

仙灵骨葆对犬种植体周围炎骨整合影响的实验研究

蒋柳宏¹, 董滢², 闫春歌¹, 刘艳辉¹, 景向东¹

1. 广州中医药大学第一附属医院口腔科, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学祈福医院口腔科, 广东 广州 511495

[摘要] 目的: 观察仙灵骨葆对犬种植体周围炎情况下骨结合的影响, 探讨中药治疗种植体周围炎的方法。方法: 建立犬种植体周围炎模型, 随机分为 3 组, 非炎症组、中药组、盐水组。于用药后 1、2 月后进行种植体周围组织学观察, 了解仙灵骨葆对种植体周围炎的治疗效果。结果: ①炎症组菌斑指数 (PI)、探诊深度 (PD)、牙龈指数 (GI) 均明显高于非炎症组, 差异有非常显著性意义 ($P < 0.01$), 成功复制犬种植体周围炎动物模型。②喂药后 1 月, 盐水组种植体周围骨小梁平均宽度 (TbWi)、结合骨板宽度 (CBLW)、成骨细胞个数 (OBN) 均明显低于非炎症组、中药组, 差异有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。而中药组喂药 2 月后, TbWi、CBLW 非炎症组无明显差异 ($P > 0.05$)。结论: 仙灵骨葆可以对抗炎症引起的骨丧失, 增加种植体周围的骨量, 增加种植体-骨界面的结合骨板宽度, 提高骨结合的质量。

[关键词] 纯钛种植体; 骨结合; 骨质疏松; 仙灵骨葆; 动物实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 07-0194-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.07.090

本实验通过先建立犬种植体周围炎模型, 而后以中药补肾药物—仙灵骨葆灌服, 通过制作组织切片, 在光镜下进行组织形态学观察, 同时应用计算机图像采集和分析系统做骨组织计量学研究, 来观察中药补肾方剂对种植体周围炎情况下种植体与骨结合的影响, 为临床上提高种植牙的成功率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 实验用 Beagle 犬 14 只, 1 岁, 每只体重 (15 ± 0.5) kg, 均为雄犬。中山大学实验动物中心 (合格证号: 0027932)。

1.2 仪器和药物 DPX2MD 型双能 X 线骨密度测定仪 (美国 LU-NAR 公司生产), 牙科低速电机 (SJ-02, 西安航空工业公司第 618 研究所), 石蜡切片机 (BM2135, 德国 Lecia 公司), OLYMPUS 多功能显微镜 (日本, 型号 AX 斜), 纯钛螺纹状种植体 (西安中邦公司生产), 高清晰度彩色图像分析系统 (北京航空航天大学图像中心制作, 版本 4.0), 超声清洗机 (美国 DANBURY 公司生产, 型号 200), 仙灵骨葆胶囊 [主要由淫羊藿、生地黄、续断、补骨脂组成, 黔卫药准字 (1996) 第 100019 号, 贵州仙灵药业有限公司产品, 每粒含生药 0.75 g]。

1.3 拔牙、种植体植入和修复 将 14 只 Beagle 犬全身麻醉 (25 g/L 硫喷妥钠, 按 25 mg/kg 硫喷妥钠计量), 拔除下颌双

侧前磨牙、第 1 磨牙, 3 月后, 在每个拔牙处切龈、翻瓣在牙槽骨内植纯钛螺纹状种植体 (西安中邦公司生产 3.3 mm × 8 mm), 每侧 2 枚, 术后静脉给予抗菌素, 动物喂以软食 (10 天), 第 10 天拆除缝线, 之后正常饮食并作口腔清洁。3 月连接基桩。

1.4 动物分组与种植体周围炎模型的制作 从做好种植修复的 Beagle 犬中随机分为非炎症组 5 只, 炎症组 9 只。接着在炎症组的种植体颈部栓结丝线, 停止口腔卫生护理, 动物喂以软食以利于菌斑、结石的积聚, 制造种植体周围炎的动物模型。正常组的 Beagle 犬正常饮食。4 周后按照 Silness & Loe 标准^[1]记录菌斑指数 (PI)、探诊深度 (PD)、牙龈指数 (GI), 2 组分别抽取 1 只犬处死, 进行病理切片观察。造模成功后, 所有 Beagle 犬进行正常饮食。

