

PRP 与 CPC 应用于拔牙后种植位点保存的实验研究

王屹博 史久慧 丁超 郭盛

(哈尔滨医科大学附属口腔医院口腔种植中心 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的 探讨磷酸钙骨水泥(CPC)与富血小板血浆(PRP)混合物应用于拔牙后种植位点保存的可行性。方法 拔除6只犬下颌双侧第三切牙与一侧第一切牙,并于每只犬的3个拔牙窝颊舌侧骨壁分别制造2 mm×2 mm×3 mm缺损,随机在两个牙槽窝内分别植入CPC或CPC与PRP的混合物,第三个不加处置作对照,在术后4、8、12周各处死两只动物,行大体、X线、显微镜观察,比较各组的新骨生成情况。结果 术后4周时CPC/PRP混合物组骨形成早于其他组,8、12周时CPC/PRP混合物组新骨生成明显优于CPC组和对照组。结论 CPC混合PRP可促牙槽窝新骨生成并能保证成骨的高度和颊舌向宽度,从而为后期种植义齿修复提供了必要的条件。

关键词 磷酸钙骨水泥 富血小板血浆 种植位点保存

中图分类号 R783.4 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)18-3436-03

Experimental Study of Application of PRP and CPC on Implant Site Preservation after Tooth Extraction

WANG Yi-bo, SHI Jiu-hui, DING Chao, GUO Sheng

(Department of Implantology, Hospital of Stomatology, Harbin Medical University, Heilongjiang, Harbin 150001, China)

ABSTRACT Objective: To study the feasibility of application of calcium phosphate cement (CPC) and platelet rich plasma (PRP) complex in implant site preservation after tooth extraction. **Methods:** The mandibular bilateral third incisors and the first incisor of one side of six dogs were extracted. For each dog, the edentulous regions of 2mm×2mm×3mm size were created, respectively, on the buccal and lingual bone walls. CPC and CPC/PRP complex were randomly implanted into two of the alveolar nest and no operation with the third one as control group. Six dogs were killed respectively on 4 weeks, 8 weeks and 12weeks after operation, two dogs each time. The clinical check, radiology and bone histomorphology analysis were conducted to compare the status of new bone formation. **Results:** The bone formation of CPC/PRP complex group is earlier than the others on 4 weeks after operation. On 8 and 12weeks after operation, the new bone formation of CPC/PRP complex group is superior to CPC group and control group too. **Conclusions:** CPC/PRP complex promotes new bone formation of alveolar fossa and guarantees bone height and buccolingual width, which provides necessary conditions for denture implantation later.

Key words: Calcium phosphate cement; Platelet rich plasma; Implant site preservation

Chinese Library Classification(CLC): R783.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)18-3436-03

前言

在种植义齿日渐发达的今天,拔牙后拔牙窝的成骨质量的高低是影响种植区骨量和骨质的重要因素之一,也就成为了能否于拔牙后采用种植修复的必要条件和种植修复成功的保证。据纽约大学牙种植中心报道,欲求种植义齿修复却不能接受治疗的患者中^[1]有90%缘于牙槽骨骨量不足或拔牙后成骨质量不佳。拔牙同期进行的牙槽窝植骨术和引导骨组织再生术^[2],可于拔牙同期操作并随着拔牙创的愈合而完成,因其不会增加手术创伤或延长治疗时间,所需费用较低等原因,越来越受到广大临床医生的重视。CPC是一种新型植骨材料,可原位固化、生物相容性好、有骨引导活性并在体内可生物降解。富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是自体源性、浓缩的含血小板的血浆。PRP富含血小板分泌的七种与所有创伤愈合过程

有关的蛋白生长因子。这些因子对促进细胞的增殖与分化及组织的形成有着极其重要的作用^[3-7],被应用于修复种植区骨缺损并取得了较好的效果^[8-10]。本实验拟将CPC与PRP相结合应用于拔牙后牙槽窝引导骨组织再生,以单纯CPC和空白组为对照,通过大体观察、X线、组织学切片,观察其引导拔牙窝骨再生的效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

6只健康成年雄性杂种犬,体重19-22千克,1.5-2岁(哈医大一院动物学部),每只犬颌骨的三个拔牙窝按植入物不同随机分为以下3组:PRP/CPC组、CPC组和空白组。

