维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2005)01-0078-03

双黄补缓释药条对实验性牙周组织再生的研究

许彦枝，张东妹，王晓玲，王永军

(河北医科大学第四医院口腔科,石家庄 050011)

【摘 要】目的:探讨双黄补缓释药条对实验性牙周组织再生修复的作用。方法:以 4 只 Beagle 犬双侧上下颌第二切牙及尖牙作为手术部位,共 32 个,将其配对分组为实验组和对照组各 16 个牙位。实验部位经翻瓣术造成人工牙周骨缺损,应用双黄补缓释药条,对照组为单纯翻瓣术;分别于术后 1 个月和 3 个月做组织学观察以及新生牙槽骨、新生牙骨质、结合上皮长度的测量。结果:实验组术后 1 个月和 3 个月新生牙槽骨和牙骨质明显大于对照组的相应值($P<0.05$);术后 1 个月实验组结合上皮长度明显短于对照组($P<0.05$),而术后 3 个月两组 JE 值差异无显著性意义($P>0.05$)。结论:双黄补缓释药条可促进实验动物新生牙槽骨和牙骨质的生长,抑制结合上皮根移,有利于牙周组织再生。

【关键词】中药缓释药条;黄连;黄芩;骨碎补;牙槽骨质丢失

【中国图书分类法分类号】R781.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2004-06-17

The study of shuanghuangbu delivery device in experimental regeneration of periodontium

XU Yanzhi, et al

(*Department of Stomatology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To discuss the effect of shuanghuangbu delivery device on the regeneration of the experimental periodontium. *Methods*: The second incisor and the canine of four beagle dogs were randomly divided into the experimental group and the control group. Shuanghuangbu was applied to periodontal defect in the experimental group and no disposition to periodontal defect in the control group. The specimens were respectively obtained in one month and three months after operation and then observed. Furthermore, the height of new bone and cementum formation and the length of junctional epithelium were measured in the two groups. *Results*: The heights of new bone and cementum regeneration in the experimental group were extremely bigger than those in the control group on one month and three months postoperatively ($P<0.05$). The length of junctional epithelium of the experimental group were less than that of the control group on one month postoperatively($P<0.05$), but there was no significant difference between two groups on three months ($P>0.05$). *Conclusion*: Shuanghuangbu can obviously promote the new bone and cementum formation, restrain the migration of junctional epithelium and enhance the regeneration of periodontal tissue.

【Key words】Chinese herbal delivery device; Baikal skullcap root; Goldthread root; Fortune's drynaria rhizome; Alveolar bone loss

牙周病是牙周组织的慢性感染性破坏性疾病,以菌斑细菌为始动因子,其最终结果将导致牙周袋形成,牙槽骨吸收,牙齿松动、脱落。牙周病的治疗一直是困扰临床医师的重要问题。近年来,牙周袋内局部用药特别是应用中草药越来越引起人们的重视。经大量研究证实[1~5,7],黄连和黄芩对多种牙周致病菌有抑制作用,骨碎补能有效促进骨的形成。本实验将双黄补缓释药条应用于实验性犬人工牙周骨缺损中,观察其对牙周组织再生的作用及促进牙周组织再生修复的病理生理机制,为其更广泛的应用于临床寻求组织学依据。

作者介绍:许彦枝(1954-),女,主任医师,教授,博士,主要研究方向:牙周病、口腔黏膜病。

基金项目:河北省科技厅资助课题(02276103D-19)

1 材料和方法

1.1 双黄补缓释药条的制备

将黄芩,黄连,骨碎补等加水煎煮,药液过滤浓缩,冷藏静置 48h,过滤,收集滤液,烘干沉淀,研细过筛。将沉淀细粉均匀分散于乙基纤维素乙醇溶液中,搅匀后铺于玻璃板上作为缓释层;然后,在收集的滤液中加入聚乙基醇(PVA17-99)和羧甲基纤维素钠(CMC-Na)及药用甘油,铺在缓释层

维普资讯 http://www.cqvip.co

上，作为快释层。脱膜后，紫外线消毒，4℃贮存备用，其生药含量为 0.04mg/mm³，使用时根据需要剪成合适的长度。

1.2 实验动物与分组

1.2.1 实验动物 随机选取体重 10～13kg 的健康英国小猎兔犬（河北医科大学动物实验中心提供）4 只，年龄 1.5～2 岁；口腔内所有牙齿无明显的牙石和软垢，牙龈附着情况良好；软组织色、形、质正常；龈沟深度均在 1mm 之内，无炎症表现和牙周袋形成。犬的日常活动和状态良好。

