

浓缩生长因子(CGF)与Bio-oss骨粉混合应用于位点保存的效果研究

李贝贝 陈志宇 袁硕 王金梅

孟令强

【摘要】目的：将浓缩生长因子(CGF)与Bio-oss以不同比例混合，探讨何种比例可以达到最佳的位点保存效果。**方法：**24只雄性新西兰兔下颌双侧第一前臼齿拔牙窝，左侧于右侧手术8周后进行。A、B、C组为CGF与Bio-oss以2:1, 1:1, 1:2比例混合，D组为空白对照。观察4周、12周新骨形成比例及骨成熟程度，X线片计算牙槽骨吸收量。**结果：**同一时间点，新骨形成量A>B>C>D ($P<0.05$)，A、B、C组牙槽骨吸收量均小于D组 ($P<0.05$)。同一组别，12周时新生骨量、骨成熟程度及牙槽骨吸收量均高于4周时 ($P<0.05$)。**结论：**CGF与Bio-oss以2:1比例混合时位点保存效果更佳。

【关键词】浓缩生长因子；Bio-oss骨粉；位点保存

中图分类号: R782.1

文献标识码: A

文章编号: 1007-3957(2020)04-151-4

Effect of CGF and Bio-oss ratio on site preservation

LI Beibei, CHEN Zhiyu, YUAN Shuo, et al

Hospital of Stomatology Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China

Abstract

Objective: Different ratios of CGF and Bio-oss were filled in teeth extraction socket, to explore the ratio of better site preservation effect. **Methods:** 24 male New Zealand rabbits, the experiment has been approved by the ethics committee of Hospital of Stomatology Hebei Medical University. Groups A, B and C were CGF mixed with Bio-oss at the ratio of 2:1, 1:1 and 1:2. Group D was control group. The teeth extraction socket of the first premolar on both sides of mandible was filled with the same ratio. The left operation was performed on 8 weeks after the right operation, and then they were sacrificed after 4 weeks. Amount of new bone formation and the degree of bone maturity were observed histologically at 4 and 12 weeks using HE and Masson stain. X-rays were used to evaluate the alveolar bone absorption. All images were analyzed by image-pro Plus6.0. **Results:** At the same time, the order of was group A, B, C and D ($P<0.05$), alveolar bone resorption in group A, B and C was smaller than group D ($P<0.05$). At the same group, the new bone formation, bone mass, alveolar bone resorption at 12 weeks was higher than that at 4 week ($P<0.05$). **Conclusion:** When CGF and Bio-oss were mixed in the ratio of 2:1 was better.

Key words: concentrated growth factor(CGF), Bio-oss, site preservation

牙列缺损的主要修复方式包括种植牙修复、固定桥修复和可摘局部义齿修复。近年来，种植牙因美观、舒适、咀嚼效率高、无需磨削邻牙、不用反复摘戴义齿而越来越受到患者的欢迎。但是拔牙后牙槽骨吸收限制了牙种植技术的应用，位点保存(Alveolar ridge preservation)可以最大程度保存剩余牙槽嵴的高度和宽度以及周围软组织，

为后期种植修复提供足够的骨量及良好的美学基础。浓缩生长因子(Concentrate growth factors,

作者单位: 050017 河北省石家庄 河北医科大学口腔医学院·口腔医院, 修复科, 河北省口腔医学重点实验室, 河北省口腔疾病临床医学研究中心。

基金项目: 河北省政府资助临床医学优秀人才培养和基础课题研究项目, 课题编号 361029

CGF) 含有许多关键的生长因子, 其中包括: 血小板衍生生长因子(PDGF)、骨形成蛋白(BMP)、血管内皮生长因子(VEGF)、表皮生长因子(EGF)等, 另外, CGF由大量纤维蛋白组成, 这些纤维蛋白成束排列, 互相交织形成三维网状结构, 可以将大量血小板网罗其中, 这种结构可以保护血小板不被迅速活化降解, 而是随着纤维蛋白的降解而逐步活化降解, 从而实现血小板内生长因子的缓慢释放。CGF与Bio-oss分别以1: 2、1: 1、2: 1的比例填充于上颌窦提升、种植位点患者中, 结果表明两种混合物以不同比例混合均可以取得较好的成骨效果。但目前尚未见两者物质以何种比例混合, 可以达到更佳位点保存效果的研究。本实验通过将不同比例的CGF与Bio-oss混合物填充于兔拔牙窝内, 观察兔位点保存效果, 新生骨量有无差异, 何种比例的混合物成骨效果更好。

1 材料和方法

1.1 实验对象

24只雄性新西兰兔, 体重2~2.5kg, 由河北医科大学动物中心提供, 卫生许可证号SCXK2016-002, 合格证编号190320, 口腔无疾患, 适应性喂养2周。

