

种植体骨界面的应力状态对种植体周围骨细胞影响

靳志亨 李清*

(武汉大学口腔医院修复科 湖北省口腔基础医学重点实验室-

省部共建国家重点实验室培育基地, 口腔生物医学教育部重点实验室 湖北 武汉 430079)

[摘要] 目的:通过有限元分析及动物实验研究不同应力状态对种植体周围骨细胞的影响。方法:自制两组种植体(全螺纹组和缺螺纹组),在新西兰兔两侧胫骨骺端分别植入,7、15、30和60 d后处死,取材,硬组织包埋,切片后电镜观察。将胫骨骺端及种植体分别建模,并检测骨力学参数,代入到有限元软件中,模拟种植体植入骨内,分析种植体周围骨应力分布。结果:有限元分析结果发现,两组种植体周围骨在距种植体0.75 mm范围内,全螺纹组应力较高。电镜结果显示,在7 d和15 d时,两组种植体周围骨的骨细胞密度及形态出现差异,随着时间增加,这种差异消失。结论:有限元分析可以模拟种植体植入后初始状态下周围骨的应力状态。骨细胞的生物活性可能与受到的应力刺激密切相关,表现为骨结合早期对应力有较好的响应,出现数目及形态的改变。

[关键词] 有限元分析 应力 骨细胞

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671—7651(2019)10—0936—04

[doi] 10.13701/j.cnki.kqxyj.2019.10.007

Effect of Stress State in Implant-bone Interface on Bone Osteocytes in Peri-implant Bone. JIN Zhiheng, LI Qing*. The State Key Laboratory Breeding Base of Basic Science of Stomatology (Hubei-MOST) and Key Laboratory of Oral Biomedicine Ministry of Education, Wuhan 430079, China.

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of stress state on bone osteocytes around dental implants using finite element analysis and animal experiment. **Methods:** The designed implants including full-thread and delete-thread implant were placed in proximal tibial metaphysis of rabbits. The animals were sacrificed at 7 days, 15 days, 30 days, and 60 days after surgery, and undecalcified tissue sections were prepared for SEM. The finite element models of implants and tibia metaphysis were installed and the process of implantation was simulated by computer-aided design software. The von Mises stress in peri-implant bone were recorded and analyzed. **Results:** The surrounding bone within 0.75 mm from surface of implant in full-thread implant group exhibited higher von Mises stress than delete-thread implant. The SEM images indicated that the number and morphological of osteocytes between two groups of implants at 7 days and 14 days were significantly different. **Conclusion:** The FEA can simulate the stress distribution on peri-implant bone in the initial state after implantation. The biological activity of osteocyte may be closely related to the stress state, which demonstrated a better response to stress stimuli in early stage of osseointegration and changes of number and morphology of osteocyte.

[Key words] finite element analysis stress osteocyte

种植义齿修复技术已成为口腔修复中较为常见的治疗手段,种植体骨结合是种植义齿发挥功能的基础,也是治疗远期成功率的保障,为实现种植体骨结合,除必要的生物相容性外,还需要良好的生物力学环境^[1]。

大量研究已报道,种植体植入后,自身或者外界

的应力刺激将有助于提高周围骨细胞活性,从而加快种植体骨结合^[2-4]。当前,许多临床及动物实验主要通过种植体上施加外界载荷,以及在种植体植入时给予一定大小的植入扭矩,研究应力刺激对种植体周围骨形成的影响,但是种植体骨界面的应力如何分布,以及这种应力状态如何影响周围骨形成的机制尚未明确。许多学者利用三维有限元分析,通过建立种植体骨模型,从而直观地观察到种植体周围骨应力分布^[5,6]。因此,本文将利用有限元模型模拟临床种植体植入后周围骨的应力分布,同时

基金项目 湖北省自然科学基金(编号:ZRMS2017000043)

作者简介 靳志亨(1993~),男,山西长治人,硕士,医师,研究方向:口腔生物力学。

* 通信作者 李清, E-mail: li.q@whu.edu.cn

采用动物实验研究周围骨细胞的反应。

1 材料与方法

1.1 动物实验

1.1.1 种植体制备 自制纯钛种植体,分两组,正常组种植体(全螺纹种植体)和消除第 4 圈螺纹种植体(缺螺纹种植体),具体尺寸见图 1。种植体经过大颗粒喷砂酸蚀表面处理,放入去离子水和丙酮中超声震荡冲洗,干燥 24 h,消毒备用。

