

血小板衍生生长因子对大鼠种植体周围神经再生影响分析

陶玉娇, 谭忠吉, 王晓丹, 张士博, 周文, 陈月阳

大庆龙南医院 黑龙江大庆

【摘要】目的 分析血小板衍生生长因子 (PDGF) 影响大鼠种植体周边神经再生的情况。**方法** 构建大鼠股骨植入种植体模型, 在刚开始愈合阶段进行 PDGF 的连续注射, 经由免疫组化 (IHC) 染色技术对 PDGF 影响种植体周边神经再生的状况展开分析。**结果** 在 PDGF 作用下, 大鼠股骨种植体周边初期神经纤维数量有所增多, 但是未发现其显著影响到后期种植体周边的神经纤维数目。此外, 此类神经具备周围神经 (PN) 纤维的典型结构。**结论** 对于种植体周边初期神经再生, PDGF 表现出有效地促进作用。此项研究为实现 PDGF 增强种植体周边神经再生, 由此使得种植体感觉功能得到有效改善的临床应用, 在实验层面上给予一定指导。

【关键词】 大鼠种植体; 血小板衍生生长因子; 周围神经再生; 影响

【收稿日期】 2023 年 2 月 20 日 **【出刊日期】** 2023 年 4 月 13 日 **【DOI】** 10.12208/j.ijcr.20230194

Effect of platelet-derived growth factor on peripheral nerve regeneration of implants in rats

Yujiao Tao, Zhongji Tan, Xiaodan Wang, Shibo Zhang, Wen Zhou, Yueyang Chen

Daqing Longnan Hospital, Daqing, Heilongjiang

【Abstract】 Objective: To analyze the effect of platelet-derived growth factor (PDGF) on peripheral nerve regeneration in rats. **Methods:** A rat model of femoral implant was established. PDGF was injected continuously at the beginning of healing. The effect of PDGF on peripheral nerve regeneration was analyzed by immunohistochemistry (IHC) staining. **Results:** Under the action of PDGF, the number of nerve fibers around the femoral implant in rats increased at the initial stage, but it was not found that it significantly affected the number of nerve fibers around the implant at the later stage. In addition, these nerves have typical structures of peripheral nerve (PN) fibers. **Conclusion:** PDGF can effectively promote the peripheral nerve regeneration of implants. In order to realize the clinical application of PDGF to enhance peripheral nerve regeneration of implants, so as to effectively improve the sensory function of implants, this study provides some guidance at the experimental level.

【Keywords】 Rat implant; Platelet derived growth factor; Peripheral nerve regeneration; influence

相关临床观察结果显示, 病人可以感受到向颌骨种植体上施加的机械作用力。骨结合的种植体机械加载环节出现的感知觉, 即“骨感知”。就性质而言, 由骨感知所致的感觉信号不同于天然牙负载环节出现的感知觉信号。相关临床实验结果表明, 在触觉灵敏度方面, 种植体不及天然牙。临床领域出现的诸如基台松动、修复体折断等种植并发症皆和种植体负载过高存在一定联系。在临床实际治疗方面, 虽然能够经由调整咬合或者控制咬合力途径, 防止种植体负载过高问题的出现, 但是倘若可以有效改善种植体的感知觉功能, 会极大有助于种植体长期成功率的维持, 同时使病人生理以及心理层面上更高的需求得到满足。经由

组织学研究已明确, 人类的骨结合种植体周边、与种植体螺纹区域相邻的骨组织内分布着无髓鞘以及有髓鞘的神经纤维, 也就是在种植术后新产生的骨中有神经纤维分布。经由动物的电生理学实验结果也表明, 种植体周围有感觉神经反馈通路分布。我们应当高度重视在骨感知现象中种植体周边的神经支配的关键性。所以, 帮助种植体周边神经组织的再生, 极大有助于种植体周边感觉功能的提升与改进。

血小板衍生生长因子 (PDGF) 对于细胞的生长以及分化具备调节效能, 在血管生成中发挥着非常关键的作用。此外, PDGF 属于一类高效能的促有丝分裂元, 对于平滑肌细胞 (SMC)、间充质来源的诸多细

胞类型、骨细胞、血细胞、软骨细胞等众多不同种类的细胞,尤其是神经胶质细胞(GC),皆表现出较强的效能。但是,现今关于PDGF对牙种植体周边神经再生具促进效能与否尚未达成共识。此次研究的目的是为分析PDGF影响大鼠种植体周边神经再生的情况,旨在为帮助种植体周边神经再生,使得种植体感觉功能得到改善开辟新的治疗路径。