1.2 主要设备和材料

离心机 (Medifuge, Silfradentsrl, Sofia, Italy); Bio-oss骨粉 (瑞士盖氏制药有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 实验分组: 24只成年雄性新西兰兔随机分为4组。

A组: CGF: Bio-oss=2: 1 (n=12), 表面覆盖双层CGF膜;

B组: CGF: Bio-oss=1: 1 (n=12), 表面覆盖双层CGF膜;

C组: CGF: Bio-oss=1: 2 (n=12), 表面覆盖双层CGF膜;

D组: 拔牙窝内不填充任何物质 (n=12)。其中, 混合物总量相同, 共0.18ml。

1.3.2 手术步骤: 一侧兔耳去皮, 用手揉搓或拍打耳朵, 使耳中动脉充分充盈, 在痉挛前尽快抽血, 取血9ml制备CGF备用, 1%戊巴比妥钠全麻下微创拔除下颌右侧第一前白齿, 拔牙窝内按实验设计填充不同比例的混合物, 表面覆盖双层CGF膜, 严密缝合。为了尽量减小个体差异, 每只兔子下颌左右两侧填充同比例的浓缩生长因子和Bio-oss混合物, 右侧手术后8周行左侧手术, 左侧手术4周后处死。

1.3.3 观察指标: (1) 软组织愈合情况: 术后1天、3天、7

天、14天手术探查牙龈颜色、炎症、创口愈合情况; (2) 牙槽骨吸收量: 拔牙后即刻、术后4周、术后12周进行X线片拍摄, 制作下颌牙弓 垫, 第一前白齿位置粘固0.3cm钢钉作为拍摄X线片的参照物 (图1), 拍照时, 尽量保证钢钉颊舌向与牙体长轴平行, 减小拍摄角度误差。(3) 组织学观察: 术后4周、术后12周制作骨组织切片进行HE、Masson染色, 观察各组不同时期新骨形成比例及新骨成熟程度。



图1 牙槽骨吸收量测量方法 (A为牙长轴方向, 与之作垂线B, B的长度与高密度钢钉长度相同, 作B的垂线C, 计算距离)

1.3.4 统计学分析: 所有数据采用SAS统计软件进行统计, 同一时间点不同组间数值比较, 若满足正态方差齐采用方差分析, 若正态方差不齐采用秩和检验; 同一组间不同时间点数值比较进行独立样本t检验。结果用 $X \pm S$ 表示, $P < 0.05$ 时表示结果有统计学差异。

2 结果

2.1 软组织愈合情况

术后1天、3天拔牙创表面粘膜稍红肿; 术后7天, 拔牙创表面粘膜色泽正常; 术后14天, 缝线在, 创口已愈合。观察期间术区无感染, 均达到一期愈合。

2.2 牙槽骨吸收量

同一时间点, A组、B组、C组牙槽骨吸收量无统计学差异 ($P > 0.05$), 且吸收量均小于空白对照组 ($P < 0.05$)。随着时间延长, 各组牙槽骨均有进一步的吸收, 同组术后4周与12周相比, 牙槽骨吸收量有统计学差异 ($P < 0.05$) (表1)。

表1 各组不同时间点牙槽骨吸收量 ($X \pm S$, mm)

	CGF:Bio-oss=2:1	CGF:Bio-oss=1:1	CGF:Bio-oss=1:2	空白
4周	0.718±0.038	0.717±0.048	0.728±0.023	1.410±0.073
12周	1.365±0.063	1.405±0.065	1.385±0.053	2.670±0.603

2.3 组织学观察

同一时间点, 新骨形成量 A 组 (图 2) > B 组 (图 3) > C 组 (图 4) > D 组 (图 5) ($P < 0.05$)。随着时间延长, A 组、B 组、C 组、D 组新骨形成量均有所增加, 同组术后 4 周与 12 周新骨形成量相比, 均有增加 ($P < 0.05$) (表 2)。Masson 染色显示, 各组 12 周时骨成熟程度均高于 4 周时 (图 6)。