1.5 动物分组给药 将剩余 8 只炎症组的 Beagle 犬随机分为 2 组, 中药组, 喂服仙灵骨葆 (4 只); 生理盐水组, 喂服生理盐水 (4 只)。仙灵骨葆胶囊给药量为: 按 0.15 g/kg 体重比例以 10 mL 生理盐水稀释配制仙灵骨葆悬液, 灌胃, 每天 1 次。于喂药后 1 月、2 月, 分别处死 3 组各 2 只犬, 取下带种植体颌骨。

1.6 组织学观察 取下种植体, 将颌骨置于 10% 甲醛缓冲溶液中, 于 4℃ 的环境下固定 1 周, 8% 甲酸溶液脱钙 10 天, 60%、70% 酒精脱水各 1 h, 80% 酒精脱水过夜, 90%、

[收稿日期] 2013-11-12

[基金项目] 广东省中医药局建设中医药强省课题 (编号: 20131235)

[作者简介] 蒋柳宏 (1979-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事口腔疾病诊治工作。

[通讯作者] 景向东, E-mail: jingxiangdong@sohu.com。

95%、100%酒精脱水各1h, 65℃环境下浸蜡2次, 各1.5h, 石蜡包埋, 在切片机上沿种植体长轴制作厚度为5μm的组织切片, HE染色。将上述HE染色组织切片于100倍光镜下选择种植体周围的骨松质区, 用计算机彩色病理图像采集系统及微机真彩色图像分析系统做骨组织形态计量学分析处理, 测量的骨计量学参数为: 骨小梁平均宽度(Trabecular Width, TbWi)、种植体周围松质区的骨量(Trabecular Area, TbAr)、成骨细胞个数(Osteoblast Number, OBN)、结合骨板宽度(Combinded Bone Lamella Width, CBLW)。

1.7 统计学方法 应用SPSS10.0统计软件进行组间的方差分析。

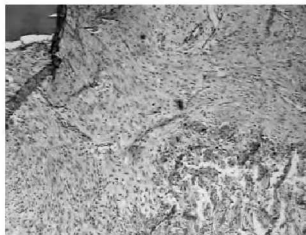
2 结果

2.1 炎症组和非炎症组牙龈情况比较 见表1。连接基桩, 颈部栓接丝线, 停止口腔护理4周后, 炎症组牙龈红肿明显, 探之极易出血。炎症组PI、PD、GI均明显高于非炎症组, 差异均有非常显著性意义($P < 0.01$)。病理切片观察, 炎症组炎症细胞大量聚集, 血管明显扩张, 并有骨陷窝形成(图a、b), 非炎症组未见大量炎性细胞聚集, 胶原束连续(图c、d), 说明造模成功。

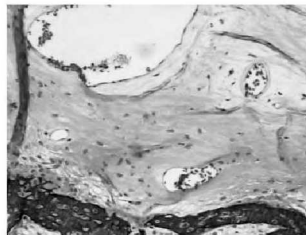
表1 炎症组和非炎症组牙龈情况比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | PI | PD(mm) | GI |
|------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 炎症组 | 5.75 ± 0.12 | 7.49 ± 0.21 | 3.98 ± 0.14 |
| 非炎症组 | 1.14 ± 0.19 ^① | 2.15 ± 0.36 ^① | 1.25 ± 0.16 ^① |

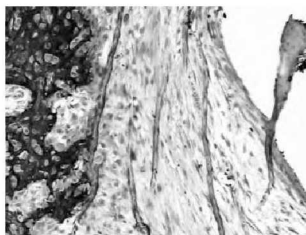
与炎症组比较, ① $P < 0.01$



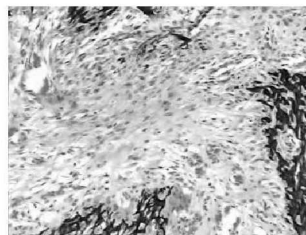
图a



图b



图c



图d

2.2 3组第1月、2月各项骨组织形态测量学参数比较 见表2、表3。喂药后1月, 盐水组种植体周围TbAr、TbWi、CBLW均明显低于其它2组, 差异均有非常显著性意义($P < 0.01$)。而中药组喂药2月后, TbWi、CBLW同非炎症组无明显差异($P > 0.05$)。