1 实验材料及方法

1.1 动物模型的构建

实验动物为雄性、Sprague-Dawley (SD) 大鼠,皆取自某动物实验中心,共计30只,周龄皆8周龄,体重皆处于250g至300g范围,饲喂于某实验室。柱状纯钛种植体取自某研究中心,种植体具光滑的表面,未见螺纹分布,直径、长度分别为1.0mm、10mm。

麻醉环节所用药剂为水合氯醛(1%)。待完成麻醉,对两侧后肢行备皮处理,再放到手术台上,以仰卧位保定。对于手术区,通过聚维酮碘(2.5%)以及乙醇(75%)行消毒处理,再铺巾。于两侧膝关节偏内侧行一个长度为2cm的纵向切口,顺切口对皮肤、皮下组织与肌肉行剥离操作,是股骨远端关节面完全显露。于关节面正中区域,经由钻针(直径为1.0mm)完成长10mm种植体窝的制备,并使其沿股骨长轴。把已行消毒处理的种植体向此种植体窝内插入。行分层复位缝合操作,最后对切口行严密关闭操作。

1.2 术后处理与分组

待手术结束,对于每只实验动物随机选择一侧,将1mL的PDGF注射液注入至种植体周围骨膜下,将其当做PDGF组,同时于后肢处进行准确标记。将1ml生理盐水注入至另一侧,将其当做对照组。不管是PDGF注射液,还是生理盐水,皆需每日进行1次注射,共进行2w连续注射。此外,术后3d内需向实验动物臀部肌注射青霉素(PEN)。

1.3 标本提取

在术后4w以及8w时,分别经由随机方式选取15只实验动物,经由腹腔注射水合氯醛(10%)途径处死,再取材。对两侧完整股骨进行分离,留存股骨远端完整关节面,同时对骨膜与其上一层软组织做保留处理。标本通过多聚甲醛(4%)加以固定。

1.4 组织学观察

把提取的标本移至17%乙二胺四乙酸(EDTA)内,在4℃下脱钙。经过4w脱钙处理,横行完善标本至种植体平面,把种植体自股骨远端推向近端。行石蜡包埋处理,再和种植体长轴保持垂直实施切片操作。

通过山羊血清封闭切片,分别滴加小鼠抗NFP(神经丝蛋白)抗体与兔抗S-100抗体,再各自滴加二抗(由生物素标记),行S-A/HRP反应,最后DAB显色。借助显微镜查看IHC染色切片,同时借助软件ImagePro-Plus 6.0开展分析。对于NFP免疫组化图片,对各切片阳性结构数量展开测量,各样本皆测量5张切片,将均数作为终值。如果终值>3条,那么属于阳性样本。阳性率为阳性样本量在总样本量中的占比。

1.5 统计学处理

统计处理的工具为软件SPSS25.0,NFP的IHC结果由百分比呈现,经由 χ^2 检验对此结果展开分析,显著性检验水准确定为 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 NFP的IHC染色结果

染色结果表明骨组织内神经结构的NFP存在较高特异性表现。大鼠股骨种植体周边NFP阳性神经结构于种植窝边缘、骨膜、骨小梁腔隙、周围骨髓腔内分布。其中,种植窝边缘的骨髓组织内显示有神经纤维分布,没有观察到NFP阳性结构直接接触种植体。骨小梁腔隙内有神经纤维散在分布。骨髓腔中能够观察到无规则性分布的神经纤维以及神经纤维束。同时能够观察到神经纤维束分布于骨膜层,大部分伴行于血管。

待至术后第4w,在种植体周边NFP样本阳性率方面,对照组、PDGF组各是53.33%(8/15)、93.33%(14/15),就阳性率而言,PDGF组较对照组显著偏高($P<0.05$)。待至术后8w,在种植体周围NFP样本阳性率方面,对照组、PDGF组各是73.33%(11/15)、86.67%(13/15),就阳性率而言,2组未见明显区别。

2.2 S-100的IHC染色结果

一般情况下,S-100分布在神经嵴来源的细胞内,包括GC、施万细胞与黑素细胞。但是,脂肪细胞、成纤维细胞(Fib)、骨髓基质细胞(BMSCs)、单核/巨噬细胞(MNP)等也表达此蛋白。因此,在对S-100阳性结构进行分析时,应基于神经的结构形态,同时基于NFP的IHC结果加以辨别。S-100也可见种植体窝边缘细胞内,此类细胞可能是Fib或者BMSCs。骨髓腔中有无规则性分布的S-100阳性神经纤维存在。其它S-100阳性细胞也可见于骨髓腔内。骨膜层显示典型的神经纤维束。经由神经纤维束横切面能够发现神经纤维束典型结构,即不同数量的环状小管构成束状结构,S-100阳性环形是施万细胞,并且能够观察到若干施万细胞核在其间分布。经由神经纤维的纵切