1.2.2 分组 以每犬双侧上下颌第二切牙及尖牙作为手术部位，共 32 个，将其配对分组为实验组和对照组各 16 个牙位。

实验组（手术造成牙周骨缺损，放双黄补缓释药条后龈瓣复位缝合，分别于术后 1 个月和 3 个月处死动物）

对照组（手术造成牙周骨缺损，单纯龈瓣复位缝合，分别于术后 1 个月和 3 个月处死动物）

1.3 手术过程

麻醉动物后，于实验牙颊侧近远中牙龈处作梯形切口及龈沟内切口，翻开粘骨膜瓣，至骨缘下 6～7mm，去除每牙颊侧正中长为骨缘下约 5mm，宽占根面 1/3 的牙槽骨，刮除裸露根面的牙周膜、部分牙骨质。在骨缘及骨缺损底部以骨凿作相应的刻痕，作为组织学观察标志。实验组区域放置剪成长条与骨缺损面积相当的药条，龈瓣复位，龈乳头悬吊缝合，梯形瓣间断缝合。术后前 3 天肌注庆大霉素 8 万 U/d，半流食。从第 5 天开始，每隔 5d 将动物基础麻醉后，局部清理手术部位，实验侧更换双黄补缓释药条，共 4 次；对照组只清理手术部位。

1.4 组织标本采集及处理

分别于术后 1 个月、3 个月氯胺酮麻醉下颈动脉放血处死动物，截取上下颌骨，以牙为单位取颊舌向牙体牙周联合标本，厚约 5mm，置于 10% 福尔马林中固定 2 周，10% 乙二胺四乙酸二钠盐（EDTA）脱钙 12 周；从相当于缺损区中央将组织块切成近远中两块，常规 HE 染色，进行光镜观察和组织学测量。

1.5 组织形态学观察指标

骨缺损高度（experiment defect，ED）：裸露根面原骨缘刻痕至缺损底刻痕的距离。

新生牙槽骨高度（new alveolar bone formation，NB）：裸露根面牙槽骨缺损底刻痕至新生牙槽骨冠缘的距离。

新生牙骨质高度（new cementum formation，NC）：裸露根面牙槽骨缺损底刻痕至新生牙骨质冠缘的距离。

结合上皮长度（the lenghth of junctional epithelium，JE）：龈沟上皮根尖端底至结合上皮根尖端底的距离。

每个标本连续切 3 张切片，测量后取其平均数。

1.6 统计学方法

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，应用 SPSS 软件进行统计分析，采用配对 t 检验。

2 结 果

2.1 临床观察

所有手术部位切口愈合良好，术后 5 天龈缘充血，有轻度肿胀，牙龈组织瓣与根面结合较松弛；10 天时基本恢复正常，牙龈紧贴根面，紧缩，牙龈色、形、质正常。1 个月和 3 个月时，牙龈沟深度 1～2mm，无明显牙周袋形成，各个牙位牙龈不同程度的退缩，犬的健康状况良好。

2.2 组织学观察

术后 1 个月，实验组牙周组织内未见明显的炎症细胞，偶尔个别标本牙龈结缔组织内尤其是龈沟上皮下方可见少量炎症细胞主要为淋巴细胞和浆细胞；新生牙槽骨和牙骨质沿骨缺损底部向冠方延伸，新旧牙槽骨分界明显；新生牙槽骨边缘见大片成骨细胞排列，骨小梁稀疏，未见成熟的哈弗氏系统；新生牙骨质边缘也可见成牙骨质细胞成行排列：牙周膜组织内血管数量较多，未见明显横向排列的纤维组织（见图 1）。

对照组结缔组织内可见大量的炎症细胞，以淋巴细胞和浆细胞为主，也可见中性粒细胞和巨噬细胞；新生牙槽骨和牙骨质及牙周膜组织不如实验组明显；根面出现吸收现象（见图 2）；两组均有结合上皮根移。

术后 3 个月，实验组新生牙槽骨和牙骨质再生量增大，牙槽骨内可见有明显中央管腔和板层状骨的渐趋成熟的哈弗氏系统；成骨细胞和成牙骨质细胞减少：牙周膜组织明显，内有大量血管、细胞和纤维成分；未见根面吸收和根骨粘连（见图 3）。

