分析得出新生骨百分率,利用 SAS 软件进行方差分析。**结果:**软组织均一期愈合;Bio-oss+FG 组和 Bio-oss 组骨密度无明显差别,FG 组表现为透光区;观察大体标本发现 Bio-oss+FG 组骨粉结合紧密,Bio-oss 组骨缺损区外有散在骨粉颗粒;FG 组仅在骨缺损和 FG 交界面有新骨形成;在 4、8、12 周时 Bio-oss+FG 组的新生骨百分率均低于 Bio-oss 组($P<0.05$)。**结论:**纤维蛋白胶作为赋形剂解决了 Bio-oss 塑形困难的问题,并具有良好的生物相容性,但是降低了 Bio-oss 的成骨量。

[关键词] 纤维蛋白胶;无机牛骨;下颌骨缺损;塑形

[中图分类号] R 782.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)06-0620-04

Bio-oss combined with fibrin glue in reconstruction of canine mandibular defects

TIAN Gang, XU Xiao-gang*, ZHOU Zhong-hua* (Department of Stomatology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To evaluate the osteogenic activities of Bio-oss after combining with fibrin glue in reconstruction of canine mandibular defects. **Methods:** The second and fourth premolar teeth and the second molar teeth were extracted bilaterally, in 9 hybrid canines, resulting in 6 bone defects (1cm×1cm) in each canine. Bio-oss, Bio-oss+FG and FG were implanted into the bone defects of the second, fourth premolar teeth and the second molar teeth, respectively. Canines were executed in group of 3 after 4, 8, and 12 weeks to observe the healing of soft tissues. The bone density was assessed by X-ray, the property of Bio-oss were observed *via* gross specimen, and the morphology of the newly-formed bone was observed by tissue sections. The proportion of newly-formed bone was obtained by computer image analysis (SAS software, analysis of variance). **Results:** Stage I healing of soft tissues was achieved in all animals. The bone densities were not significantly different between Bio-oss+FG and Bio-oss groups. The bone in FG group had transparent area. We also found that the bone in Bio-oss+FG group was closely combined and there were scattered bio-oss dusts in the soft tissues of the Bio-oss group. The new bone in the FG group was only found in the border between the defects and FG. The proportion of newly-formed bone was less in the Bio-oss+FG group than in the Bio-oss group at 4, 8, and 12 weeks after extraction($P<0.05$). **Conclusion:** Fibrin glue can well shape the Bio-oss and has satisfactory biocompatibility, but it reduces the new bone forming.

[KEY WORDS] fibrin glue; Bio-oss; mandibular defect; shaping

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(6): 620-623]

Bio-oss 修复骨缺损已经在临床应用和动物实验中证明其具备良好的成骨性能^[1],但是 Bio-oss 的颗粒状结构难以成形,通常仅应用于洞形缺损的充填性修复。虽然有通过模压、挤压、轧制、等静压、注射、粉浆浇注、热压铸成形^[2-3]等技术对生物活性材料进行成形的报道,但是这些方法复杂、昂贵,同时成品的尺寸、形状受限制,不能满足个体化缺损的修复,所以目前使用产品的基本形状仍然是颗粒状。如何寻找一种临床操作简便的塑形方法是目前关注的焦点。纤维蛋白胶(FG)是目前临床上常用的一种生物蛋白胶,具有一定的粘结能力,文献中有报道

使用 FG 复合皮质骨碎片修复颅骨小缺损^[4]和修复大鼠下颌骨缺损^[5],使用煅烧骨和 FG 作为支架材料结合骨髓基质细胞修复羊的下颌骨缺损,结果显示植入物和周围自身骨组织以及软组织结合良好^[6],提示 FG 可以作为一种赋形剂使用,但是以往这些研究中并未涉及塑形后对成骨量的影响。本实验拟将 FG 作为赋形剂来解决 Bio-oss 的塑形问题,

