

五倍子牙周缓释凝胶对 Beagle 犬实验性牙周炎疗效的观察

张 爽,倪伟嘉,张 莹,唐荣银

(第四军医大学口腔医学院 陕西 西安 710032)

[摘要] 目的:通过牙周炎动物模型观察五倍子牙周缓释凝胶治疗牙周炎的效果。方法:选择2岁健康 Beagle 犬6只,每只犬选择上颌第二、三前磨牙和第一磨牙、下颌第三前磨牙和第一、二磨牙,用3.0手术丝线进行结扎建模,30 d后根据临床各标准和X线片确定已达到实验性牙周炎模型后,分别用五倍子牙周缓释凝胶(实验组)、派力奥软膏(阳性对照)进行治疗,并以非药物载体作空白对照。每周使用药物1次,连续4周,分别于用药1、2、3、4周后检查GI、BOP、PD等临床指标,并于实验结束后拍X线片观察各组的疗效。结果:建模30 d后实验牙均达到牙周炎标准。经4周治疗后,除空白载体组外,五倍子牙周缓释凝胶实验组和派力奥软膏组的PD、BOP、GI与基线相比均有明显好转,有显著性差异($P < 0.05$)。其中PD下降幅度以五倍子牙周缓释凝胶组最好,与派力奥软膏组相比有显著性差异($P < 0.05$);X线片显示五倍子牙周缓释凝胶组的CEJ-B距离明显缩短,而阳性对照组和空白载体组相比无显著性差异($P < 0.05$)。结论:五倍子牙周缓释凝胶对实验性牙周炎治疗效果与派力奥软膏基本相似,但在改善PD和牙槽骨高度方面优于派力奥。

[关键词] 牙周炎;动物模型;五倍子;五倍子缓释凝胶

[中图分类号] R781.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1005-2593(2010)05-0272-05

[牙体牙髓牙周病学杂志 2010 20(5):272]

Effects of sustained-release gall gel on experimental periodontitis in Beagle dogs

ZHUANG Shuang, NI Wei-jia, ZHANG Ying, TANG Rong-yin

(School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **AIM:** To investigate the effect of sustained-release gall gel on the treatment of periodontitis. **METHODS:** A total of six 2-year-old healthy Beagle dogs were employed in this study. After ligation for 30 days, experimental periodontitis model was successfully established in selected teeth of the dogs. The periodontitis teeth were treated with sustained-release gall gel (experimental group), Palio ointment (positive control) and blank gel, respectively, once a week for 4 weeks. Gingival index (GI), bleeding on probing (BOP) and probing depth (PD) were measured at 1 w, 2 w, 3 w and 4 w after treatment. X-ray film was taken at the end of 4 w treatment. **RESULTS:** After 4 w treatment, the indices of PD, BOP and GI of the gall gel group and Palio ointment group were significantly improved as compared with the blank gel group ($P < 0.05$). PD of the experimental group was significantly lower than that of the Palio group ($P < 0.05$). X-ray examination showed that CEJ-B distance was significantly shortened in gall gel group ($P < 0.05$), while significant difference was observed in the Palio ointment group and blank plasmid group. **CONCLUSION:** The sustained-release gall gel is as effective as Palio ointment in treating periodontitis.

[Key words] periodontitis; animal model; gall; sustained-release gall gel

[Chinese Journal of Conservative Dentistry 2010 20(5):272]

收稿日期:2010-03-01; 修改日期:2010-04-20

基金项目:陕西省中医管理局中医药课题(jc55)

作者简介:张爽(1984-),男,彝族,云南人。硕士生(导师:唐

荣银)

通讯作者:张莹, E-mail: yzhang@fmmu.edu.cn

牙周病是由多种因素综合作用下引起的牙周组织破坏性感染性疾病,牙菌斑生物膜的细菌及其产物是引发牙周病的始动因子,但细菌的破坏是有限的,由细菌引发的一系列免疫、炎症反应才是造

