

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2016.03.003

兔双侧上颌窦提升动物模型的建立*

封伟¹ 张士剑² 赵茜³

(¹ 济宁医学院附属医院, 济宁 272029; ² 泰安市中心医院, 泰安 271000;

³ 辽宁省人民医院, 沈阳 110000)

摘要 **目的** 建立兔双侧上颌窦提升动物模型, 为上颌窦提升植骨材料的评价研究提供方法。**方法** 健康成年日本大白兔 9 只, 每只兔行双侧上颌窦提升术, 一侧上颌窦提升术区植入生物骨粉, 记为实验侧, 另一侧上颌窦提升术区不植骨, 记为对照侧, 分别于术后 2、4、8 周处死动物各 3 只, 取完整兔上颌骨标本, 进行大体观察、X 线检查、组织学评价。**结果** 所有实验动物术后恢复良好, 均存活至取材, X 线检查各时间点实验侧骨密度高于对照侧; 组织学观察显示植入骨粉区新生骨组织增加, 实验侧在各时间点的新生骨量均优于对照侧。**结论** 兔有理想的上颌窦提升解剖条件, 建立兔双侧上颌窦提升动物模型的方法是可行的。

关键词 兔; 上颌窦提升; 动物模型

中图分类号: R738.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2016)06-161-04

Establishment of an animal model for bilateral maxillary sinus elevation in rabbits

FENG Wei¹, ZHANG Shijian², ZHAO Qian³

(¹ Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029; ² Central Hospital of Taian,

Taian 271000; ³ People's Hospital of Liaoning Province, Shenyang 110000, China)

Abstract: Objective To establish an animal model for bilateral maxillary sinus elevation in rabbits and to provide methods for assessment of bone graft materials in maxillary sinus elevation. **Methods** Nine adult Japanese white rabbits were used in the experiment and bilateral maxillary sinus of every rabbit were elevated, in which one side in bilateral sinus floor elevation with biological bone was the test side and the other side without material was control side. Three rabbits were sacrificed at 2, 4 and 8 weeks after operation, respectively. These specimens were treated for gross inspection, X-ray and histological analysis. **Results** Successful heal was observed in all postoperative rabbits. X-ray assessment showed that bone density in test side was higher the control side. Histological examination showed that, as heal time went, there were more bone tissues formation and the test side was superior to control side at each observed time point. **Conclusion** The rabbit has ideal anatomic conditions for maxillary sinus elevation and the animal method of rabbit for bilateral maxillary sinus elevation is practicable.

Keywords: Rabbit; Maxillary sinus; Animal model

上颌窦提升术是在上颌窦底黏膜与窦底骨之间植入骨移植材料, 通过成骨愈合增加骨的高度, 为上颌后牙区的种植创造条件, 是口腔种植中常采用的手术方法^[1]。为了提高骨移植材料的早期成骨, 对上颌窦提升术中的骨移植新材料的评价研究, 仍是国内外学者们探讨的热点。因此, 建立理想的上颌窦提升动物模型是探讨植入材料的生物

学性能的一个重要手段^[2]。大部分研究均通过犬建立理想的上颌窦提升动物模型, 但其成本较高, 且饲养条件苛刻。本实验通过对兔上颌窦解剖结构的研究, 首次建立了兔双侧上颌窦提升的动物模型, 为种植材料的相关研究提供经济、实用的实验方法。

1 材料与方法

* [基金项目] 济宁医学院青年基金(JYQ14KJ35)

1.1 实验动物

日本大耳白兔 9 只,雌雄不限,体重 2.0 ~ 3.0 kg, 20 ~ 22 周龄,健康状况良好(辰欣药业提供)。所有动物均独立笼养,自由进食,根据实验设计分 2、4、8 周时间点,每个时间点 3 只兔,每只兔两侧上颌窦提升术区植入生物骨粉为实验侧,不植骨为对照侧。