1.2 实验材料

磷酸钙骨水泥(粉末型 上海瑞邦公司),凝血酶(武汉海特生物制药有限公司),血液离心机。

1.3 动物实验

1.3.1 CPC的制备 取1克细颗粒状CPC置于研皿内,按比例

作者简介 王屹博(1980),女,硕士,医师,从事口腔种植临床和基础研究。电话:13352506090, E-mail: wyb408@126.com
(收稿日期:2011-12-30 接受日期:2012-01-25)

加入配置缓冲液,充分调制制成半定型状,备用。

1.3.2 PRP 混合物的制备 从狗的前肢内侧头静脉抽取静脉血 6 mL;用 Kim^[11] 的二次离心法作为 PRP 的制备方法得约 0.6 mL PRP,利用全自动血细胞计数仪和人工计数对全血和 PRP 进行血小板计数:平均外周血小板数为 $3.12 \times 10^9/L$ ($2.22-4.46 \times 10^9/L$), PRP 血小板数为 $13.61 \times 10^9/L$ ($9.72-19.20 \times 10^9/L$),血小板平均浓度 4 倍以上,达到了 PRP 血小板浓度程度的要求。在即将植入前,将 0.3 mL PRP 与 500 U 牛凝血酶、调制好的 CPC 充分混合,形成粘性复合物。

1.3.3 手术方法 用 3% 戊巴比妥钠按 1 mL/kg 的剂量将犬行静脉注射麻醉,于工作台固定,常规消毒铺巾,拔除其下颌双侧第三切牙与一侧第一切牙,随即于每个拔牙窝颊舌侧骨壁分别制造 2 mm×2 mm×3 mm 缺损,根据实验设计向牙槽窝内植入材料,使 PRP/CPC 组与 CPC 组植入材料的高度与牙槽窝近远中骨壁高度一致,充分分离拔牙窝颊舌侧牙龈,减张缝合。术后动物肌注青霉素 3 日,80 万 U/次,2 次/日。术后半流食饲养 2 周。

1.3.4 组织学标本制备 分别于术后 4、8、12 周各处死 2 只犬,分离下颌骨,切成标本块,树脂包埋,硬组织切片,厚度 100 微米,甲苯胺蓝染色。

2 结果

2.1 大体标本观察

术后 4 周,三组的牙槽窝内均可见新骨生成 PRP/CPC 组与 CPC 组新生骨的高度均几乎与近远中牙槽骨壁相平齐,而空白组牙槽窝内的新骨生成较少且仅与缺损的颊舌侧骨壁相平齐 PRP/CPC 组新骨内未被吸收的 CPC 颗粒较少,相比之下 CPC 组残留的未吸收颗粒很多。术后 8 周,PRP/CPC 组的牙槽

窝完全被新骨覆盖,未见肉眼所见的残存植骨材料 CPC 组仍可见少许未被吸收的植骨材料 空白组的牙槽窝内的新骨形成增多,但高度与 4 周时无明显差异。术后 12 周,PRP/CPC 组与 CPC 组均未见残存的植骨材料 洛组的新生骨高度均较 4 周与 8 周时有所下降。

2.2 X 线观察

术后 4 周,牙槽窝处的骨密度 PRP/CPC 组与周围骨组织相比略高 CPC 组高于 PRP/CPC 组;而空白对照组低于骨组织。术后 8 周,PRP 组牙槽窝新生骨与周围骨组织之间未见明显界限 CPC 组密度仍略高于周围骨组织,但较 4 周时有所降低 空白组的密度仍略低于周围骨组织,但对比较 4 周时相比已不明显。术后 12 周,各组的 X 线片上均不见牙槽窝的影像。