成牙周组织破坏的主要原因^[1]。因此对其治疗往往受全身、局部以及环境等各种因素的干扰而影响最终效果。目前对牙周病的治疗尚无理想的方法^[2],虽然抗菌药物等能有效控制炎症的发展,但却存在病变局部药物浓度低,用药量大,长期使用易产生耐药性等缺点,因此,局部用药特别是局部缓控释剂的应用受到广泛关注^[3]。关于牙周缓释剂的研究国内外均有很多报道,但目前局部使用的牙周缓释剂还存在诸多不足,如药物释放持续时间短,释药不完全,对牙周组织无保护作用等^[4-6]。

天然药物是近年来研究的热点,其中五倍子具有抗菌、止血、收敛等多种功效。研究表明:五倍子水提取物对牙周可疑致病菌有抑制作用^[7];能阻止胶原的降解^[8];能促进牙周膜增殖和在牙骨质的附着^[9];还能抑制 IL-1 β 的活性,降低牙周膜细胞合成前列腺素 E2 和白三烯 B4^[10]。祝磊等以聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)可生物降解的高分子材料为药物载体,研制的五倍子牙周缓释凝胶制剂对 HPDLFs 的细胞增殖有促进作用,并能有效抑制 ALP 及 MMP-3 的表达^[11]。

本研究在祝磊研制的五倍子牙周缓释凝胶制剂的基础上,通过动物实验观察其对牙周炎的治疗效果,为将来开发应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

2岁,全身健康 Beagle 犬(陕西省迪乐普比格犬实验动物养殖基地);1-甲基-2-吡咯烷酮(1-Methyl-2-pyrrolidone, NMP, 国药集团化学试剂有限公司);聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly lactic-co-glycolic acid 75/25, PLGA 75/25, 济南健宝开元生物材料有限公司);三乙酸甘油酯(Glycerol Triacetate, GTA, 国药集团化学试剂有限公司);五倍子冻干粉(参照文献[12]制备);派丽奥软膏(批号 19992084, 新时代制药株式会社,日本)。

1.2 方法

1.2.1 牙周炎动物模型的建立

取 Beagle 犬 7 只,经检查确认所有实验动物牙周状况健康后,随机抽取 1 只用于正常对照,其余 6 只用于建立牙周炎模型,每只犬选择上颌第二、三前磨牙和第一磨牙;下颌第三前磨牙和第一、二磨牙(共 72 个)用于建立牙周炎模型,正常对照犬取其同名牙作对照牙(共 12 个)。速眠新

0.1 mL/kg 全身麻醉下用 3.0 手术丝线结扎每个实验牙颈部,并沿根尖方向压入龈沟内^[13]。建模期间建模组犬饲以易形成牙周炎的食谱(在常规饲料中添加 100 g/kg 白糖)^[14]。于建模 30 d 后,根据临床各指标(GI、BOP、PD)和 X 线片显示情况,并与正常对照犬比较,确定建模成功。

1.2.2 五倍子牙周缓释凝胶的制备

参照祝磊报道的方法^[11],将 1-甲基-2-吡咯烷酮和三乙酸甘油酯按 7:3 配成混合溶剂,加入 35% 聚乳酸-羟基乙酸共聚物,静置,待完全溶解后加入五倍子水提取物冻干粉,彻底搅拌均匀,漩涡震荡,在常温避光条件下,磁力搅拌机缓慢搅拌 5 d,制成含五倍子终末浓度为 40 g/kg 的凝胶,静置 24 h,4℃ 避光保存。同法制备不含五倍子的载体凝胶用于空白载体。

1.2.3 治疗方法

为避免上下颌对治疗效果的干扰,将以建模成功的 6 只 Beagle 犬随机分为两组(每组 3 只),第一组左侧上下为五倍子牙周缓释凝胶治疗组,记为 A 组;右侧上为派力奥软膏治疗组(阳性对照),记为 B 组;右侧下为非药物载体组(空白载体),记为 C 组,即: $\begin{array}{c|c} B & A \\ \hline C & A \end{array}$ 。第二组右侧上下为 A 组,左侧下