[作者简介] 田 刚,硕士,主治医师。

E-mail: freetgzh@sohu.com

* Corresponding author. E-mail: xxgsmmu@sina.com

并观察FG在解决塑形问题的同时对Bio-oss成骨的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料 Bio-oss颗粒(瑞士盖氏制药有限公司)、FG(上海松力生物科技有限公司),随机选取9条本地健康杂种犬(第二军医大学动物实验中心),雌雄不分,3~4岁,体质量13~16 kg。

1.2 实验分组及方法 根据植入材料的不同分为3组,即:实验组(Bio-oss+FG)、实验对照组(Bio-oss)、空白对照组(FG)。动物标记、称量后,3%戊巴比妥按照1 ml/kg剂量经后肢小隐静脉注射麻醉,同时静脉滴注青霉素钠盐160万U。参照Broggini等^[7]研究颌骨缺损的动物模型方法,首先拔除犬双侧下颌的第2、4前臼齿及第2臼齿,分别将拔牙部位颊侧牙龈的近远中向前庭沟方向切开,切至骨膜,翻开黏骨膜瓣;舌侧不切开,仅将黏骨膜与骨面剥离,此时已经暴露骨质,裂钻截除拔牙区的骨质,造成1 cm×1 cm大小的骨缺损区,黏骨膜剥离范围在缺损区外2 mm,此时在颊侧黏骨膜瓣的蒂部切开骨膜,游离颊瓣以减少张力,盐水冲洗伤口,等待修复。此时每条犬造成6个骨缺损区。体外配好FG,将Bio-oss与FG按照1:1的体积比混合后体外成形备用。在第2、4前臼齿及第2臼齿骨缺损区分别植入Bio-oss、Bio-oss+FG、FG,将颊、舌侧牙龈无张力状态下拉拢缝合,关闭伤口。术后肌内注射青霉素钠盐80万U,2次/d,连续4 d。术后2周

半流质饮食,后改普通饲料喂养。

1.3 观测指标

1.3.1 软组织的愈合情况 分别在术后4、8、12周处死3条犬,肉眼观察愈合情况。

1.3.2 骨密度 通过X线片(下颌骨侧位片,参数设定:80 kV,2 s),比较各组的骨密度。

1.3.3 骨粉性状 标本取材后,大体标本观察骨粉的性状。

1.3.4 新生骨组织形态学观察 标本取材后,脱钙、包埋、切片、H-E染色,观察3组新生骨生长情况的组织形态学表现。

1.3.5 新生骨百分率的测定 组织切片采集图像后,采用Photoshop软件中的histogram(直方图)功能进行分析。每份样本随机测定3个部位后取平均值,分析新生骨在骨缺损区域所占面积的百分比,得出新生骨百分率。

1.4 统计学处理 采用SAS统计软件分析,新生骨百分率各组间差异采用方差分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 软组织愈合情况 各组伤口均达到一期愈合。

2.2 骨密度(图1) 在4、8、12周时,Bio-oss+FG组和Bio-oss组骨缺损修复区与周围骨组织之间界限不清楚,骨密度无明显差别。FG组在4周时,表现为矩形透光区,8、12周时骨缺损区的边缘,骨密度有所增高。

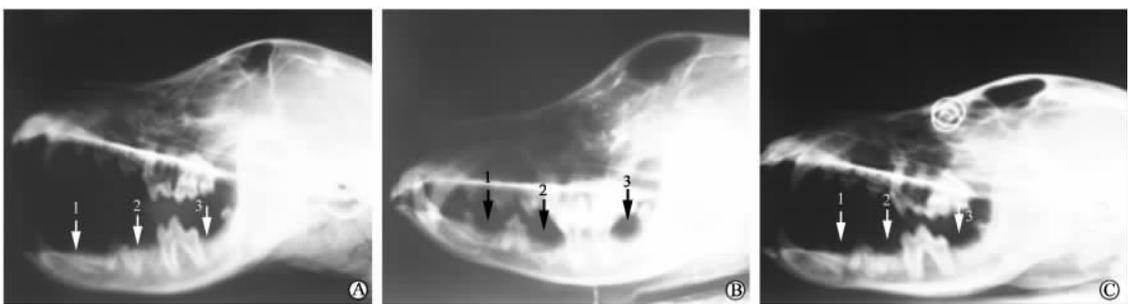


图1 三组新生骨骨密度

Fig 1 Bone density of newly-formed bone in 3 groups

A: The density in 4 weeks group; B: The density in 8 weeks group; C: The density in 12 weeks group. Arrow 1: Bio-oss group (the second premolar teeth); Arrow 2: Bio-oss+FG group (the fourth premolar teeth); Arrow 3: FG group (the second molar teeth)