表2 3组第1月各项骨组织形态测量学参数比较($\bar{x} \pm s$)

| 参数 | 非炎症组 | 盐水组 | 中药组 |
|----------|--------------|---------------------------|--------------|
| TbAr(%) | 42.93 ± 4.32 | 24.22 ± 3.95 | 26.80 ± 4.83 |
| TbW(μm) | 82.28 ± 9.00 | 29.26 ± 3.44 ^① | 64.84 ± 7.98 |
| CBLW(μm) | 44.21 ± 4.30 | 19.43 ± 2.05 ^① | 31.05 ± 5.59 |
| OBN | 15.45 ± 9.48 | 26.31 ± 4.56 ^① | 40.95 ± 6.37 |

与非炎症组、中药组比较, ① $P < 0.01$

表3 3组第2月各项骨组织形态测量学参数比较($\bar{x} \pm s$)

| 参数 | 非炎症组 | 盐水组 | 中药组 |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|
| TbAr(%) | 52.93 ± 6.04 | 29.38 ± 0.39 ^① | 48.80 ± 3.91 |
| TbW(μm) | 90.23 ± 13.21 | 36.29 ± 4.38 ^① | 86.69 ± 11.25 ^② |
| CBLW(μm) | 58.92 ± 2.34 | 26.55 ± 5.27 ^① | 53.58 ± 4.33 ^② |
| OBN | 16.35 ± 8.32 | 27.86 ± 7.62 ^① | 42.37 ± 9.28 |

与非炎症组、中药组比较, ① $P < 0.01$; ② $P > 0.05$

3 讨论

种植体周围炎(Peri-implantitis)是指慢性进行性种植体周围组织的炎症过程, 是种植义齿修复后最常见的并发症, 发生率在28%~56%^[2], 是类似于慢性成人牙周炎的特异感染, 它受局部和全身因素影响, 能使支持骨丧失形成种植体周袋, 牙槽骨吸收, 导致种植义齿松动、脱落, 是种植义齿修复后使用寿命减短和失败的最主要原因^[3]。西医学对种植体周围炎的认识和治疗有着相似和不同的地方。西医学认为种植体周围炎与牙周炎都是由菌斑微生物引起的感染性疾病^[4]。因此针对种植体周围炎的治疗主要是长期运用大量抗菌药物, 对抗细菌的炎性破坏、降解胶原纤维和基质作用, 从而达到消除种植体周围袋, 抑制骨丧失的目的, 但使用抗生素常常会带来许多不良反应, 如过敏反应、胃肠道反应、药物热等。

现代中医学认为种植体周围炎的发病既有六淫之邪及不良口腔卫生习惯等外因, 又有脾、胃、肾脏功能失调, 特别是肾气虚衰等内因, 肾阳虚者肾精不足, 骨失所养, 骨髓空虚, 齿则动, 补肾能增强生成骨细胞的作用^[5], 根据《本草纲目》的记载, 淫羊藿(仙灵脾)有“益气力, 强志, 坚筋骨, 皆元阳振作之功”的作用, 仙灵骨葆胶囊是近年来新研发的中成药, 其中主要含有淫羊藿、生地黄、续断、补骨脂, 具有温肾壮阳, 接骨续筋, 强身健骨之功能, 可阻止因肾阳不足引起的骨吸收。

而本实验就是从中医学的角度探讨一种新的治疗种植体周围炎的方法, 实验结果显示, 第1月后非炎症组TbAr、TbWi、CBLW均明显高于其它2组($P < 0.01$)。这说明, 种植体周围炎症减少了种植体周围的骨量, 激活破骨细胞的活性, 加速骨吸收, 进而影响种植体骨性结合的质量; 第2月后, 中药组TbWi、CBLW显著提升, 同非炎症组已无明显差别, 说明仙灵骨葆可以对抗炎症引起的骨丧失, 增加种植体周围的骨量, 增

加种植体—骨界面的 OBN, 提高骨结合的质量, 具有一定的临床治疗和推广价值。

[参考文献]

- [1] 曹采方. 牙周病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 351.
- [2] Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri-implant diseases [J]. Journal of Clinical Periodontology, 2008, 5(8): 286-291.
- [3] Quirynen M, De Soete M, Van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: A review of the

literature [J]. Clin Oral Implants Res, 2002, 13 (1): 1-19.

