DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.12.028
第22卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 12
2000年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2000

文章编号:1000-5404(2000)12-1189-02

论著

酸对人和牛牙齿组织脱矿力的对比研究

刘鲁川,温秀杰 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所口腔科,重庆 400042)

提 要:目的 检测酸对人牙釉质、牛牙釉质与牛牙本质的脱矿力,评价其脱矿机制。方法 实验分为人牙釉质与牛牙釉质对比组(每组10粒牙齿),牛牙釉质与牛牙本质对比组(每组10颗牙齿),分别进行酸蚀处理,采用自制的中性载体钙离子选择性微电极(Ca^{2+}-ISME)测试酸蚀模型中的Ca^{2+}浓度,进行对比分析。结果 酸对牛牙釉质的脱矿力显著大于对人牙釉质的脱矿力($P<0.05$);酸对牛牙本质的脱矿力显著大于对牛牙釉质的脱矿力($P<0.05$)。结论 酸对不同种类的牙齿硬组织的脱矿力具有明显差异,故在不同实验对象和样本的选择上应予考虑和重视。

关键词:钙离子选择性微电极;人牙;牛牙;脱矿
中图法分类号:R781 文献标识码:A

Comparative study of acid-induced demineralization of human and bovine teeth *in vitro*

LIU Lu-chuan, WEN Xiu-jie (Department of Stomatology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400043, China)

Abstract: Objective To detect the condition of demineralization of teeth hard tissue, including human enamel, bovine enamel and bovine dentin under the effect of acid and evaluate the mechanism of demineralization. Methods A self-made calcium ion selective microelectrode (Ca^{2+}-ISME) with neutral carrier was employed to measure the concentration of calcium in solution collected after the solution was exposed to the teeth. Then a comparative analysis was carried out. Results The acid-induced demineralization was significantly higher in bovine enamel than in human enamel ($P<0.05$) and that of bovine dentin was markedly higher than that of bovine enamel ($P<0.05$). Conclusion There was a significant difference in different species on the resistance of teeth hard tissues to acid, thus attention and consideration should be paid to when the subjects and samples are selected in the experiments. The higher demineralization of dentin in this study contributes to the phenomenon that the development of dentin caries is faster than that of enamel caries in the clinical examination.

Key words: calcium ion selective microelectrode; human teeth; bovine teeth; demineralization

龋病的发生是致龋菌利用碳水化合物,在牙菌斑这一特殊的生态环境下,通过发酵产酸造成牙齿硬组织脱矿的结果。因此,对牙齿硬组织的脱矿和再矿化过程及其机制的研究一直受到重视[1,2]。由于影响牙齿硬组织脱矿的因素很多,深入了解酸对不同状况下的牙齿硬组织的脱矿力,是阐明其脱矿机制的重要一环。本实验采用自制的钙离子选择性微电极(Ca^{2+}-ISME)测试牙齿经酸蚀后酸蚀液中Ca^{2+}浓度,对比了酸对不同牙齿组织的脱矿力的异同,旨在为龋病病因的深入研究提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 Ca^{2+}-ISME的制备

采用中性载体((TH1001, FlukaAG, Switzerland)作为敏感膜制备Ca^{2+}-ISME,制作方法及电极性能的测试筛选参见文献[3]。

1.2 测试样本的收集

1.2.1 人牙齿的收集 收集临床因正畸或牙周炎而拔除的成人恒牙。小心拔出,确保牙体组织完整,釉质有足够的酸蚀表面。刮尽软组织,截去牙根,去除牙髓;置于30%乙醇溶液中,在4 ℃下贮存,备用。

1.2.2 牛牙齿的收集 收集新鲜的牛前牙。一部分牛牙处

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39670784)
作者简介:刘鲁川(1957—),男,山东省单县人,博士,副教授,主要从事牙体、牙髓、牙周病学方面的研究,发表论文25篇。电话:(023)68757738
收稿日期:2000-07-03;修回日期:2000-10-07

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

理同1.2.1；另一部分牛牙在预磨机上用#80水砂纸磨去唇面牙釉质，取得一直径大于3 mm的牙本质平面，再用#600水砂纸打磨，备用。

1.3 酸蚀模型的建立

将牙齿唇面用石英砂打磨，清洗吹干。用打孔冲在粘胶纸条上打一直径为3 mm的小孔，贴于唇面以限定酸蚀面积，小孔边缘用银汞磨光器压实。在开窗牙面上滴约10 μl蒸馏水，若水滴不流失，则示胶带纸贴合紧密，否则去除重新粘贴。

1.4 样本分组及其酸蚀处理

实验共4组，每组各10颗牙齿，分为两个对比组：Ⅰ组：人牙釉质与牛牙釉质；Ⅱ组：牛牙釉质与牛牙本质。

分别配制0.1 mol/L的甲酸、乙酸、丙酸、乳酸，用饱和KOH溶液将pH调至4.5（试剂均为优级纯或分析纯）。按人体中常见几种酸的比例以甲酸∶乙酸∶丙酸∶乳酸为0.7∶3.1∶3.1∶3.1配制成混合酸蚀液。