2.3 骨粉性状 4周时Bio-oss组有散在的骨粉颗粒附着在正常骨质表面,容易剥离脱落。Bio-oss+FG组骨粉结合紧密,不易剥离。8周、12周时情况类似,但是Bio-oss+FG组的骨粉颗粒与骨床结合更加紧密。FG组在4周时,骨缺损区空虚,8周时,

骨缺损区的边缘可见类骨质形成,12周时,骨缺损区为向下凹陷的弧形。

2.4 新生骨组织形态学表现(图2) Bio-oss组:4周时,骨粉颗粒周围有较多的纤维组织包绕,但少见新生骨形成;8周时骨粉周围仍有纤维组织包绕,但

是可以看见尚未钙化的不成熟类骨质以及新生骨形成;12周时围绕骨粉生长的新生骨比例明显增多,可以看见桥连样结构以及成骨细胞,骨粉凹陷部位可以看见多核破骨细胞的存在。Bio-oss+FG组:4周时,骨粉颗粒被丰富的纤维组织包绕,新生骨比例

较少;8周时围绕骨粉颗粒有新骨以及纤维结缔组织包绕,纤维结缔组织的比例多于新骨的比例;12周时骨粉周围的纤维组织的比例减少,新生骨比例增多,相互连接成网状或片状。FG组:仅在骨缺损和FG交界面有反应性的新骨形成。

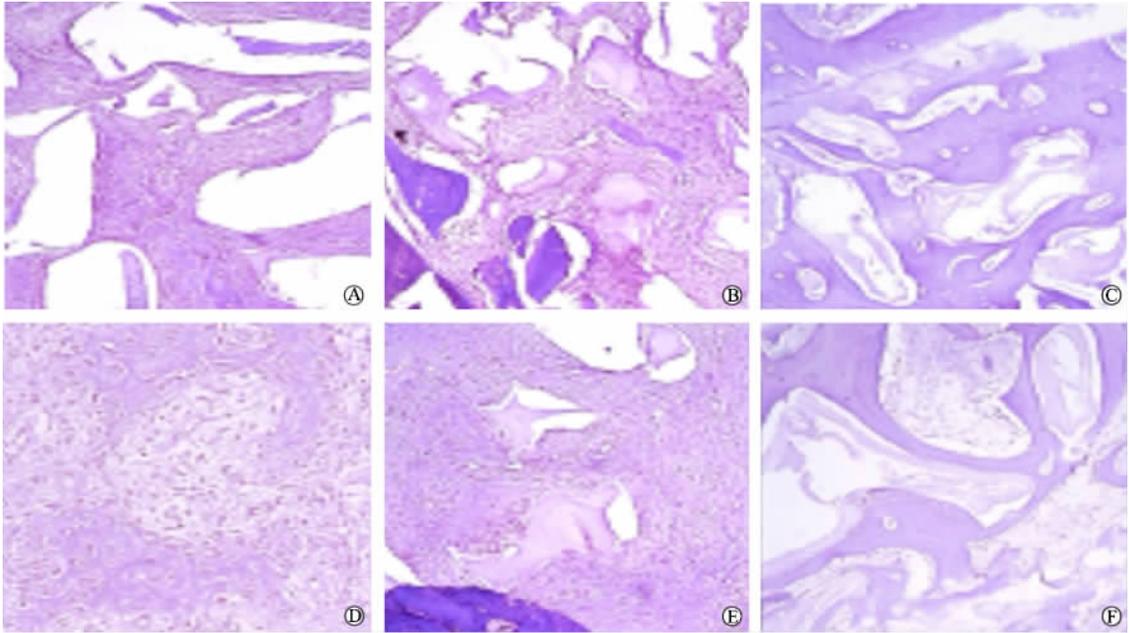


图2 骨缺损修复后新生骨组织 H-E 染色结果

Fig 2 Histological examination of newly-formed bone after reconstruction (H-E, X40)