为 B 组,左侧上为 C 组,即 $\begin{array}{c|c} A & C \\ \hline A & B \end{array}$ 。所有动物在全

麻下(速眠新 0.1 mL/kg)用洁净的棉球拭去实验牙的牙面软垢,隔湿后分别将各组药物注入实验牙牙周袋内;以溢满牙周袋为止,每周用药 1 次,连续 4 周,在每次上药前均仔细检查各临床指标,实验结束(用药第 4 周后)所有实验牙拍 X 线片。

1.2.4 临床检查和指标评估标准

分别于治疗 1、2、3、4 周后,用刻度为 2 mm、钝头、直径 0.5 mm 的牙周探针检查以下各临床指标。

1.2.4.1 牙龈指数(Gingival index, GI)

将牙周探针放在龈沟开口处。轻触牙龈组织并沿龈缘轻轻滑动,观察出血情况,记分标准分为 4 级。0 为正常牙龈;1 为牙龈略有水肿,探之不出血;若探之出血则记为 2;若有自发出血倾向或溃疡形成则记为 3。

1.2.4.2 探诊出血(Bleeding on probing, BOP)

用牙周探针轻探袋底,取出探针后观察 10 s,根据探诊后有无出血,记为 BOP 阳性或阴性。

1.2.4.3 探诊深度(Probing depth , PD)

牙周探针沿着牙齿长轴在各个面进行探查 ,分别在颊(唇)、舌(腭)侧的远中、中央、近中测量 ,每个牙记录 6 个位点的探诊深度 ,取其均值为该实验牙探测结果 ,各组的实验牙取均值 ,得各组的探测结果^[15]。

1.2.4.4 X 线片检查

治疗 4 周后 ,所有实验牙拍 X 线片 ,使用 Ac-me TraceArt 软件中的 Measure 工具 ,测量釉牙骨质界至牙槽骨顶(CEJ-B)之间的距离 ,以 mm 为单位 ,精确度 0.001 mm。

1.3 统计分析

应用 SPSS11.5 软件包进行统计分析。PD 值用方差分析 ,两两比较用 *t* 检验; BOP 比较用精确概率法; GI 比较用秩检验(Kruskal-Wallis H 检验法)。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 牙周炎动物模型建立后 GI、BOP、PD 的结果

建模 30 d 临床各指标均达到牙周炎标准(PD > 4 mm、BOP(+)、GI > 2 n)^[13] ,X 线片显示牙槽骨明显吸收 ,牙槽嵴顶模糊呈虫蚀状 ,嵴顶由宽平变凹陷 ,牙槽骨高度降低。吸收长度均为根长的 1/2 ,约在根分叉下 3 ~ 4 mm ,部分牙在临床检查中出现不同程度的松动。建模组与正常组相比 ,各临床指标均有显著性差异($P < 0.05$) (表 1 图 1 ~ 2)。

表 1 正常组与建模组各临床指标及 X 线片的 CEJ-B 距离的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	GI(平均秩)	BOP(%)	PD(mm)	CEJ-B(mm)
正常组	0.00	0.00	1.41 ± 0.38	1.49 ± 0.48
建模组	17.10*	100.00*	4.54 ± 0.69*	4.61 ± 0.69*

* 与正常组相比 $P < 0.05$

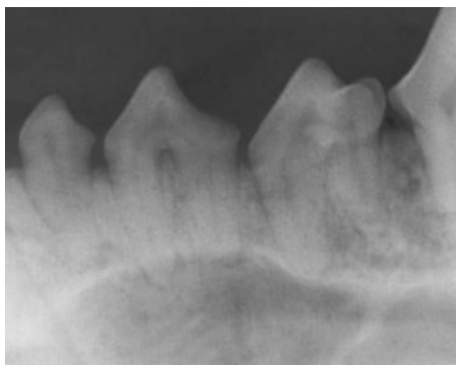


图 1 正常组 X 线片



图 2 建模后 X 线片

2.2 治疗后各临床指数比较

2.2.1 各组 GI 比较

五倍子缓释凝胶组和派力奥软膏组从治疗 2 周后 GI 平均秩数即明显下降 ,与基线相比差异有统计学意义($P < 0.05$) ,空白载体组各时间点均与基线无显著性差异($P > 0.05$) ,各组各时间点 GI 下降幅度相比 ,两药物治疗组无显著性差异($P > 0.05$) (表 2)。