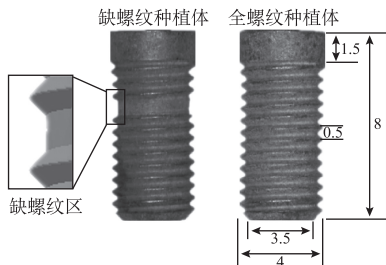


图 1 两组种植体具体尺寸(mm)

Fig. 1 Dimensions of two groups of implants (mm).

1.1.2 种植手术操作及标本制备 采用新西兰雌性兔(2.5~3.0 kg)16 只,2%戊巴比妥钠盐溶液耳缘静脉麻醉,常规固定,备皮,消毒铺巾,暴露胫骨骺端为手术区域。确定种植位点,切开胫骨骺端外侧皮肤,钝性分离肌肉筋膜组织,剥离至骨膜。采用直径为 2.1/2.8/3.5 mm 扩孔钻逐级备洞,期间生理盐水冲洗冷却,将外径 4 mm 的全螺纹组种植体利用种植机植入预备好的窝洞。可吸收线缝合,消毒后纱布包扎术区。另一侧胫骨重复操作,种植体更换为缺螺纹种植体,术后肌肉注射氨苄青霉素预防感染。分别在术后 7、15、30、60 d 处死实验兔,每个时间点为 4 个样本。将种植体周围至少 5 mm 骨质全部取出,放于中性固定液中固定。将固定好的标本依次放入梯度浓度乙醇,二甲苯及甲基丙烯酸甲酯中,最终完成标本硬组织包埋。

1.1.3 扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)观察 将包埋好的样本沿种植体长轴切开,暴露种植体与骨的交界面,在抛光机上序列打磨至镜面,由于常规硬组织切片标本表面大量矿物质覆盖,因此采用 9%磷酸和 5%次氯酸钠溶液交替处理样本表面^[7],从而暴露骨细胞,冲洗后,冷冻干燥,之后表面喷金后,场发射扫描电镜(Zeiss SIGMA)观察。在所观察螺纹区(0.5 cm×0.5 cm)内进行骨细胞计数,每个时间点全螺纹组和缺螺纹组各 4 个。

1.1.4 统计学分析 计算每组样本所观察区骨细胞密度,运用 SPSS 18.0 统计软件,采用自身样本配对 *t* 检验分析比较两组种植体骨细胞密度的差异。

1.2 有限元分析

1.2.1 骨、种植体模型建立 取实验兔胫骨骺端(手术区域),进行 CT 扫描,获得影像导入医学影像重建软件(Mimics v17, Materialise)进行三维重建,构建参数一致的两组种植体模型。

1.2.2 有限元分析 将骨、种植体模型导入有限元软件(Abaqus2016, Dassault Systems),采用四面体网格划分,骨模型近远中面节点自由度完全约束。同时获取兔胫骨皮质骨及松质骨的压缩测试样本,样本各面平整光滑并保持平行,采用万能试验机,将样本竖直固定在底座和压头之间,设定压缩速率,样本逐渐变形直至断裂,获得塑形应变和屈服强度,将得到的材料力学性质代入骨模型。模拟临床种植操作,种植体给予向下旋转位移载荷,直至颈部与骨面平齐,见图 2。全螺纹组第 4 圈螺纹及缺螺纹组的缺失螺纹区对应周围骨为分析部分(region of interest, ROI, 感兴趣区)。

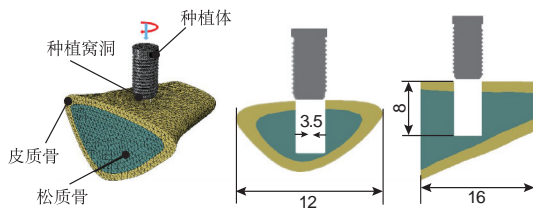


图 2 种植体和骨有限元模型及尺寸(mm)

Fig. 2 The FEA model and dimensions of the implant and bone (mm).

2 结果

2.1 兔骨材料力学性质 通过力学测试兔骨,皮质骨和松质骨的力学参数见表 1。

表 1 种植体及兔骨力学性质

Tab. 1 Material properties of implant and bone of rabbit

材料	弹性模量 /MPa	泊松比	屈服应力 /MPa	塑性应变
种植体(钛)	110000	0.3	-	-
皮质骨	3200	0.3	62.0	0.0105
松质骨	500	0.3	12.2	0.1100

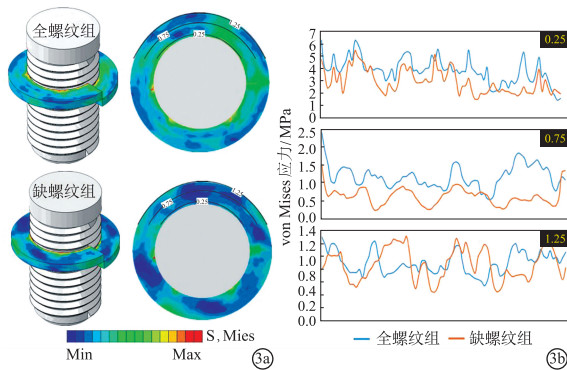
2.2 有限元分析结果 两组种植体周围骨 ROI 的 von Mises 应力分布及应力值见图 3。图 3a 显示侧面及水平面可见全螺纹组种植体周围骨应力较高。图 3b 所示为距种植体表面 0.25、0.75 和 1.25 mm 骨质的应力值大小,可见在离种植体 0.25 及 0.75 mm 附近,全螺纹组应力值高于缺螺纹组;在离种植体 1.25 mm 附近,两组种植体周围骨应力接近。

2.3 动物实验结果 图 4 显示了各个时间点种植体周围骨细胞分布,统计学分析后可以发现随着时

表 2 术后不同时间段两组种植体周围骨密度

Tab. 2 Bone density around two groups of implants at different time points after surgery $\text{mm}^2, \bar{x} \pm s$

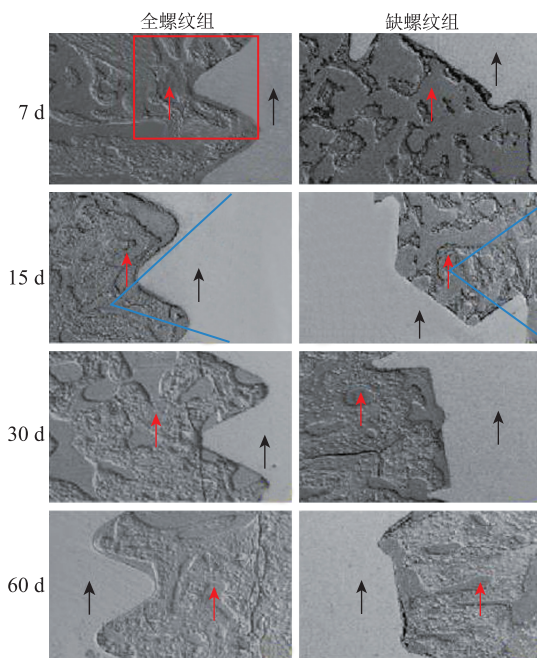
组别	7 d	15 d	30 d	60 d
全螺纹组	462.5±58.0	793.3±73.8	1117.0±38.7	1045.0±78.6
缺螺纹组	275.0±61.5	582.3±53.9	1094.0±62.3	1088.0±116.9
<i>t</i> 值	4.340	3.524	0.463	-1.758
<i>P</i> 值	0.023	0.039	0.675	0.177



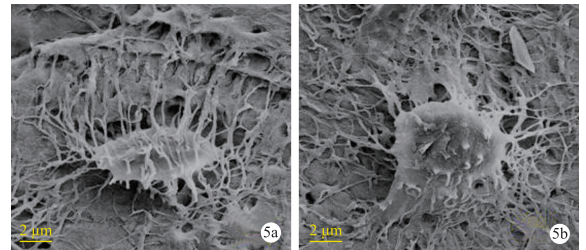
3a: 两组种植体周围骨应力云图; 3b: 周围骨距种植体表面 0.25 mm、0.75 mm 和 1.25 mm 骨质应力值

图 3 种植体周围骨应力分布

Fig. 3 Stress distribution on surrounding bone of implants.

图 4 各时间段种植体骨界面 SEM 图($\times 100$)Fig. 4 Representative SEM images of implant-bone interface ($\times 100$).

间的增加,骨细胞密度增加,在 7 d 和 15 d 时,全螺纹组骨细胞密度高于缺螺纹组(表 2, $P < 0.05$),并且全螺纹组的骨细胞形态呈现出近圆形,而缺螺纹组骨细胞呈梭形(图 5)。在 30 d 及 60 d 组,两组比较差异无统计学意义。



5a: 全螺纹组; 5b: 缺螺纹组

图 5 两组种植体周围骨细胞 SEM 图($\times 2000$)Fig. 5 Representative SEM images of osteocytes in two groups of implants ($\times 2000$).

3 讨论

近些年来,有限元的应用在口腔领域逐渐增多,其通过建立实物几何模型模拟其真实受力情况,从而完成体内或体外难以操作的复杂力学分析^[8,9]。但是目前大多数有限元研究都普遍采用较为简化的模型以及理想的分析条件,这将降低有限元结果真实性。在本研究中,采用兔胫骨骺端区域建模,这与本研究动物实验中种植体植入部位一致,并且此区域骨质也更接近人体颌骨^[10]。同时,通过对此区域皮质骨及松质骨进行力学检测,得到的力学参数代入有限元中,使有限元的模拟更加接近实际情况,结果真实性提高。种植体骨界面的应力分布对周围骨有较大的影响,目前关于交界面应力的实验研究设计,主要通过种植体上采用力学加载装置以及变更种植体外形。有学者通过在种植体上方加载了力学传导装置,从而增加了界面的应力水平,发现周围骨细胞密度增加和形态改变,以及组织学上成骨量的增加,并且这种改变与载荷的幅度及频率相关^[11]。在另外一些相关研究中,Kuroshima 等^[12]改变了种植体螺纹凹槽的方向及角度,从而优化了种植体骨交界面的应力传导,实现周围骨骨细胞密度及新陈代谢增加。其他学者通过改变种植体设计,来降低其弹性模量,从而使种植体骨交界面应力传递更加合理,减少了“应力屏蔽”效应的影响^[13]。

在本研究中,通过设计两组种植体不同的形态,从而构建出应力差异区域,并通过有限元模拟,证实两组种植体在距种植体表面较近的骨质产生了不同

的应力微环境。全螺纹组周围骨处于高应力状态,同时 SEM 影像中观察到 7 d 及 15 d 组种植体周围骨细胞数目的增多及形态的变化。相反,缺螺纹组周围骨应力较低,SEM 显示骨细胞数目相对较少。另外,本研究设置了 4 个观察时间,随着观察时间的延长,在 30 d 及 60 d,两组种植体的骨细胞并无显著差异。一方面说明在种植体骨结合的早期周围骨可能更容易受到周围应力的影响;另一方面,也有可能因为随着时间延长,种植体骨界面的应力减弱或消失,骨细胞的反应也相应减弱或消除。

应力刺激在骨组织的新陈代谢中发挥着很大的作用,近年来大量研究结果表明,适当的应力刺激可以促进骨形成及骨愈合重建。骨细胞是存在于骨基质中最丰富的细胞,占 90%~95%^[14],长期以来一直被认为是协调成骨细胞和破骨细胞功能^[15]。但是随着研究的深入,骨细胞在感知和传导机械刺激应力刺激方面的作用得到重视,其通过细胞突起与周围细胞形成网状结构,感知周围环境中的流体剪切力和静水压力等,并通过应力诱导分子的激活来做出反应^[16-18]。Tatsumi 等^[19]通过建立骨细胞缺失的动物模型,发现由于缺少骨细胞的机械感知功能,实验小鼠骨髓会出现病理性骨质疏松。

综上所述,本研究通过借助有限元软件,模拟种植体植入后初始状态下周围骨的应力状态,发现骨细胞的生物活性与受到的应力刺激密切相关。并且在种植体骨结合的早期,周围骨可能更容易受到周围应力的影响,而随着时间的延长,这种作用减弱,但是这也有可能是由于种植体骨界面应力减弱或消失所导致。有限元法仅为模拟实验,与实际情况仍有差异,本研究结果有待于进一步研究和证实。

参考文献

- [1] Liang K, Zhao Y, Hu K, et al. Selection of the implant thread pitch for optimal biomechanical properties: A three-dimensional finite element analysis [J]. *Adv Eng Softw*, 2009, 40(7):474-478.
- [2] Piattelli A, Artese L, Penitente E, et al. Osteocyte density in the peri-implant bone of implants retrieved after different time periods (4 weeks to 27 years) [J]. *J Biomed Mater Res Part B*, 2014, 102(2):239-243.
- [3] Barros RR, Degidi M, Novaes AB, et al. Osteocyte density in the peri-implant bone of immediately loaded and submerged dental implants [J]. *J Periodontol*, 2009, 80(3):499-504.
- [4] Kuroshima S, Yasutake M, Tsuiki K, et al. Structural and qualitative bone remodeling around repetitive loaded implants in rabbits [J]. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2015, 17 Suppl

- 2:e699-e710.
- [5] Hudieb MI, Wakabayashi N, Kasugai S. Magnitude and direction of mechanical stress at the osseointegrated interface of the microthread implant [J]. *J Periodontol*, 2011, 82(7):1061-1070.
- [6] Wolff J, Narra N, Antalainen AK, et al. Finite element analysis of bone loss around failing implants [J]. *Mater Des*, 2014, 61:177-184.
- [7] Feng JQ, Ward LM, Liu S, et al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism [J]. *Nature Genet*, 2006, 38(11):1310-1315.
- [8] 高雪,张栋梁. 三维有限元法在舌侧正畸领域的应用[J]. *口腔医学研究*, 2017, 33(3):342-344.
- [9] Chang HS, Chen YC, Hsieh YD, et al. Stress distribution of two commercial dental implant systems: A three-dimensional finite element analysis [J]. *J Dental Sci*, 2013, 8(3):261-271.
- [10] Slotte C, Lundgren D, Sennerby L, et al. Surgical intervention in enchondral and membranous bone: intraindividual comparisons in the rabbit [J]. *Clin Implan Dent Relat Res*, 2003, 5(4):263-268.
- [11] Sasaki M, Kuroshima S, Aoki Y, et al. Ultrastructural alterations of osteocyte morphology via loaded implants in rabbit tibiae [J]. *J Biomech*, 2015, 48(15):4130-4141.
- [12] Kuroshima S, Nakano T, Ishimoto T, et al. Optimally oriented grooves on dental implants improve bone quality around implants under repetitive mechanical loading [J]. *Acta Biomater*, 2017, 48:433-444.
- [13] Hou PJ, Ou KL, Wang CC, et al. Hybrid micro/nanostructural surface offering improved stress distribution and enhanced osseointegration properties of the biomedical titanium implant [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2018, 79:173-180.
- [14] Boskey AL, Coleman R. Aging and bone [J]. *J Dent Res*, 2010, 89(12):1333.
- [15] Bellido T. Osteocyte-driven bone remodeling [J]. *Calcif Tissue Int*, 2014, 94(1):25-34.
- [16] Kleinnulend J, Bacabac RG, Bakker AD. Mechanical loading and how it affects bone cells; the role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton [J]. *Eur Cells Mater*, 2012, 24(7):278-291.
- [17] Milovanovic P, Zimmermann EA, Hahn M, et al. Osteocytic canalicular networks: morphological implications for altered mechanosensitivity [J]. *ACS Nano*, 2013, 7(9):7542-7551.
- [18] Prendergast PJ, Huiskes R, Soballe K. Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces [J]. *J Biomech*, 1997, 30(30):539-548.
- [19] Tatsumi S, Ishii K, Amizuka N, et al. Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction [J]. *Cell Metab*, 2007, 5(6):464-475.