A: Bio-oss group 4 weeks after operation; B: Bio-oss group 8 weeks after operation; C: Bio-oss group 12 weeks after operation; D: Bio-oss+FG group 4 weeks after operation; E: Bio-oss+FG group 8 weeks after operation; F: Bio-oss+FG group 12 weeks after operation

2.5 新生骨百分率 如表1所示,FG组新生骨百分率为0, Bio-oss+FG组在4、8、12周时,新生骨百分率均低于 Bio-oss组,并且差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表1 新生骨百分率

Tab 1 Proportion of newly-formed bone

($n=6, \bar{x} \pm s, \%$)

Group	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Bio-oss	5.53±0.49	15.47±1.94	38.64±2.61
Bio-oss+FG	1.28±0.19*	7.50±0.89*	25.47±2.29*
FG	0	0	0

* $P < 0.05$ vs Bio-oss group

3 讨论

目前临床上最常使用的 Bio-oss 是一种无机牛骨,它是采用化学提纯的方法从牛骨中提取的磷酸磷灰石晶体,除去了蛋白和其他有机成分,高纯度并保持多孔天然骨无机结构,与人体骨的结构几乎相

同的异种骨^[8]。Bio-oss 是一种骨引导材料,植入体内后可以为缺损区提供理想的框架结构,引导骨组织向内生长和沉积,通过自身的降解吸收,依靠周围骨床的骨组织长入,逐渐被新生骨取代,并与新骨结合,完成骨修复。因此,Bio-oss 是一种较好的骨修复材料。但是 Bio-oss 的颗粒性状不易成形,不能满足修复后必须具备特定形状的颌骨缺损的要求,所以改变塑形性能,获得更广的临床适应证是目前的研究热点。

FG 作为一种生物蛋白胶,具有一定的粘附能力,在临床上主要应用于深面组织的创面封闭。本实验的骨缺损修复是利用了 FG 的粘合力,将散在的骨粉颗粒塑形,使其更加容易按照需要成形。在实验操作中发现,单独使用 Bio-oss 修复骨缺损,只能通过堆积的方法植入到缺损区,操作困难,容易将骨粉颗粒散落到缺损区以外的组织中,而使用 FG 对骨粉塑形后,不仅操作简单,可以根据缺损区的形状进行塑形修复,而且骨粉颗粒不易散落到软组织中。通过大体标本以及切片观察,使用 FG 对骨粉

塑形后,骨粉颗粒均匀的分布,与骨床结合紧密,软组织愈合良好,无免疫排斥反应以及炎症反应,说明FG具有较好的生物学活性。

本实验研究结果发现,Bio-oss+FG组的新生骨百分率比单纯使用Bio-oss组有所下降,说明FG在解决塑形的同时影响了成骨。造成这种结果的一种原因可能是FG抑制了Bio-oss颗粒之间早期血管的形成,阻碍了正常骨组织的形成,这与某些学者的报道相同^[1]。FG作为一种生物支架,可以加快血管及骨的生成,然而一些动物实验表明FG使用过量又能够阻止血管生成。有调查研究者提出大量使用纤维蛋白胶对细胞迁移,创口愈合,有负面影响^[8]。另一个原因可能是,Bio-oss本身没有骨诱导能力,它的作用只是体现在骨引导方面。根据引导骨组织再生技术(GBR)的原理——利用膜的生理屏障功能,阻止病损周围生长较快的纤维结缔组织长入病损区,消除其竞争性抑制作用,为病损区骨组织细胞的分化、增殖提供一个引导空间,提高骨缺损修复的质量和速度^[9],在生理状况下,骨组织的生长速度较周围纤维结缔组织慢,骨缺损区的纤维组织的长入必然会影 响骨缺损修复的质量。而Bio-oss在加入了FG后,位于骨粉颗粒之间的FG使单位体积骨粉颗粒之间的密度下降,由于FG在4周时就已经吸收^[4],骨粉颗粒之间原先被FG占据的空间容易被周围的纤维结缔组织长入,不能够维持成骨所必需的空间,不利于成骨。而且通过组织切片也发现,4周时Bio-oss组颗粒表面仅有少量新骨形成,新生骨把Bio-oss颗粒联接在一起形成桥连接样结构,可见成排的成骨细胞呈立方形,下方有骨基质,新骨形成活跃。8周时大量新骨形成,桥连接结构增多。12周时Bio-oss开始吸收,新骨更加成熟致密,骨髓腔更少。而Bio-oss复合FG组在4周时,新生骨比例极少,大部分是纤维组织包绕。8周、12周时才开始有较多的新骨形成。因此,推测FG的快速吸收导致骨粉颗粒之间的间隙增大,使纤维组织长入,成骨空间不能维持也可能是解释本实验结果的原因之一。