面能够观察到 S-100 阳性条索样结构, 即施万细胞, 若干细胞核于其间分布。因 S-100 也会表达于其它他细胞内, 所以没有针对 S-100 染色结果开展定量分析。

3 讨论

经由此项研究能够发现, 在术后 4w 时 NFP 的 IHC 结果方面, 对照组、PDGF 组存在显著区别, 可见 PDGF 能够使种植体周边初期神经纤维的数目增多, 对此区域神经再生具促进效应。相关研究发现, 在神经系统内, PDGF 与自身受体在胚胎、成体、已损伤神经元以及 GC 内表达, 释放神经营养与神经调控功能。但是, 现今仅有极少数的研究涉及 PDGF 影响周围神经数量、再生内容。经由研究大鼠坐骨神经损伤模型可知, PDGF 于受损轴突与再生轴突的远端广泛聚集。PDGF 的广泛增殖、合成表达皆通过远端施万细胞实现, 同时表达上调与轴突接触的调节相关。此项研究还发现, PDGF 能够使种植体周边神经数量增多, 含施万细胞包绕的神经纤维束。从而可认为, 在 PN 系统内, PDGF 不仅能够释放神经营养因子效能, 对于神经细胞生存、施万细胞生存与增殖、突触延长具维持作用, 还于施万细胞与再生轴突互作方面释放类似信号传导作用。此次研究显示, NFP 阳性神经结构于骨膜、种植窝边缘、骨小梁腔隙、周围骨髓腔内分布。此类神经分布结果相符于其它研究人员的组织学实验结果。有学者经由研究小鼠股骨发现, 神经纤维于骨膜、矿化骨、骨髓内皆有分布, 同时就分布量而言, 骨髓高于另两个部位。此外, 此项研究经由 S-100 联合 NFP 的 IHC 图片分析可知, 大鼠股骨种植体周边神经纤维存在 PN 纤维的典型结构。有研究人员对相同的动物模型展开研究, 在第 8w 种植体已见骨整合后, 可观察到小直径感觉神经纤维、神经轴突分布于种植体周边骨组织内, 处于管腔中, 或者伴行于血管。相关学者经由对大鼠颅骨、胫骨、下颌骨神经实施染色处理, 观察到此类神经的来源包括感觉神经与交感神经。可见, 交感神经、感觉神经皆对骨内神经具支配功能。现今与增强种植体 PN 再生相关的实验, 除了涉及生长因子, 还涉及神经肽类。有学者拟经由神经生长因子增强神经细胞的生物学功能, 由此实现对种植体 PN 再生的有效促进。有研究人员认为, 降钙素基因相关肽- α 对于施万细胞增殖具促进效应, 并且可扩张血管, 以及对成骨细胞 (OB) 活性施以调节, 发

现局部进行此神经肽干预, 对种植体 PN 再生有利。对于种植体 PN 再生, 种植体表面性质以及种植负重方案同样具显著影响。相关研究结果显示, 就影响初期神经再生方面, 不同表面存在显著区别, 后期未见明显不同。有研究对种植体表面性质影响施万细胞生物学行为的状况展开分析, 结果显示, 相较塑料培养板, 钛种植体表面对施万细胞的生物学活性具提升效能。另外, 围绕种植体即刻负重与延期负重开展的动物实验结果显示, 不同负重时间下, 种植体周边的神经密度存在显著不同表现。相关综述表明, 相较于拔牙窝与非负重种植体, 负重种植体周边的神经纤维量大幅提高, 并且在种植体负荷提高下, 游离神经末梢的数目随之提高。上述实验皆为增强种植体 PN 再生, 使种植体感觉功能得到更好改善开辟出新的研究路径。

总之, PDGF 能够使大鼠股骨种植体周边初期神经纤维量提高, 充分表明 PDGF 在此方面发挥着积极作用, 此外, 此类神经存在 PN 纤维的典型结构。此次研究在实验层面上为实现 PDGF 增强种植体 PN 再生, 由此使种植体感觉功能得到改善的临床应用给予了一定支撑。

参考文献

- [1] 王艳颖, 宫苹, 张健. 血小板衍生生长因子对大鼠种植体周围神经再生影响的研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2019, 37(04): 350-354.
- [2] 刘伟. 炎性因子在糖尿病大鼠周围神经修复再生中的作用及中药筋脉通对其影响的研究[D]. 北京协和医学院, 2015.
- [3] 肖雨, 翁秋燕, 邵磊, 等. 周围神经损伤后再生与修复机制研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2022, 49(07): 1243-1250.
- [4] 宋凯凯, 张锴, 贾龙. 周围神经系统损伤的微环境与修复方式[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(04): 651-656.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS