DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.02.033
第22卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 2
180 2000年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)02-0180-02

钙离子选择性微电极直接测试人牙菌斑 Ca^{2+} 的初步探讨

刘鲁川[1],温秀杰[1],岳松龄[2],吕太平[2] ([1]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;[2]华西医科大学口腔医学院、药学院,成都 610041)

提 要 目的:评价钙离子选择性微电极(Ca^{2+}-ISME)对原位牙菌斑 Ca^{2+} 检测、分析的可行性及其意义。方法:采用自制的中性载体 Ca^{2+}-ISME 直接测试牙菌斑中的 Ca^{2+},并对 Ca^{2+}-ISME 进行了进一步的改进。结果:聚氯乙烯毛细管与玻璃毛细管制备的电极具有类似的性能,但在牙菌斑 Ca^{2+} 的测试中电位显示不稳定,波动幅度大,重复性差。结论:Ca^{2+}-ISME 用于原位牙菌斑 Ca^{2+} 的测试尚有许多问题有待解决。

关键词 钙离子选择性微电极;菌斑;测试
中图法分类号 R781.102;R781.202 文献标识码 A

Direct measurement of Ca^{2+} in human plaque with calcium ion-selective microelectrodes

LIU Lu-chuan, WEN Xiu-jie, YUE Song-ling, LU Tai-ping (Department of Stomatology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042)

Abstract Objective: To evaluate the feasibility and significance of calcium ion-selective microelectrodes (Ca^{2+}-ISME) in measurement of Ca^{2+} of *in situ* human plaque. Methods: The Ca^{2+}-ISME was improved and used in direct measurement of Ca^{2+} in human plaque. Results: The properties of measurement with both polyvinyl chloride and glass capillary electrodes were similar. However, the application of direct measurement of Ca^{2+} was not ideal in this study. Conclusion: Many problems remain to be solved in using Ca^{2+}-ISME to measure Ca^{2+} in human plaque.

Key words calcium ion-selective microelectrode; plaque; measurement

龋病的发病机制是一复杂的过程,其形成是以牙体硬组织的脱矿为特征。牙菌斑是致龋过程中必不可少的生态环境,过去主要以牙菌斑中 pH 值的改变作为评估牙菌斑活性的指标。但仅此为依据尚不足以反映牙菌斑微生态代谢的实际情况,因为其中的无机离子(尤其是 Ca^{2+})的动态变化也是主要的影响因素。曾有学者[1]对牙菌斑中的 Ca^{2+} 与 pH、Ca^{2+} 与龋病的关系作过一些有益的探讨,但多是在离体情况下的间接分析,目前对菌斑 Ca^{2+} 的在位分析尚是一项空白。本研究拟采用自制钙离子选择性微电极(Ca^{2+}-ISME)直接测试人牙菌斑中的 Ca^{2+} 活度,探讨其在在体状态下应用的可行性及其意义,以期为全面、真实反映牙菌斑致龋病寻求更好的途径。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39670784)
作者简介:刘鲁川(1957.1),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20篇。电话:(023)68757738
收稿日期:1999-09-25;修回日期:1999-12-26

1 材料与方法

1.1 Ca^{2+}-ISME 的制备

1.1.1 微型玻璃毛细管 Ca^{2+}-ISME 的制作 采用中性载体 ETH 1001(Fluka AG, Switzerland)作为敏感膜材料,制作方法参见文献[2]。

1.1.2 聚氯乙烯毛细管 Ca^{2+}-ISME 的制作 取洁净聚氯乙烯空心管(内径 0.5 mm)在微火上加热到适当软硬度,手拉制成尖端直径约 0.1~0.5 mm 的细管,所用敏感膜的配方及方法同玻璃毛细管电极,但采用先灌膜的方法,膜厚度控制在 100~200 μm,待膜中四氢呋喃挥发数小时后再从毛细管后端灌注内充液。

1.1.3 Ca^{2+}-ISME 的性能测试 对 2 种不同毛细管制成的 Ca^{2+}-ISME 进行各项性能测试,测试方法参见文献[2]。筛选出性能较佳的 Ca^{2+}-ISME 用作原位牙菌斑 Ca^{2+} 的检测。

收集 10 例成人唾液(本校大学生),用 2 种毛细管制成的微电极分别测试唾液 Ca^{2+} 含量,并作对比分析。

1.2 实验牙齿和受试者的选择

1.2.1 离体牙菌斑中 Ca^{2+} 的检测 选择临床上牙周病患者应拔除之松动牙齿,嘱患者 24 h 内不刷牙,拔牙前禁饮禁食 2

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

h。术者小心分离牙龈，钳夹牙齿时尽可能不损及邻面的牙菌斑。拔除后立即置于密闭瓶中送实验室测试菌斑 Ca^{2+}。

1.2.2　在体牙菌斑中 Ca^{2+} 的测试　　选择无明显龋病、牙周病的本实验室工作人员，先测试受试者唾液 Ca^{2+} 后再行邻面牙菌斑 Ca^{2+} 测试，以作对比分析。将 Ca^{2+}-ISME 指示电极和微型参比电极与 SWT-1 型高阻抗微电极放大器(成都仪器厂)连接。瞩受试者将左手食指浸入含 3 mol/L KCl 溶液的烧杯中，杯中插有参比电极，通过建立的盐桥形成测量体系。测试前固定受试者头部，口腔中用纱布块隔湿，轻轻蘸干测试位点上多余的唾液。操作者分别将玻璃毛细管和聚氯乙烯毛细管 Ca^{2+}-ISME 直接插于受试者左、右上颌第一前磨牙与第二前磨牙邻面菌斑中，尽可能靠近邻面接触点，测量其电位变化。

2　结果

2.1　微型玻璃毛细管与聚氯乙烯毛细管 Ca^{2+}-ISME 测试成人唾液 Ca^{2+} 结果

玻璃毛细管测定结果为 (0.723±0.116) mmol/L，聚氯乙烯毛细管测定结果为 (0.743±0.089) mmol/L，配对 t 检验，$P>0.05$，2 种微电极测试唾液 Ca^{2+} 无显著性差异。

2.2　微型玻璃毛细管测试菌斑 Ca^{2+}

结果显示：①测试唾液 Ca^{2+} 时电位稳定；而在离体牙菌斑和口内原位菌斑测试中，电位显示极不稳定，波动幅度大；②微型玻璃毛细管 Ca^{2+}-ISME 尖端细小，在肉眼下进行口腔内操作时极易碰折破损；③操作者固定指示电极，并保持其稳定较困难。因此，不能准确记录牙菌斑中的电位显示数值。

2.3　聚氯乙烯毛细管 Ca^{2+}-ISME 测试菌斑 Ca^{2+}

聚氯乙烯毛细管 Ca^{2+}-ISME 用于口腔原位和离体牙菌斑 Ca^{2+} 的测试，解决了微电极易折断损坏的问题，但测试中显示的电位波动较大，洗空白困难，重复性差。

3　讨论

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所致的结果。因此，Ca^{2+} 在口腔环境中的转换是一必然过程，了解其规律和各种影响因素无疑对探明龋病的发病机制，有效地进行龋病的防治具有重要的意义。由于牙菌斑成分存在很大的个体差异和部位差异，研究中尤应考虑单一位点上牙菌斑的特征。而且龋病是一涉及多因素的疾病，随着研究的深入，人们已认识到仅以 pH 改变来评估牙菌斑致龋性的片面性，其依据是：不同的酸在从牙菌斑到釉质的扩散能力是不同的；牙菌斑中的离子饱和度所产生的趋动力对釉质脱矿起着致关重要的作用[3]。研究还发现，饥饿菌斑是处于饱和状态，而且在无龋部位更明显，说明其再矿化的程度更高。可见，对牙菌斑矿物成份的分析也是了解其致龋力的重要指标，尤其分析原位菌斑中的无机离子，是学者们关注的课题[4~6]。

鉴于玻璃毛细管在操作中出现的易碰损的问题，我们采用聚氯乙烯毛细管制备 Ca^{2+}-ISME，经各项性能测试以及检测唾液 Ca^{2+} 的浓度对比看，两者无明显差异，但后者解决了口内操作电极易折断的问题是其可取之处，但由于聚氯乙烯毛细管在拉制中的局限性，很难将其拉制到玻璃毛细管所能达到的直径，限制了其在极微量样本分析中的应用。此外，聚氯乙烯毛细管 Ca^{2+}-ISME 保存时间也较玻璃毛细管微电极为短，寿命仅在 1 周内，是值得注意的问题。

本实验将玻璃毛细管和聚氯乙烯毛细管 Ca^{2+}-ISME用于离体或在体牙菌斑 Ca^{2+} 的检测，结果显示，Ca^{2+}-ISME 用于直接测试牙菌斑 Ca^{2+} 尚不成熟。究其主要原因可能有：①牙菌斑成分复杂，其形态结构对 Ca^{2+}-ISME 的测试环境有较大影响；②口腔中的干扰因素多；③在我们目前的实验条件下，尚不能将受试者置于金属网屏闭中，因此外界干扰易于介入；④受试者的手指、头部、口腔的活动均可直接影响电位的稳定，操作者也较难固定测试电极；⑤肉眼直视的情况下，难以准确判断电极是否插入菌斑中；⑥菌斑中的蛋白等可能产生对微电极的毒性作用。由此看来，Ca^{2+}-ISME 直接用于牙菌斑 Ca^{2+} 的测试尚有许多问题有待解决。

参考文献

[1] 刘鲁川 . 离子选择性微电极在龋病研究中的应用[J]. 国外医学：口腔医学分册，1997，24(1)：27－30.

[2] 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.

[3] Margolis H C，Moreno E C. Composition of pooled plaque fluid from Carise-free and Caries-positive indivduals following sucrose exposure[J]. J Dent Res，1992，71(11)：1 776－1 784.

[4] Margolis H C，Zhang Y P，Gewirtz A，*et al*. Cariogenic potential of pooled plaque fluid from exposed root surfaces in humans[J]. Archs oral Biol，1993，38(2)：131－138.

[5] Vogel G L，Carey Cm，Chow L C，*et al*. Micyo-analysis of plaque fluid from single-site fasted plaque[J]. J Dent Res，1990，69(6)：1 316－1 323.

[6] Tatevossian A. Facts and artefacts in research on human dental plaque fluid[J]. J Dent Res，1990，69(6)：1 039－1 315.

（编辑　王　红）

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