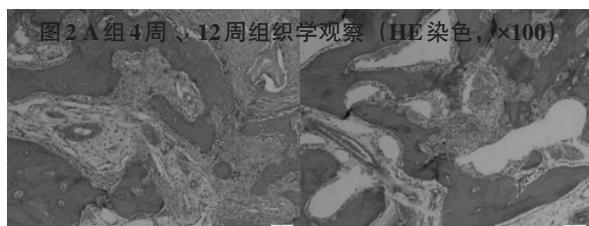
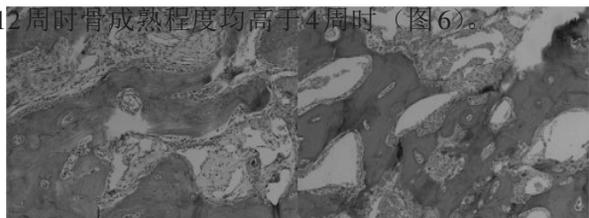
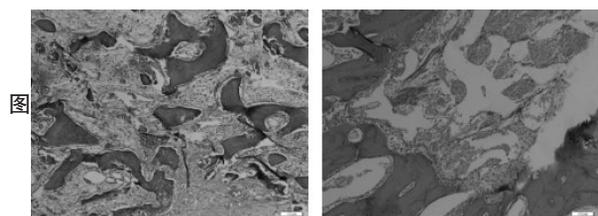
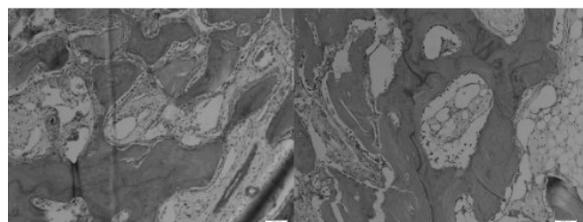


图 2 A 组 4 周、12 周组织学观察 (HE 染色, $\times 100$)



图

图 5 D 组 4 周、12 周组织学观察 (HE 染色, $\times 100$)

表 2 各组不同时间段新骨形成比例 ($X \pm S$, %)

	CGF:Bio-oss=2:1	CGF:Bio-oss=1:1	CGF:Bio-oss=1:2	空白
4 周	0.305 \pm 0.027	0.227 \pm 0.015	0.191 \pm 0.018	0.115 \pm 0.020
12 周	0.615 \pm 0.039	0.487 \pm 0.03	0.377 \pm 0.035	0.253 \pm 0.031

3 讨论

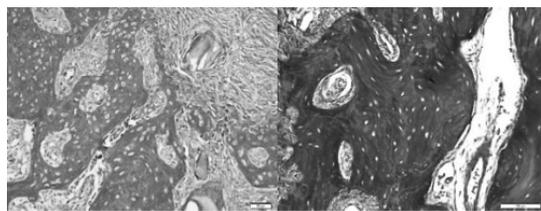


图 6 4 周、12 周新骨成熟程度组织学观察 (Masson 染色, $\times 100$)

血小板浓缩物是现在口腔领域研究的热点, 被称为生物支架和细胞因子的水库, 血小板浓缩物取自自体静脉血、制备过程简单、无交叉感染及过敏反应等风险, 临床使用安全、可靠。多项研究表明: 血小板浓缩物作为生长因子的载体, 能持续促进牙龈成纤维细胞、真皮角化前体细胞、脂肪前体细胞、颌面部成骨细胞的增殖^[7], 诱导牙周膜干细胞和骨髓间充质干细胞的成骨向分化, 并且能促进成骨细胞分泌骨保护蛋白^[9], 从而发挥强效的促组织愈合和新骨生成作用。血小板浓缩物与 Bio-oss 以不同比例混合应用于位点保存、上颌窦提升等, 均可以取得较好的成骨效果^[4-6,10-11]。CGF 是第三代血小板浓缩物, 是将新鲜血液在离心设备中以不同的速度离心, 不同的离心速度会使血小板不断发生碰撞和破裂, 促进生长因子释放, 浓度更高^[12]。Bio-oss 骨粉是牛骨去蛋白和冻干获得的生物制品, 属于异种骨, 只有骨传导性, 吸收缓慢, 替代率较低, Bio-oss 骨粉 16 至 25 周后发生生物降解, 但是在 30 个月甚至更长时间在植入物周围仍可见到骨粉颗粒残留^[13], Bio-oss 骨粉的多孔状结构可以对成骨细胞起到支架作用, 维持或增加成骨空间, 其与 CGF 混合应用可以使生长因子吸附在骨粉颗粒上, 使拔牙窝内生长因子浓度始终维持在较高水平, 获得更好的成骨效果。本实验将 CGF 与 Bio-oss 以 2:1, 1:1, 1:2 比例混合填充, 4 周时可见, A 组牙槽窝内可见新生骨, 骨小梁致密成熟, 毛细血管丰富, 成骨细胞数量较多, 大量骨细胞埋入新生骨组织中, 形成大量骨陷窝。B 组牙槽窝内可见新生骨, 骨小梁彼此连续, 排列不规则。C 组骨小梁数量较 A 组 B 组少, 剩余骨粉材料数量较多, 骨粉颗粒周围可见大量成纤维细胞包绕。D 组牙槽窝内可见纤维化成骨, 骨小梁较 A 组、B 组、C 组数量少且细小, 钙化程度低。12 周时, A 组牙槽窝内骨组织改建已经

基本完成, 骨小梁数量较多且结构致密, 钙化程度高, 已形成明显的板层样新骨, 骨组织间可见少量移植材料遗留的空隙, 残余移植材料边缘仍可见少量成骨细胞。B 组牙槽窝内骨改建已经基本完成, 可见板层状结构, 残余移植材料边缘仍可见少量成骨细胞。C 组牙槽窝内骨改建也已经基本完成, 纤维结缔组织仍存在, 骨小梁彼此连接, 但数量较 A 组、B 组少, 残余的 Bio-oss 骨粉颗粒较 A 组、B 组多, 残余移植材料边缘仍可见少量成骨细胞。D 组骨小梁数量少于 A 组、B 组和 C 组, 且形态不规则, 但骨板也较致密, 钙化程度高, 骨结构层次清晰。Masson 染色显示 12 周时, A 组、B 组、C 组、D 组骨小梁数量均比 4 周时多, 且红染面积均比 4 周组大, 呈红-蓝相间, 显示骨质均由新生骨走向成熟, A 组、B 组、C 组仍可见数量不等的残余移植材料颗粒, 但均比 4 周时少。结果表明 CGF 与 Bio-oss 以 2: 1, 1:1, 1:2 比例混合均可达到较好的位点保存效果, 其中 CGF 与 Bio-oss 以 2:1 的比例混合时位点保存效果更佳, 这可能是由于与 CGF 中的纤维蛋白网络相比, Bio-oss 为生长因子的持续释放提供了更好的支架, 随着 CGF 浓度增加, 生长因子含量也相应增加, 所以加速新骨形成, 位点保存效果更佳。从 X 线片上看, 无论是 4 周还是 12 周时, A 组、B 组、C 组牙槽骨吸收量均无统计学差异, 这可能与 Bio-oss 替代率低, 吸收缓慢, 可以有效维持牙槽嵴顶高度有关, 在本实验范围内 Bio-oss 浓度变化尚未对牙槽骨垂直方向吸收量形成显著差异, 且本实验选用 X 线片作为评估垂直方向牙槽骨吸收量的工具, 未对水平方向牙槽骨吸收量做出计算分析, 后期应追加 CBCT 进行三维骨量变化测量。本实验分组尚有不足, 需进一步研究最佳位点保存效果的比例, 在未来的研究中, 我们需要更多的数据来分析不同比例 CGF 与 Bio-oss 混合物成骨过程有何差异, 找到适合临床应用的血小板浓缩物治疗剂量, 便于指导临床, 扩大种植适应症, 获得最佳的位点保存效果, 使更多人受益于种植技术, 并减轻种植手术的复杂程度, 延长种植体使用寿命, 增进长期使用效果。

参考文献

- 1 Schar M O, Diaz-Romero J, Kohl S, et al. Platelet-rich Concentrates Differentially Release Growth Factors and Induce Cell Migration In Vitro[J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2015, 473(5): 1635-1643
- 2 Lundquist R, Dziegiel M H, Agren M S. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin[J]. *Wound Repair Regen*, 2008, 16(3): 356-363
- 3 Dohan Ehrenfest D M, de Peppo G M, Doglioli P, et al. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin(PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies[J]. *Growth Factors*, 2009, 27(1): 63-69
- 4 Bolukbasi N, Ersanli S, Keklikoglu N, et al. Sinus Augmentation With Platelet-Rich Fibrin in Combination With Bovine Bone Graft Versus Bovine Bone Graft in Combination With Collagen Membrane[J]. *J Oral Implantol*, 2015, 41(5): 586-595
- 5 Ocak, H, Kutuk, N, Demetoglu, U, Balcloglu, E, Ozdamar, S, & Alkan, A.(2017). Comparison of Bovine Bone-Autogenic Bone Mixture Versus Platelet-Rich Fibrin for Maxillary Sinus Grafting: Histologic and Histomorphologic Study. *Journal of Oral Implantology*, 43(3): 194-201
- 6 Hatano N, Shimizu Y, Ooya K. A clinical long-term radiographic evaluation of graft height changes after maxillary sinus floor augmentation with a 2 : 1 autogenous bone/xenograft mixture and simultaneous placement of dental implants[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 2004, 15(3): 339-345
- 7 Dohan Ehrenfest D M, Diss A, Odin G, et al. In vitro effects of Choukroun's PRF(platelet-rich fibrin)on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures[J]. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2009, 108(3): 341-352
- 8 Dohan Ehrenfest D M, Doglioli P, de Peppo G M, et al. Choukroun's platelet-rich fibrin(PRF)stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way[J]. *Archives of Oral Biology*, 2010, 55(3): 185-194
- 9 Chang I C, Tsai C H, Chang Y C. Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2010, 95A(1): 327-332
- 10 Suba Z. Alveolar Bone Regeneration by Plate-Pich Plasma in Beagle Dogs: A Histologic and Histomorphometric