另外本实验还发现术后4、8、12周时拍摄X线,Bio-oss组和Bio-oss+FG组骨密度无明显差别,但是大体标本发现随着时间的推移,时间愈长,骨粉愈难剥离,组织切片也发现新生骨随着时间推移而增

加,说明骨密度还是有所差别,但是这种密度的改变使用X线观察很难区分。原因可能是FG造成单位体积内骨粉密度及新生骨量的差异,很难通过X线观察到密度的变化。所以单纯使用X线片评价缺损区的骨密度可能不够全面。

虽然通过FG的使用可以解决Bio-oss的塑形问题,但是却影响了成骨。本实验骨缺损范围仅1cm,随着骨缺损范围的增大对成骨量的影响可能进一步增大。设想如果在此基础上,利用GBR^[9]技术维持骨粉颗粒之间的空间或者加入具有骨诱导活性的BMP^[10]发挥骨诱导作用,是否可以解决影响成骨的问题,还有待进一步观察。

[参考文献]

- [1] 侯 颖. 修复牙槽骨缺损材料的研究进展[J]. 中国临床医药研究杂志,2004,131:14002-14004.
- [2] 傅小妮,季金苟. 双相钙磷生物陶瓷研究进展[J]. 化工进展,2004,23:158-161.
- [3] 曾垂省,陈晓明. 多孔生物陶瓷的制备与成型技[J]术. 佛山陶瓷,2004,6:36-38.
- [4] 4. Matsumoto K, Kohmura E, Kato A, et al. Restoration of small bone defects at craniotomy using autologous bone dust and fibrin glue[J]. Surg Neurol,1998,50: 344-346.
- [5] Yucel EA, Oral O, Olgac V, et al. Effects of fibrin glue on wound healing in oral cavity[J]. J Dent,2003,31: 569-575.
- [6] Schliephake H, Knebel JW, Aufderheide M, et al. Use of cultivated osteoprogenitor cells to increase bone formation in segmental mandibular defects; an experimental pilot study in sheep[J]. Int J Oral Maxillofac Surg,2001,30: 531-537.
- [7] Broggin N, McManus LM, Hermann JS, et al. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface[J]. J Dent Res,2006,85: 473-478.
- [8] Shah MA, Lopez JK, Escalante AS, et al. Dynamic splinting of forearm rotational contracture after distal radius fracture[J]. J Hand Surg,2002,27: 456-463.
- [9] Hosokawa R, Kikuzaki K, Kimoto T, et al. Controlled local application of basic fibroblast growth factor (FGF-2) accelerates the healing of GBR. An experimental study in beagle dogs[J]. Clin Oral Implants Res,2000,11: 345-353.
- [10] Stenport VF, Roos-Jansaker AM, Renvert S, et al. Failure to induce supracrestal bone growth between and around partially inserted titanium implants using bone morphogenetic protein (BMP): an experimental study in dogs[J]. Clin Oral Implants Res,2003,14: 219-225.

[收稿日期] 2001-01-20

[修回日期] 2007-05-31

[本文编辑] 曹 静,孙 岩