

局部应用阿伦磷酸钠对非负荷期种植体骨结合影响的X射线观察**

纪林林¹, 柳忠豪², 周文娟², 许胜²

Effect of topical application of alendronate on implant osseointegration in non-load period: A X-ray observation

Ji Lin-lin¹, Liu Zhong-hao², Zhou Wen-juan², Xu Sheng²

Abstract

BACKGROUND: As the third-generation of bisphosphonates, alendronate has a strong ability in inhibiting bone resorption.

OBJECTIVE: To study the effect of alendronate on non-load period bone around the implants.

METHODS: Six healthy adult Beagle dogs were randomly divided into experimental and control groups. The second and fourth premolar totally 24 tooth positions in bilateral mandibular from each dog were treated with immediate implant surgery at 1, 29, 43 and 50 days. Alendronate was local injected around the implant twice a week in the experimental group, but in the control group alendronate was instead by normal saline.

RESULTS AND CONCLUSION: X-ray film showed that implant osseointegration was in good condition at 57 days, and the formation of trabecular bone at 2 weeks around the implant in the experimental group was significantly earlier than that in the control group. It is indicated that alendronate can promote the early formation of trabecular, thus affecting the bone remodeling to increase the osseointegration at non-load period around the implants.

Ji LL, Liu ZH, Zhou WJ, Xu S. Effect of topical application of alendronate on implant osseointegration in non-load period: A X-ray observation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(9): 1573-1576. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

¹Graduate School of Binzhou Medical College, Yantai 264003, Shandong Province, China; ²Stomatological Hospital of Yantai, Yantai 264008, Shandong Province, China

Ji Lin-lin★, Studying for master's degree, Graduate School of Binzhou Medical College, Yantai 264003, Shandong Province, China dichenji007@163.com

Correspondence to: Liu Zhong-hao, Associate chief physician, Master's supervisor, Stomatological Hospital of Yantai, Yantai 264008, Shandong Province, China dentlzh@163.com

Supported by: the Natural Science Foundation Project of Shandong Province, No. Y2008C43*

Received: 2011-11-30 Accepted: 2011-12-10

摘要

背景: 阿伦磷酸钠作为第3代二膦酸盐, 具有很强的抑制骨吸收的能力。

目的: 研究阿伦磷酸钠对非负荷期种植体周围骨结合的影响。

方法: 取健康成年 Beagle 犬 6 只, 随机等分为实验组和对照组, 选取每犬的双侧下颌第二、四前磨牙共计 24 牙位, 于实验第 1, 29, 43, 50 天分别行即刻种植手术。实验组于种植体周围局部注射阿伦磷酸钠, 对照组注射生理盐水, 每周 2 次。

结果与结论: 于实验第 57 天进行 X 射线显示种植体骨结合情况良好, 实验组 2 周时即可见到种植体周围骨小梁的形成, 明显早于对照组。提示阿伦磷酸钠可促进种植体周围骨组织中骨小梁的早期形成, 从而影响种植体周围骨改建, 提高非负荷期种植体周围骨结合。

关键词: 阿伦磷酸钠; 骨结合; 种植体周; 非负荷期; 二膦酸盐

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.09.013

纪林林, 柳忠豪, 周文娟, 许胜. 局部应用阿伦磷酸钠对非负荷期种植体骨结合影响的 X 射线观察[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(9):1573-1576. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

近几十年来, 种植体支持的义齿修复因其高度的舒适与美观受到越来越多缺牙患者的青睐, 并且在临床上已经取得了很高的成功率^[1]。而种植成功的关键所在是种植体与周围骨组织要形成良好的结合。如何提高种植体的骨结合率并加快种植体周围新骨的生成, 成为临床医生迫切需要解决的问题。二膦酸盐作为一种良好的骨吸收抑制剂^[2], 已广泛应用于许多医学领域。而阿伦磷酸钠作为第3代二膦酸盐的代表药物, 其抑制骨吸收的能力也比第1, 2代膦酸盐明显增强^[3]。