对照组硬组织再生量明显低于实验组，新生牙槽骨为窄长的指状骨，未见成熟的哈弗氏系统；根面轻微吸收；牙周膜组织不明显，纤维排列紊乱（见图 4）。两组均有明显结合上皮根移。

2.3 牙周组织学测量结果（见表 1）

因取材时牙体分离，遵照严格配对原则，剩余标本 24 例，每组 6 例。术后 1 个月和 3 个月，两组骨缺损高度差异无显著性意义（$P>0.05$），提示两组均衡性较好，具有良好的可比性。实验组术后 1 个月和 3 个月新生牙槽骨和新生牙骨质量分别显著高于对照组相应值（$P<0.05$）；术后 1 个月实验组结合上皮长度明显短于对照组相应值（$P<0.05$）；而术后 3 个月，两组 JE 值差异无显著性意义（$P>0.05$）。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1　实验组和对照组组织学测量结果比较($\bar{x} \pm s$,mm)

组别	1 个月				3 个月			
	ED	NC	NB	JE	ED	NC	NB	JE
实验组	4.535±0.150	0.911±0.115*	1.061±0.242	1.125±0.375*	4.604±0.109	1.048±0.245*	1.332±0.365*	1.781±0.198
对照组	4.538±0.206	0.702±0.143	0.857±0.247	1.241±0.327	4.589±0.113	0.807±0.165	1.090±0.269	1.798±0.141

注:*实验组与对照组比较,均 $P<0.05$;ED:骨缺损高度;NC:新生牙骨质;NB:新生牙槽骨;JE:结合上皮长度

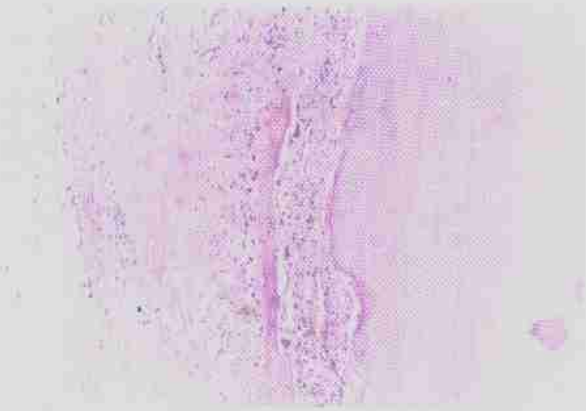


图 1　实验组术后 1 个月　HE×100

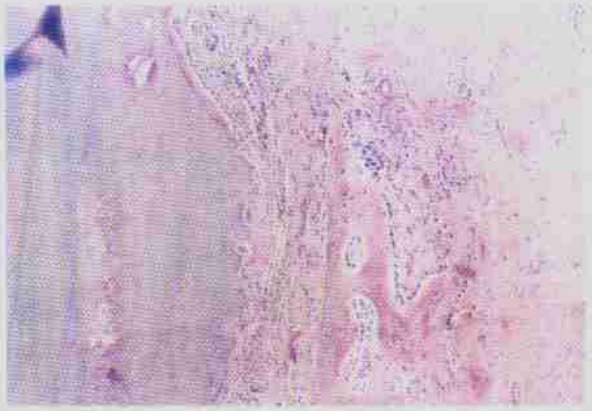


图 2　对照组术后 1 个月　HE×100



图 3　实验组术后 3 个月　HE×100



图 4　对照组术后 3 个月　HE×100

3　讨　论

双黄补缓释药条主要由黄连、黄芩、骨碎补组成。黄连具有广谱抗生素的作用,对多种细菌有抑制作用[1]。姜广水等[2]通过实验研究发现,黄连水煎液提取物对伴放线放线杆菌和牙龈卟啉菌这两种牙周致病菌的生长有很强的抑制作用。同时黄连还有较强的抗炎作用,对动物的炎性水肿、炎性肉芽肿等都有显著的抑制作用,其抗炎机理可能与刺激促皮质激素有关[3]。Tsao 等[4]实验表明,黄芩对牙龈类杆菌、中间普氏菌、核梭形杆菌、伴放线放线杆菌、粘放线菌等 11 种牙周可疑菌有抑制作用;而且黄芩具有抗炎和抗变态反应的功能[5]。骨碎补所含成分为柚皮甙,新北关草甙,β-谷甾醇,原儿茶酸,丁二醇等[6],现代药理学研究发现骨碎补能改变软骨细胞功能,推迟细胞退行性变;降低骨关节病的发病率及发病程度,推迟发病时间[7]。骨碎补在一定程度上能改善人牙龈成纤维细胞(HGF)在牙周病根面上的生长状态,减轻根面残余毒素对细胞的损伤,从而促使 HGF 有较明显的增殖,提示骨碎补可能直接参与了促进牙周结缔组织新附着形成的过程[8]。