1.2 实验材料与主要仪器

生物骨粉材料(烟台正海生物有限公司提供);盐酸利多卡因注射液(上海禾丰制药有限公司);硫酸庆大霉素注射液(天津药业焦作有限公司);戊巴比妥钠(Merck 公司,德国);数码口腔 X 线成像设备(Planmeca,芬兰);光学显微镜(Nikon ECLIPSE80i,日本)。

1.3 方法

1.3.1 术前准备 动物称重后用 3% 戊巴比妥钠 30 mg / kg 腹腔注射,行全身麻醉。用剪刀和婴儿电动理发器于鼻部备皮,俯卧位固定,1% 碘伏消毒,铺孔巾。

1.3.2 建立动物模型 手术前鼻背部局部皮下注射 2% 利多卡因浸润麻醉,约在上颌骨下缘上 3 ~ 4 mm,鼻背部沿中线做一长约 2 cm 的垂直切口,切开皮肤和骨膜,直达骨面,剥离骨膜,充分暴露鼻骨和鼻切牙骨缝,在无菌生理盐水充分冷却下,用球钻在鼻骨中缝两侧各开一个大小约为 4 mm × 8 mm 的骨窗,在距中线约 1 cm,鼻额缝前约 2 cm (图 1),注意勿损伤窦黏膜,暴露上颌窦膜,可见上颌窦黏膜被气流推出和吸进稳定的呼吸节律。用骨膜分离器自各骨壁轻轻分离窦黏膜,随着呼吸节律,用钝头刮匙从窦底将窦黏膜抬高,形成一个较大的空腔,在实验侧植入 0.1 g 生物骨粉(图 2),小心勿用力挤压,提升高度 2 ~ 4 mm,对照侧不做植入,骨膜和皮肤复位,4/0 缝线分层对位缝合,缝合切口。

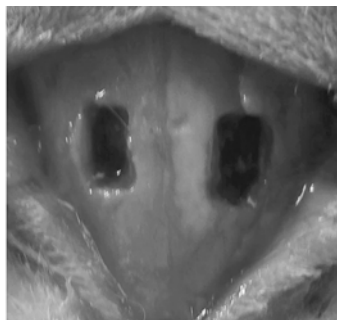


图 1 兔上颌窦提升术手术图



图 2 兔上颌窦生物骨粉植入手术图

1.3.3 术后护理 术后当日起肌注庆大霉素 4 万 U,连续 3 d,用 1% 碘伏消毒缝合处,保持缝合处清洁,预防感染。术后 1 ~ 2 d 动物一般均会自主进食,期间密切观察缝合处愈合情况及精神活动状态。

1.4 X 线检查

分别于手术后的 2、4、8 周由兔耳缘静脉采用空气栓塞法处死兔各 3 只。采集含完整上颌窦的兔上颌骨标本,延其中线剖为两半,观察剖面大体情况及骨窗愈合情况,观察后行 X 线检查。

1.5 组织学评价

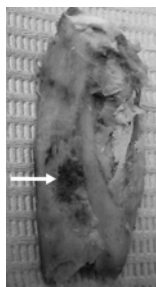
取完整上颌窦的兔上颌骨,4℃ 温度下用 4% 甲醛固定 1 周,配制 10% EDTA 脱钙液持续脱钙 40 d,然后依次经过水洗、脱水、浸蜡、包埋,切片机沿冠状面、上颌窦中心部位切取 2 张厚约 5 ~ 7 μm 的切片,依次苏木精-伊红染色,脱水,透明,封片,在光学显微镜下观察成骨情况并采集图像。

2 结果

2.1 大体观察

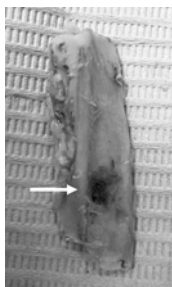
所有动物在术后 1 ~ 2 h 逐渐苏醒,1 ~ 2 d 后精神状态恢复较好,均可自主进食,实验周期内无一例死亡,均存活至取材。手术伤口局部肿胀,3 d 后逐步消退,无明显感染迹象。

术后 2 周,大体标本显示上颌骨开窗区尚未完全愈合,实验侧上颌窦提升区域颜色淡黄,植入的骨粉表面可见有骨痂形成,且有一定硬度(图 3),对照侧上颌窦提升区域颜色暗黄,表面轻度凹陷,硬度偏低,对照侧愈合程度明显差与实验侧(图 4)。



注:箭头示上颌窦提升区

图 3 2 周兔上颌骨实验侧骨愈合情况

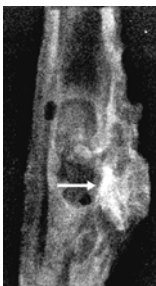


注:箭头示上颌窦提升区

图 4 2 周兔上颌骨对照侧骨愈合情况

2.2 X 线检查

术后 4 周,实验侧可见上颌窦提升区域明显 X 线阻射高密度影,骨质致密,接近正常骨组织(图 5),对照侧提升区域可见密度不均匀的低密度影,密度和均匀度较固有骨稍弱,边缘略显模糊(图 6)。



注:箭头示上颌窦提升区

图 5 4 周兔上颌骨实验侧成骨情况

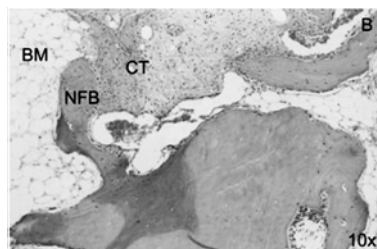


注:箭头示上颌窦提升区

图 6 4 周兔上颌骨实验侧成骨情况

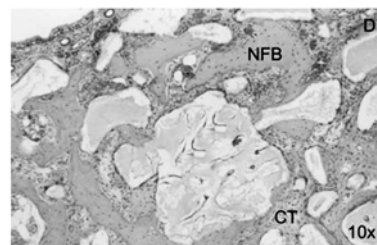
2.3 组织学评价

术后 8 周,实验侧材料周围可见大量新形成骨小梁和骨髓组织,骨小梁边缘可见大量单层排列的矮柱状成骨细胞,有新生的毛细血管,骨小梁开始融合成不规则的密质骨,骨组织的排列接近正常骨组织(图 7),对照侧可见较多结缔组织围绕,新形成骨小梁和骨髓组织较少(图 8)。



注:NFB,新形成骨;BM,骨髓组织;CT,结缔组织。

图 7 8 周兔上颌窦提升区实验侧(HE × 100)



注:NFB,新形成骨;CT,结缔组织。

图 8 8 周兔上颌窦提升区对照侧(HE × 100)

3 讨论

上颌后牙区由于其解剖结构的特殊性,如骨质疏松、上颌窦底过低、牙槽骨高度不足等原因,常常缺乏足够的骨量支持种植体,限制了上颌后牙区域种植手术的开展。1975 年 Tatum 首先提出上颌窦底提升植骨术,以解决上颌后部缺牙后骨量不足的问题,为上颌后牙区的种植创造了条件^[3]。目前骨移植新材料仍是研究热点,因此建立可行的上颌窦底提升动物模型对新材料的研究具有重要意义。

在口腔种植领域的相关动物实验研究中,通常选择羊、猪、犬、兔和鼠为实验动物建立相关研究模型^[4]。陈松龄等^[5]、李祥等^[6]均把犬作为实验动物建立上颌窦底提升动物模型。体积较大的实验动物,如羊、猪、犬等,其手术操作虽然方便,但价格较高、不易购买、饲养条件要求严苛等因素使研究工作所要求的动物数量和质量难以达到要求^[7]。兔作为种植领域相关研究的常用备选动物,其价格低廉,性格温顺,喂养方便,手术耐受能力相对较

强,并且兔的饲养、繁殖、解剖以及麻醉等相关问题的相关资料均相对成熟,更适用于大样本动物模型的研究。如果能很好地评价骨移植材料的成骨性能,将是进行牙种植相关材料研究的最佳选择之一。

良好的上颌窦提升动物模型是进行上颌窦提升术中骨移植材料相关评价研究的基础。国内外有学者已经使用犬的上颌窦提升动物模型进行材料研究。余优成等^[8]研究了组织工程骨在犬上颌窦提升中的成骨作用,但研究在实验过程中刮除了犬的上颌窦黏膜,这不符合临床工作实际。本实验通过对兔上颌窦解剖结构的研究,探讨了兔上颌窦提升的手术入路,提升双侧上颌窦,9 只大耳白兔均存活至取材,完全可以耐受。通过植入材料评价模型的可行性,研究发现各时间点实验侧骨密度高于对照侧;组织学观察植入骨粉区新生骨组织增加,实验侧在各时间点的新生骨量均优于对照侧,尤其在 8 周时,实验侧材料周围可见大量新形成骨和骨髓组织,骨组织的排列接近正常骨组织。这也进一步证实了兔上颌窦提升动物模型用于研究评价材料成骨性能的可行性。

综上,动物模型的价值是体现在对人体病理和生理状况模拟的相似性和对临床医学应用方法及指导的可重复性,而应用动物模型研究新材料成骨性能等相关问题是材料应用于临床之前最为可行和必要的手段^[9-10]。本实验通过对兔上颌窦解剖结构的研究,成功地建立了兔双侧上颌窦提升的动物模型,实验结果证实了模型的可行性与可靠性,为种植新材料的相关研究提供了研究基础与科学依据。

参考文献:

- [1] Jung U W, Unursaikhan O, Park J Y, et al. Tenting effect of the elevated sinus membrane over an implant with adjunctive use of a hydroxyapatite-powdered collagen membrane in rabbits[J]. Clin Oral Implants Res, 2015, 26

- (6):663-670. DOI:10. 1111/clr. 12362.
- [2] Peng W, Kim I K, Cho H Y, et al. Assessment of the autogenous bone graft for sinus elevation[J]. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg, 2013, 39 (6): 274 - 282. DOI:10. 5125/jkaoms. 2013. 39. 6. 274.
- [3] Friedmann A, Dard M, Kleber B M, et al. Ridge augmentation and maxillary sinus grafting with a biphasic calcium phosphate: histologic and histomorphometric observations[J]. Clin Oral Implants Res, 2009, 20 (7): 708-714. DOI:10. 1111/j. 1600-0501. 2009. 01708. x.
- [4] Zablotsky M, Meffert R, Caudill R, et al. Histological and clinical comparisons of guided tissue regeneration on dehiscent hydroxylapatite-coated and titanium endosseous implant surfaces: a pilot study[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1991, 6(3): 294-298.
- [5] 陈松龄, 黄代营, 周苗, 等. 冲顶式上颌窦底提升植骨牙种植动物模型的建立[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2004, 25(6): 549-553.
- [6] 李祥, 朱双喜, 黄代营, 等. 上颌窦外提升及同期牙种植动物模型的建立[J]. 中国口腔种植学杂志, 2010, 15(4): 165-167.
- [7] Yamamichi N, Itose T, Neiva R, et al. Long-term evaluation of implant survival in augmented sinuses: a case series[J]. Int J Periodontics Restorative Dent, 2008, 28 (2): 163-169.
- [8] 余优成, 吴伟杰, 顾章愉, 等. 骨组织工程技术进行犬上颌窦提升的实验研究[J]. 中国临床医学, 2006, 13 (5): 860-862.
- [9] 封伟, 赵宝红, 武金明, 等. 兔下颌骨双侧种植体植入动物模型的建立[J]. 口腔医学研究, 2013, 29 (5): 393-396. DOI:10. 13701/j. cnki. kqxyj. 2013. 05. 006.
- [10] Ayranci F, Gungormus M, Omezli M M, et al. The effect of alendronate on various graft materials used in maxillary sinus augmentation: a rabbit study[J]. Iran Red Crescent Med J, 2015, 17 (12): e33569. DOI:10. 5812/ircmj. 33569.

(收稿日期 2016-01-12)

欢迎投稿

欢迎订阅