2.3 组织学观察

术后 4 周,PRP/CPC 组的充填物已被纤维结缔组织分割成小块,大部分已经吸收并已经开始膜内化骨的过程,形成许多骨岛,但未完全连接成片 CPC 组的充填物的吸收不如 PRP/CPC 组完全,还有部分较大的未被分割吸收的充填物 初始膜内化骨,可见骨岛明显较 PRP/CPC 组少 空白组大部分牙槽窝内几乎被纤维结缔组织占据,偶见个别骨岛。术后 8 周,PRP/CPC 组充填物进一步被吸收,骨岛大部分连接成片(图 1A) CPC 组充填物被分割吸收,所残存充填物已剩小块,形成的骨岛渐连成片(图 1B) 空白组纤维结缔组织中形成骨岛(图 1C)。术后 12 周,在各组牙槽窝内均充满新生骨,而且与原牙槽窝宿主骨的界限不明显。新生骨主要为成熟的编织骨,可见大量的基本骨单位和一些次级骨单位。PRP/CPC 组与空白组比较,骨成熟度在牙槽窝根部骨小梁的密度似乎较高。在 CPC 和 PRP/CPC 组未见明显残留的植入材料。

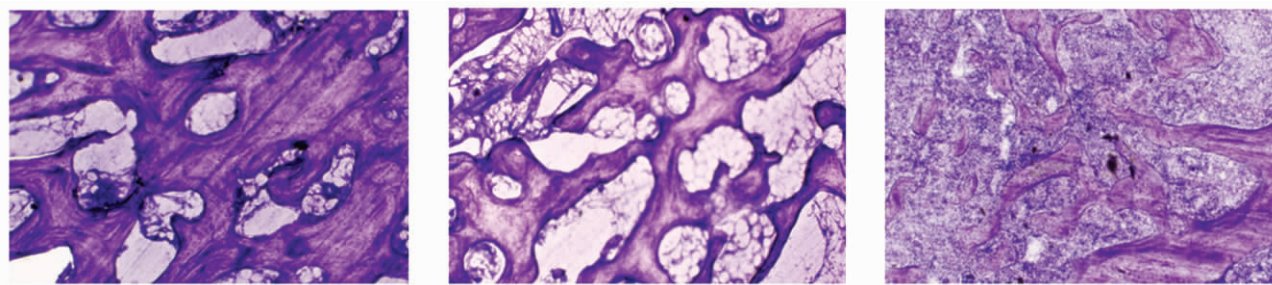


图 1 8 周时,各组新生骨生长状态(甲苯胺蓝,×40) A: PRP/CPC 组 B: CPC 组 C: 空白组

Fig. 1 Status of newly grown bone in each group for 8 weeks (toluidine blue, ×40)

A: PRP/CPC groups B: CPC groups C: Control groups

3 讨论

富血小板血浆的促成骨作用是近些年来临床研究的热点课题。自 1998 年 Marx 应用 PRP 于骨移植的临床报道发表以来,一些骨科、颌面外科的医师不断尝试将 PRP 用于骨缺损修复^[12-17]。然而,也存在着一些不同的看法^[18,19]。本实验的支架成分主要是磷酸钙骨水泥,是一种可吸收生物相容性材料,其自固化的特征为拔牙创内骨的生长提供了支架。为了证实 CPC/PRP 复合物对牙槽窝骨再生的作用,本实验对不同时间点的新生骨情况进行了验证 结果表明术后 4 周是牙槽窝内的肉芽组织被

结缔组织替代,新骨开始形成时期 8 周是新骨基本充满拔牙创的时期;12 周是新生骨经历骨改建基本完成的时期。这三个时期的新骨生成情况反映了在成骨的不同阶段材料对拔牙创内骨形成的影响。植入 CPC/PRP 复合物的牙槽窝较正常愈合的牙槽窝一直表现出更高的骨生长活性,提示 CPC/PRP 复合物更能促进牙槽窝的新骨形成。PRP 富含生长因子,这些生长因子可以趋化和活化巨噬细胞,虽然血小板在体内的生存期只有 5 天,5 天后巨噬细胞逐渐代替血小板成为生长因子的主要来源,如此形成集联放大效应,从而加速了拔牙创骨的生成。本实验发现 PRP 在术后第 4 周表现出促进骨愈合的效应,这说