- [4] Leita JAO, De Lorenzo JL, Avila-Campos MJ, et al. Analysis of the presence of pathogens which predict the risk of disease at peri-implant sites through polymerase chain reaction (PCR) [J]. Braz Oral Res, 2005, 19(1): 52-57.
- [5] 邓伟民, 贺扬淑, 沈有高等. 补肾壮骨中药对去势雌性大鼠血清内骨代谢激素的影响[J]. 第一军医大学学报, 1999, 19(4): 3-4.

(责任编辑: 马力)

子宫内膜异位症不孕小鼠水通道蛋白表达及莪棱胶囊的干预作用

黄绮丹¹, 黄海定¹, 吴会东², 黄国红¹, 廖美金¹, 邓时贵¹

1. 广东省中医院, 广东 广州 510120; 2. 广东省第二人民医院, 广东 广州 510317

[摘要] 目的: 探讨子宫内膜异位症 (EMTS) 不孕小鼠水通道蛋白 (AQP) 表达的差异性及莪棱胶囊的干预作用。方法: 将小鼠随机分为正常组、模型组、达那唑组、莪棱胶囊组。正常组与模型组: 灌胃蒸馏水 0.25 mL/10 g。达那唑组: 灌胃达那唑 0.4 g/(kg·d)。莪棱胶囊组: 灌胃莪棱胶囊 4 g/(kg·d)。共 30 天。用直接化学发光法测定血清雌二醇水平, 用 RT-PCR 技术测定各组子宫内膜组织 AQP mRNA 表达。结果: 造模后小鼠雌二醇水平增高, 模型组与正常组比较, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。达那唑组和莪棱胶囊组雌二醇接近正常组, 与正常组比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。模型组、达那唑组、莪棱胶囊组 AQP₁ 的相对表达量接近正常组, 但组间比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。模型组、达那唑组、莪棱胶囊组 AQP₂ 的相对表达量较正常组有所降低, 但组间比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。结论: 子宫内膜异位症不孕小鼠血清雌二醇水平增高, 达那唑和莪棱胶囊均可降低雌二醇水平; 子宫内膜异位症不孕小鼠水通道蛋白表达以及莪棱胶囊等的干预作用尚需进一步的研究。

[关键词] 子宫内膜异位症 (EMTS); 雌二醇; 水通道蛋白 (AQP); 莪棱胶囊

[中图分类号] R711.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 07-0196-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.07.091

Aquaporin Expression in Endometriosis Infertile Mice and Intervention Effect of *Eleng* Capsule

HUANG Qidan, HUANG Haiding, WU Huidong, et al

Abstract: Objective: To investigate the aquaporin (AQP) expression in endometriosis infertile mice and the intervention effect of *Eleng* capsule. Methods: The mice were divided into four groups, namely normal group, model group, Danazol group and *Eleng* group. The normal group and the model group were administrated with distilled water, 0.25 mL for per 10 g of body weight, and Danazol group was administrated with Danazol, 0.4 g for per kilogram of body weight, while *Eleng* group was administrated with *Eleng* capsule, 4 g for per kilogram of body weight. The treatment course lasted 30 days. The serum estradiol level was measured by direct chemiluminescence method, and the mRNA expression of aquaporins in the

[收稿日期] 2014-02-11

[基金项目] 广东省科技厅项目 (编号: 2009B060300015); 广州中医药大学创新基金项目 (编号: KAB111112K41)

[作者简介] 黄绮丹 (1977-), 女, 主治中医师, 主要从事中医内科工作。

[通讯作者] 邓时贵, E-mail: dengshigui@aliyun.com.