本文通过动物实验观察实验组局部应用阿伦磷酸钠后种植体周围骨结合的情况, 以探讨阿伦磷酸钠对非负荷期种植体骨结合的影响。

1 材料和方法

设计: 随机对照, 动物实验。

时间及地点: 于2011-08/10在山东省绿叶天然药物工程技术研究中心实验室完成。

材料:

实验动物: 雄性健康成年Beagle犬6只, 犬龄1.0~2.0岁, 体质量10~12 kg, 实验动物级别为SPF, 购自山东省绿叶天然药物工程技术研究中心。实验符合伦理学要求。

主要试剂与仪器:

试剂及仪器	来源
阿伦磷酸钠标准品	石家庄制药集团
ITI 螺纹柱形纯钛种植体 (D3.3/L 8 mm)	瑞士 SLA [®] , Straumann 公司
X 射线牙片机	法国赛特力 X-MIND DC

¹滨州医学院研究生院, 山东省烟台市 264003; ²烟台市口腔医院, 山东省烟台市 264008

纪林林★, 女, 1981 年生, 山东招远人, 滨州医学院在读硕士, 主要从事种植牙周方面的研究。
dichenji007@163.com

通讯作者: 柳忠豪, 副主任医师, 硕士研究生导师, 烟台市口腔医院, 山东省烟台市 264008
dentzh@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)09-01573-04

收稿日期: 2011-11-30
修回日期: 2011-12-10
(20111110009/YJ·G)

方法:

分组: 将6只犬随机分为实验组和对照组, 每组3只。选取每犬的两侧下颌第二、四前磨牙共计24牙位, 实验组和对照组各12牙位。

纯钛种植体的种植: 按实验时间点将实验分为1周、2周、4周、8周组。并于第1(8周组)、29(4周组)、43(2周组)、50(1周组)天在动物全麻下行拔牙+即刻种植手术^[4-5], 每个时间点所有犬各取1个牙位, 种植位点由随机数字表得出。种植体植入方式为埋入式, 种植后不负载。

干预: 实验组犬在种植后于种植位点颊、舌侧正中膜龈联合处偏近中45°注射阿伦磷酸钠各50 μL, 浓度为500 μmol/L, 每周2次。对照组注射等量生理盐水。

大体观察: 于实验第57天处死所有犬, 下颌骨40 g/L多聚甲醛固定。检查种植体周围软组织有无红肿、破溃、溢脓等, 用小锤轻轻敲击种植体顶端, 若敲击声清脆, 则种植体无松动; 若敲击声沉闷, 则种植体存在动度。

X射线观察: 通过X射线观察实验组与对照组种植体与骨组织之间的间隙, 种植体周骨密度以及种植体周骨质吸收状况。

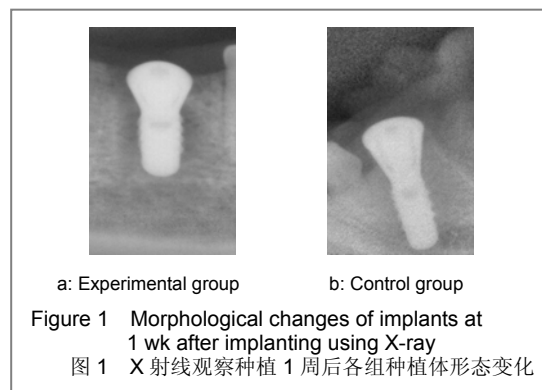
主要观察指标: 种植体及其周围形态变化。

2 结果

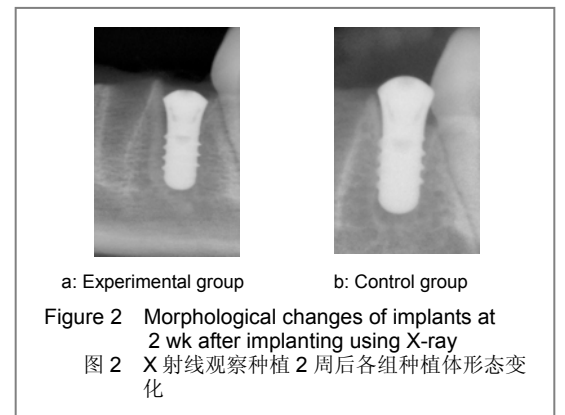
2.1 实验动物数量分析 整个实验过程中实验动物状态良好, 无一病亡, 所有试验动物均进入结果分析。