分别用微量移液器取20 μl酸蚀液，滴于牙齿开窗面上，静置1 min，回收酸蚀液进行Ca^{2+}测试。

1.5 样本Ca^{2+}的测定

以混合酸蚀液为底液，用逐级稀释法配制1×10^{-1}～1×10^{-5} mol/L的Ca^{2+}标准液，绘制校正曲线。

取一长条形有机玻璃板，均匀涂上一薄层石蜡油，将回收的酸蚀液滴于其上，形成一个液状小滴。将Ca^{2+}-ISME与自制微型参比电极组成测量电池体系，插入液滴中，在输入阻抗为$1\times10^{14}\Omega$的微电极放大器上进行测量。电极在每份样本测试后均经过洗空白并用标准液校正，在电极放入液滴中10 s时记录其稳定的电位值（mV），通过标准曲线获得Ca^{2+}浓度值，收集资料进行统计学分析。

2 结果

人牙釉质与牛牙釉质酸蚀液Ca^{2+}浓度分别为（0.540±0.096）mmol/L和（0.936±0.162）mmol/L，两者相差显著（$P<0.05$）；牛牙釉质与牛牙本质酸蚀液Ca^{2+}浓度比较[（0.950±0.196）mmol/L，（1.911±0.261）mmol/L]，$P<0.05$，两者相差显著。

3 讨论

龋病的形成是以Ca^{2+}的丢失为基本特征，因此对Ca^{2+}的检测是探讨牙齿硬组织脱矿和再矿化机制的主要手段之一。目前测试钙离子的手段较多，包括吸光光度法、原子吸收光度测量法、电子探针扫描等。这些手段虽各有特色，但均存在某些不足，如有的对样本量、纯度有一定的要求；有的需要经过技术处理才能测试，操作较繁琐，影响其准确性，且只能反映样本中的总钙水平。而生物体中游离钙的测试才更有生物学意义。Ca^{2+}-ISME是一种对被测体系中的游离钙具有选择性电位响应的技术，其特点是操作简便、快速、敏感、准确、所需样本量小，减少了因技术处理所致的误差，而且由于其直接反映的是离子钙的活度和浓度，更能切合机体内离子变化的实际情况[3]。本实验采用这一技术使结果更为可靠和可信，也进一步印证了其良好的应用前景。

在口腔研究领域的诸多实验中，进行体外实验时往往涉及到牙齿的来源问题，由于收集人牙齿的局限性，加之有的研究还要求牙齿有较大的表面积、体积等，单靠人牙齿难以满足需要。而牛牙齿的形态结构、酸蚀脱矿与再矿化模式等与人牙齿类似，因此，目前在龋病的研究中常采用牛牙齿来代替人牙齿[2,4,5]。鉴于此，本实验对人牙釉质与牛牙釉质在同样条件下的脱矿力进行了对比研究。结果显示：酸对牛牙釉质的脱矿力明显大于对人牙釉质的脱矿力。这可能是因为两者的釉质矿化程度不同而导致的差异，揭示我们在用牛牙代替人牙进行的相关研究中，应考虑这一因素。

从酸对牛牙釉质与对牛牙本质的脱矿力的对比来看，后者的脱矿力显著大于前者。过去的研究已经证实，牙釉质是一高度钙化的硬组织，其中含有的无机质成分占总量的95%以上，而牙本质中的无机质仅占总量的70%左右，其余为有机物质（如胶原、蛋白）和水，矿化程度较牙釉质低[6]。因此在抵御酸的侵蚀过程中，牙本质的抗酸能力低于牙釉质，加之牙本质小管的存在，使酸易侵入深层结构，这些特性导致了牙本质中的Ca^{2+}易于丢失，同时也进一步解释了龋坏过程中，龋在牙本质中的发展快于牙釉质的现象。

由此看来，不同种类以及同种不同结构的牙齿硬组织的抗酸能力是不同的，在实验对象的选择、实验结果的判定中应予以重视。

参考文献：

[1] Ferreire-zandona A G, Analoui M, Beiswanger B B, *et al*. An *in vitro* comparison between laser fluorescence and visual examination for detection of demineralization in occlusal pits and fissures [J]. Caries Res, 1998, 32(2): 210－218.

[2] Zaura-Arite E, Exterkate R A, ten Cate J M. Effect of high fluoride concentration on bovine dentin demineralization in narrow grooves *in vitro*[J]. Eur J Oral Sci, 1999, 107(6): 455－460.

[3] 刘鲁川，吕太平，岳松龄，等. 钙离子选择性微电极在口腔医学研究中应用的初步探讨[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志，1997, 7(3): 158－161.

[4] Amaechi B T, Higham S M, Edgar W M. Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth *in vitro*[J]. Arch Oral Biol, 1998, 43(8): 619－628.

[5] Kleter G A, Damen J J, Everts V, *et al*. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin *in vitro*[J]. J Dent Res, 1994, 73(9): 1 523－1 529.

[6] 王光华，彭式韫 主编. 牙体修复学[M]. 北京：人民卫生出版社，1994. 11－14.

（编辑 陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net