本实验将双黄补缓释药条应用于动物牙周骨缺损中,组织学观察发现术后 1 个月实验组牙周组织无明显炎症表现,减少了菌斑细菌的胞膜成分及其产生的酶、毒素、代谢产物引起的牙周组织破坏,有利于牙周组织再生修复,充分显示了双黄补缓释药条抑菌抗炎的作用。而且,实验组术后 1 个月结合上皮长度 JE 明显短于对照组,但术后 3 个月两组 JE 值差异无显著性意义,此结果表明双黄补在牙周组织修复的早期,能明显抑制结合上皮下移,为牙周膜细胞(PDLC)占据根面创造条件。随着时间延长,

维普资讯 http://www.cqvip.com

其抑制结合上皮下移的能力降低，与对照组相比无显著性差异，这可能与双黄补缓释药条应用时间较短有关。

牙周病治疗目的是重建因牙周病丧失的牙齿支持组织，特别是牙槽骨和牙骨质的再生对牙周病的治疗有重要意义。实验组术后 1 个月和 3 个月新生牙槽骨高度(NB)分别高于对照组的相应值，差异有显著性意义；同样，实验组同时期新生牙骨质高度(NC)均显著高于对照组的相应值。而且实验组牙周组织内可见大量成骨细胞和成牙骨质细胞成片或成排分布，表明实验组骨再生活动非常活跃；牙周膜组织内含有大量血管、细胞和纤维成分，未见根面吸收和根骨粘连。虽然，实验组的硬组织再生量与骨缺损高度相比较小，却可以认为是真正的牙周组织再生。

近年来，牙周袋内局部用药特别是中草药越来越引起人们的重视，如牙周清凝膏[9]，牙周灵膜剂[10]等，应用于临床牙周病患者中，可有效控制牙龈炎症，降低龈沟出血指数。周汝俊等[11]研制的黄甲棒缓释剂对牙周病优势菌有明显抑制效果，在临床上应用有很好的疗效。由此可见，牙周局部中药缓释制剂有广阔的前景。目前，这些中药局部制剂大都是从抑菌抗炎入手，本实验将抑菌抗炎与诱导骨形成二者相结合开发出安全有效的牙周局部中药缓释制剂，将可能为牙周病的治疗开辟一种新途径。

参 考 文 献

[1] 李建祥，刘立干. 黄连药理作用临床评述[J]. 时珍国医国药，1999；10(10)：797－798.

[2] 姜广水，吴钦贞. 黄连提取物对牙周致病菌的抑制作用[J]. 山东医药，2000；40(18)：41－42.

[3] 马清钧，王淑玲，主编. 常用中药现代研究与临床[M]. (第 1 版)，天津：天津科技翻译出版公司，1995：82－83.

[4] Tsao TF, Newman MG, Kwok YY, et al. Effect of Chinese and western antimicrobial agents on selected oral bacteria [J]. J Dent Res, 1982；61(9)：1103－1106.

[5] 孟建华，李艳琴，朱金婷. 中医外科外用药研究－2 味中草药对体外抗菌作用实验研究[J]. 河北中医学院学报，1996；11(3)：31－32.

[6] 国家医药管理局中草药情报中心站，主编. 植物药有效成分手册[M]. 北京：人民卫生出版社，1986：160－161.

[7] 丁继华. 骨碎补对骨性关节炎影响的实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志，1989；5(3)：3－4.

[8] 刘 斌，司徒镇强，吴军正，等. 枸杞和骨碎补对 HGF 体外附着和生长的影响[J]. 中华口腔医学杂志，1992；27(3)：159－161.

[[9] 楼淑华，杜顺福. 牙周清凝膏治疗牙周病 82 例疗效观察[J]. 中医外科杂志，1998；7(1)：6－7.

[10] 张志荣，黄秋琴，徐丽娟. 牙周灵膜剂治疗成年人牙周炎的疗效观察[J]. 临床口腔医学杂志，2001；17 卷增刊：22－23.

[11] 周汝俊，陈涟如，黄敬耀，等. 黄甲棒缓释剂的研究[J]. 中华口腔医学杂志，1996；31(3)：159－160.