2.2 种植体及其周围大体形态变化 所有种植体均未见脱落或松动, 以小锤轻敲种植体顶端, 敲击声清脆。种植体周围软组织亦无红肿、破溃、溢脓等现象。所有实验动物处死后, 取下颌骨标本进行观察, 24颗种植体均无松动。

2.3 种植体及周围骨X射线表现变化 1周时实验组与对照组种植体周均可见线性低密度影, 根尖部无明显透射影, 见图1a, b。

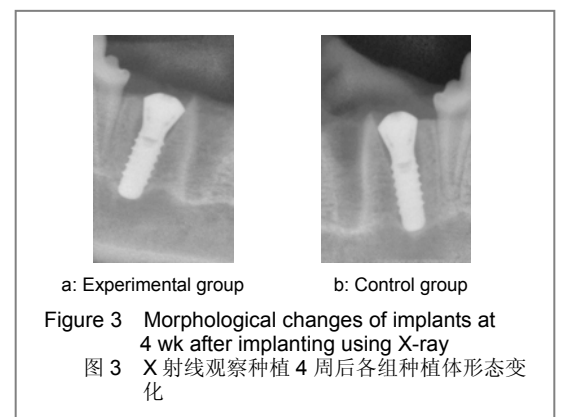


2周时种植体周围骨密度仍较低, 但实验组种植体周围可见稀疏骨小梁, 对照组种植体周围骨小梁不明显, 见图2a, b。



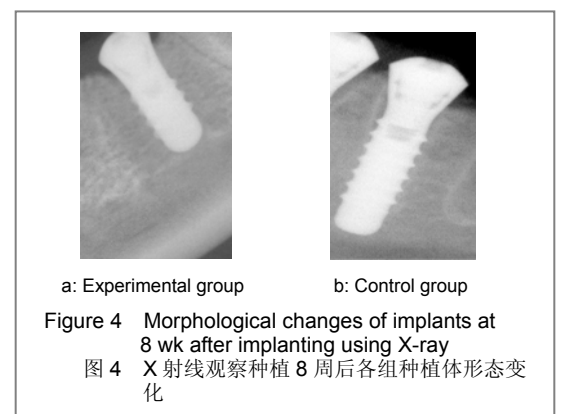
4周时实验组与对照组种植体周围骨密度明显增高, 未见明显冠根向透射影。

实验组可见明显骨小梁, 结构清晰, 见图3a。而对照组可见稀疏骨小梁结构, 见图3b。



8周时实验组种植体周围骨组织可见致密骨小梁结构, 种植体-骨界面形成明显骨结合, 颈部未见骨吸收。

对照组种植体周围骨组织可见明显骨小梁结构, 种植体-骨界面形成部分骨结合, 局部骨密度稍低, 见图4a, b。



3 讨论

3.1 实验动物的选择 目前可用于牙种植相关研究的实验动物很多, 包括大鼠、兔、犬、羊、猴等。大鼠和兔通常选用其胫骨或股骨进行种植^[6-8], 因其不能很好地模拟口内环境, 故本实验未选; 猴等灵长类动物的颌面发育特点最接近人类, 但因其价格昂贵且来源有限, 也未被选用; 羊则因其替牙期受诸多因素影响不稳定, 故亦未被选用; **Beagle**犬性情温和、体型小巧、对环境适应能力强、下颌骨质量与人类相近, 且来源较广、价格适中, 故被选为本研究实验动物。本实验选取的实验对象是**Beagle**犬的下颌骨, 与胫骨和股骨相比, 下颌骨更能模拟人类的口腔环境, 因而更具研究价值。

3.2 阿伦膦酸钠对种植体骨结合的影响 二膦酸盐自从40多年前被发现对于骨代谢的潜在作用以来, 已成为临床上最重要、最成功的抑制骨吸收的药物之一。目前已被用于预防及治疗多种骨骼疾病, 包括骨质疏松症、佩吉特病、转移性骨肿瘤、成骨不全、高钙血症等。同时, 二膦酸盐由于其优秀的骨组织亲和力及显著的骨吸收抑制能力被应用于口腔领域^[9-10]。1969年, 有学者首先在细胞培养与体内实验中发现了二膦酸盐可以抑制羟基磷灰石的降解^[11]。后又有学者在对甲状腺-甲状旁腺切除大鼠使用二膦酸盐后也发现其可以有效地抑制低甲状旁腺素血症所导致的过度的骨吸收^[12]。从此, 大量实验开始致力于研究二膦酸盐对骨重建尤其是抑制骨吸收方面的作用。经研究发现二膦酸盐抑制骨吸收的作用主要是通过对破骨细胞的调控来实现的^[13], 但具体分子机制尚不明确。学者们发现二膦酸盐的主要作用机制是其吸附于骨质, 随破骨细胞的破骨作用而进入细胞内, 通过抑制破骨细胞特定代谢的关键酶而抑制整个细胞的功能^[14]。后有实验证明, 二膦酸盐能吸附在矿物质结合位点上, 干扰破骨细胞附着, 导致破骨细胞超微结构发生变化^[15], 从而调控骨的改建。骨组织中二膦酸盐量的堆积并不会引起其抗骨吸收作用的累加, 只有结合于骨小梁表面的二膦酸盐才具有活性。二膦酸盐由一个碳原子连接两个膦酸残基, 其与骨矿盐结合及阻止羟基磷灰石晶体增长、降解的能力与其侧链的基团有关, 并依赖于两个膦酸基团的存在^[16]。目前, 人工合成的二膦酸盐已达300种, 其主要差异只是碳原子侧链基团的不同。但只有十几种二膦酸盐可以药用, 称为二膦酸盐类药物。二膦酸盐根据其化学结构的不同可分为3代: 第1代二膦酸盐侧链为直链基团, 代表药物为依替膦酸盐; 第2代二膦酸盐在侧链的直链基团中加入了氮原子, 代表药物包括氯替膦酸盐、帕米膦酸盐等; 第3代二膦酸盐具有环形侧链, 代表药物包括阿伦膦酸盐及伊本膦酸盐等^[17]。随着新一代二膦酸盐的不断开发, 其抑制骨吸

收的效果也不断增强。

本实验所用的阿伦膦酸钠为第3代二膦酸盐的代表药物。**Duarte**等^[18]学者曾在动物实验中发现阿伦膦酸钠可以抑制雌激素所导致的种植体周围骨结合的不良反应, 由此得出结论阿伦膦酸钠可以促进种植体的骨结合。后来也有学者在兔的实验中证实全身应用二膦酸盐可提高钛种植体的骨结合率^[19]。

本实验通过X射线观察应用阿伦膦酸钠后种植体周围骨改建的情况, 并与对照组比较。从实验结果可以看出, 实验组骨小梁早期形成时间是在实验第2周, 而此时对照组的骨小梁结构尚不明显, 这可能是因为阿伦膦酸钠对破骨细胞的抑制在第2周时开始显现, 实验第1周时尚不明显; 实验第4, 8周时, 实验组骨小梁的致密程度和数量就优于对照组, 即实验组的骨结合情况均要好于对照组, 此时阿伦膦酸的对破骨细胞的作用持续显现, 抑制破骨细胞分化, 从而促进新骨生成, 使种植体与骨产生结合, 达到非负荷期种植体的稳定。因而本实验的结果与之前的研究结果相吻合。

3.3 阿伦膦酸钠的用药方式及剂量 二膦酸盐类药物能以口服或静脉方式给药。口服给药极难吸收, 吸收率仅1%~10%^[20]。近年来有学者在动物实验中尝试局部给药, 结果表明其作用比全身给药效果显著^[21]。由于全身用药的局限, **Meraw**等^[22]在动物实验中将二膦酸盐涂层的种植体植于**Beagle**犬的颌骨内, 观察二膦酸盐对种植体周围骨改建的影响, 种植后一个月的骨切片结果表明实验组种植体周围骨形成的速度及骨结合率明显高于对照组, 这也表明局部用药的方法是可行的。但制作药物涂层种植体的工艺复杂, 临床操作比较困难。后来, **Jakobsen**等^[21]学者在动物实验中将二膦酸盐直接用于种植窝内, 观察其对种植体骨结合的影响, 发现实验组种植体周围皮质骨和松质骨的量以及种植体表面与骨结合的面积较对照组均有明显增加。这项研究表明二膦酸盐的局部应用可增加早期种植体骨结合。但如何寻求一种更合理有效的给药方式, 这是需要解决的问题。本实验采用局部粘骨膜下注射, 这种给药方式临床操作简单, 且药物局部吸收效果较好, 药效持久。**Igarashi**等^[23]学者通过实验证实, 二膦酸盐在浓度为500 μmol/L时抑制骨吸收的能力最强。国内的某些学者也尝试用过此浓度的二膦酸盐, 观察其抑制骨吸收的效果, 跟之前研究的结果一致^[20]。故本实验采用药物浓度为500 μmol/L。

从之前详述的实验结果可以看出, 本实验采用的局部给药方式及剂量是可行的, 且对非负荷期种植体骨结合的影响效果明显。但阿伦膦酸钠的对骨结合影响的具体机制尚不明确, 应从分子水平上进行更深入的研究。本实验过程中实验组动物注射阿伦膦酸钠后未出现骨坏死的情况, 在临床应用中应如何避免颌骨坏死, 这是在以后的研究中需要解决的问题。阿伦膦酸钠对负荷期

种植体的骨结合会产生什么样的影响, 这也有待于进一步的实验研究。

4 参考文献

- [1] Lin Y, Li JH, Qiu LX, et al. Zhonghua Kouqiang Yixue Zazhi. 2006; 41(3):131-135.
林野, 李健慧, 邱立新, 等. 口腔种植修复临床效果十年回顾研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2006, 41(3):131-135.
- [2] Kanakis I, Kousidou OCh, Karamanos NK. In vitro and in vivo antiresorptive effects of bisphosphonates in metastatic bone disease. In Vivo. 2005;19(1):311-318.
- [3] Pellegrini M, Bisello A, Rosenblatt M, et al. Conformational studies of RS-66271, an analog of parathyroid hormone-related protein with pronounced bone anabolic activity. J Med Chem. 1997; 40(19):3025-3031.
- [4] Lu BL, Liu BL, Chen XW, et al. Huaxi Kouqiang Yixue Zazhi. 1997; 15(4):319-320.
卢丙仑, 刘宝林, 陈小文, 等. 即刻种植动物模型的建立及意义[J]. 华西口腔医学杂志, 1997, 15(4):319-320.
- [5] Ma Y, He HY, Hu Y, et al. Xinjiang Yike Daxue Xuebao. 2009;32(4): 412-414.
马莹, 何惠宇, 胡杨, 等. 即刻种植骨界面结合的 beagle 犬动物模型的建立[J]. 新疆医科大学学报, 2009, 32(4):412-414.
- [6] Wang Y, Jia GD, Pan KF, et al. Xiandai Kouqiang Yixue Zazhi. 2006;20(5):526-530.
王艺, 贾国栋, 潘可风, 等. 阿伦膦酸钠与雌激素对实验性骨质疏松大鼠种植体骨结合作用的比较研究[J]. 现代口腔医学杂志, 2006, 20(5): 526-530.
- [7] Che DC, Zhang XM, Guo J. Shandong Yiyao. 2008;48(22):34-35.
车道闯, 张新明, 郭杰. 糖尿病对大鼠种植体周围 OPG 和 RANKL 表达的影响[J]. 山东医药, 2008, 48(22):34-35.
- [8] Wang L, Zhou YM, Li CY, et al. Kouqiang Yixue Yanjiu. 2010;26(2): 161-163.
王林, 周延民, 李春艳, 等. Alendronate 对骨质疏松兔种植体骨整合影响的扫描电镜观察[J]. 口腔医学研究, 2010, 26(2):161-163.
- [9] Tokugawa Y, Shirota T, Ohno K, et al. Effects of bisphosphonate on bone reaction after placement of titanium implants in tibiae of ovariectomized rats. Int J Oral Maxillofac Implants. 2003;18(1): 66-74.
- [10] Narai S, Nagahata S. Effects of alendronate on the removal torque of implants in rats with induced osteoporosis. Int J Oral Maxillofac Implants. 2003;18(2):218-223.
- [11] Fleisch H, Russell RG, Francis MD. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. Science. 1969;165(3899):1262-1264.
- [12] Russell RG, Mühlbauer RC, Bisaz S, et al. The influence of pyrophosphate, condensed phosphates, phosphonates and other phosphate compounds on the dissolution of hydroxyapatite in vitro and on bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture and in thyroparathyroidectomised rats. Calcif Tissue Res. 1970;6(3):183-196.
- [13] Fleisch H. Bisphosphonates. Pharmacology and use in the treatment of tumour-induced hypercalcaemic and metastatic bone disease. Drugs. 1991;42(6):919-944.
- [14] Benford HL, Frith JC, Auriola S, et al. Farnesol and geranylgeraniol prevent activation of caspases by aminobisphosphonates: biochemical evidence for two distinct pharmacological classes of bisphosphonate drugs. Mol Pharmacol. 1999;56(1):131-140.
- [15] Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. Cancer. 2000;88(12 Suppl):2961-2978.
- [16] Ebetino F, Francis M, Rogers M, et al. Mechanisms of action of etidronate and other bisphosphonates. Rev Contem Phar. 1998; 9:233-244.
- [17] Mou JX, Shen B. Zhongguo Jiaoxing Waike Zazhi. 2007;15(1): 42-45.
牟健雄, 沈彬. 二磷酸盐骨科临床应用的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2007, 15(1):42-45.
- [18] Duarte PM, de Vasconcelos Gurgel BC, Sallum AW, et al. Alendronate therapy may be effective in the prevention of bone loss around titanium implants inserted in estrogen-deficient rats. J Periodontol. 2005;76(1):107-114.
- [19] Yildiz A, Esen E, Kürkçü M, et al. Effect of zoledronic acid on osseointegration of titanium implants: an experimental study in an ovariectomized rabbit model. J Oral Maxillofac Surg. 2010;68(3): 515-523.
- [20] Liu C, Sun XH, Chen YP, et al. Zhonghua Kouqiang Yixue Zazhi. 2002;37(4):290-293.
刘畅, 孙新华, 陈远萍, 等. 局部运用二磷酸盐对鼠正颌牙移动影响的研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2002, 37(4):290-293.
- [21] Jakobsen T, Kold S, Bechtold JE, et al. Local alendronate increases fixation of implants inserted with bone compaction: 12-week canine study. J Orthop Res. 2007;25(4):432-441.
- [22] Meraw SJ, Reeve CM, Wollan PC. Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. J Periodontol. 1999;70(2): 151-158.
- [23] Igarashi K, Adachi H, Mitani H, et al. Inhibitory effect of the topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats. J Dent Res. 1996;75(9):1644-1649.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 山东省自然科学基金项目计划(Y2008C43), 局部应用阿伦膦酸钠对非负荷期种植体骨结合的影响。

作者贡献: 柳忠豪进行实验设计, 实验实施为纪林林、周文娟、许胜, 实验评估为柳忠豪, 资料收集为纪林林, 纪林林成文, 柳忠豪审校, 纪林林对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

本文创新性: 选题新颖, 采用局部给药方式简便易行, 且避免了全身用药吸收少的缺点。本实验所选用的阿伦膦酸钠是二磷酸盐中抗骨吸收能力最强的。本实验选 beagle 犬的下颌骨, 能更真实地模拟人的口腔环境。