明 PRP 有可能加速了拔牙窝骨愈合的启动。以往的研究发现 PDGF 是骨愈合的启动中的关键因子,而 PDGF 正是 PRP 所含的主要生长因子之一,提示了 PRP 在骨形成的早期发挥效应的可能性。理想的骨充填材料的吸收速度应与新骨生成的速度一致。本实验中第四周充填物吸收分解成小颗粒,第 12 周充填物已经完全吸收,此时应为牙槽骨正常愈合骨改建完成时期,由此可见 CPC/PRP 复合物没有阻碍新骨的生成,其吸收速度可能与骨形成的速度接近。由于本研究为试探性实验,样本量较少,在将来的研究中需要更多的样本量进行统计学分析。同时本研究仅对 PRP 联合 CPC 对拔牙创骨代谢影响的效应进行研究,其对拔牙创骨代谢的具体影响机制尚待进一步研究^[20]。

参考文献 (References)

- [1] Ashman A. Postextraction ridge preservation using a synthetic alloplast [J]. *Implant Dent*, 2000, 9(2): 168-176
- [2] Batee BK. Extraction site reconstruction for alveolar ridge preservation. Part 2: membrane-assisted surgical technique [J]. *J Oral Implants*, 2001, 27: 194-197
- [3] 张洪涛,蔡道章,刘康.富血小板血浆对人骨髓间充质干细胞成骨诱导的影响 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009,13 (6): 1045-1048
Zhang Hong-tao, Cai Dao-zhang, Liu Kang. Platelet-rich plasma effects on osteogenic induction of human bone marrow mesenchymal stem cell [J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2009, 13(6): 1045-1048
- [4] Pradeep AR, Pai S, Garg G, et al. A randomized clinical trial of autologous platelet-rich plasma in the treatment of mandibular degree II furcation defects[J]. *J Clin Periodontol*, 2009, 36(7): 581-588
- [5] Powell CA, Bannister SR, Mackey SA, et al. Periodontal wound healing with and without platelet-rich plasma: histologic observations and assessment of flap tensile strength [J]. *J Periodontol*, 2009,80 (6): 985-992
- [6] Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, et al. A surgical reentry study on the influence of platelet-rich plasma in enhancing the regeneration effects of bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans [J]. *J Periodontol*, 2009, 80(6): 915-923
- [7] Plachokova AS, van den Polder J, van den Beucken JJ, et al. Bone regeneration properties of rat, goat and human platelet-rich plasma[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2009, 38(8):861-869
- [8] Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implant [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1999,14(4):529-535
- [9] Anitua E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery [J]. *Pract Proced Aesthet Dent*, 2001, 13(6): 487-493
- [10] Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2002,17(2):184-190
- [11] Kim SG, Chung CH, Kim YK, et al. Use of particulate dentin-paste of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2002, 17(1):86-94
- [12] Yamada Y, Ueda M, Hibi H, et al. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report[J]. *Int J periodontics Restorative Dent*, 2006,26(4):363-369
- [13] Gandhi A, Doumas C, O'Connor JP, et al. The effects of local platelet-rich plasma delivery on diabetic fracture healing [J]. *Bone*, 2006,38(4):540-546
- [14] Simman R, Heffmann A, Bohinc RJ, et al. Role of platelet-rich plasma in acceleration of bone fracture healing [J]. *Ann Plast Surg*, 2008,61 (3):337-344
- [15] Messori MR, Nagata MJ, Dornelles RC, et al. Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma activated by two different methods. A histologic and histometric study in rat calvaria[J]. *J Periodontal Res*, 2008,43(6):723-729
- [16] Antoun H, Bouk H, Ameer G. Bilateral sinus graft with either bovine hydroxyapatite or beta tricalcium phosphate, in combination with platelet-rich plasma: a case report [J]. *Implant Dent*, 2008,17 (3) 350-359
- [17] Kasten P, Vogel J, Beyen I, et al. Effect of platelet-rich plasma on the invitro proliferation and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on distinct calcium phosphate scaffolds: the specific surface area makes a difference[J]. *J Biomater Appl*, 2008,23 (2):169-188
- [18] Choi BH, Im CJ, Huh JY, et al. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft [J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2004,33(1):56-59
- [19] Agbaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2002, 60(10):1176-1181
- [20] Kawase T, Okuda K, Wolff LE, et al. Platelet-rich plasma-derived fibrin clot formation stimulates collagen synthesis in periodontal ligament and osteoblastic cells in vitro [J]. *J Periodontol*, 2003,74 (6): 858-864