表 2 治疗后各组 GI 的比较(平均秩)

治疗时间	五倍子牙周缓释凝胶组	派力奥软膏组	空白载体组
基线	17.50 ^{Aa}	17.00 ^{Aa}	16.75 ^{Aa}
用药 1 周	17.00 ^{Aa}	16.50 ^{Aa}	16.5 ^{Aa}
用药 2 周	10.75 ^{Ba}	10.00 ^{Ba}	16.00 ^{Aa}
用药 3 周	6.50 ^{Ca}	7.00 ^{Ba}	15.00 ^{Ab}
用药 4 周	5.75 ^{Ca}	6.50 ^{Ba}	12.5 ^{Ab}

大写字母为组内各治疗时间相比 ,小写字母为组间相比 ,不同字母间 $P < 0.05$

2.2.2 各组探诊出血(BOP) 率的比较

用药 3 周后五倍子缓释凝胶组和派力奥软膏组探诊出血率明显下降 ,均与基线有显著性差异($P < 0.05$) 。空白载体组各时间点均与基线无显著性差异($P > 0.05$) 。各组各时间点 BOP 下降幅度相比 ,两治疗组无显著性差异($P > 0.05$) (表 3)。

表 3 药物治疗后各组 BOP 的比较 (%)

治疗时间	五倍子牙周缓释凝胶组	派力奥软膏组	空白载体组
基线	100.0 ^{Aa}	100.0 ^{Aa}	100.0 ^{Aa}
用药 1 周	100.0 ^{Aa}	100.0 ^{Aa}	100.0 ^{Aa}
用药 2 周	93.3 ^{Aa}	100.0 ^{Aa}	100.0 ^{Aa}
用药 3 周	56.7 ^{Ba}	60.0 ^{Ba}	93.3 ^{Ab}
用药 4 周	13.3 ^{Ca}	7.0 ^{Ca}	93.3 ^{Ab}

大写字母为组内各治疗时间相比 ,小写字母为组间相比 ,不同字母间 $P < 0.05$

2.2.3 治疗后各组 PD 比较

用药后第 1 周,五倍子牙周缓释凝胶组和派力奥软膏组的探诊深度即有明显下降,与基线相比均有显著性差异 ($P < 0.05$)。空白载体组各时间点均与基线无显著性差异 ($P > 0.05$)。各组各时间点下降幅度相比,在治疗 4 周后五倍子缓释凝胶组与派力奥软膏组相比较有显著性差异 ($P < 0.05$) (表 4)。

表 4 治疗后各组 PD 比较 (mm $\bar{x} \pm s$)

治疗时间	五倍子牙周缓释凝胶组	派力奥软膏组	空白载体组
基线	4.56 ± 0.52 ^{Aa}	4.48 ± 0.82 ^{Aa}	4.59 ± 0.72 ^{Aa}
用药 1 周	3.47 ± 0.67 ^{Ba}	3.63 ± 0.58 ^{Ba}	4.10 ± 0.89 ^{Ab}
用药 2 周	2.79 ± 0.42 ^{Ca}	2.63 ± 0.39 ^{Ca}	3.98 ± 0.87 ^{Ab}
用药 3 周	2.21 ± 0.51 ^{Da}	2.56 ± 0.44 ^{Ca}	3.87 ± 0.62 ^{Ab}
用药 4 周	1.98 ± 0.47 ^{Da}	2.44 ± 0.38 ^{Cb}	3.89 ± 0.81 ^{Ac}

大写字母为组内各治疗时间相比,小写字母为组间相比,不同字母间 $P < 0.05$

2.3 治疗前后各组 X 线片比较

治疗 4 周后各组 X 线片与用药前(基线)比较,五倍子牙周缓释凝胶组牙槽骨高度有所增加(图 3),CEJ-B 间的距离与用药前相比明显减小,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);而派力奥软膏组(图 4)和空白载体组(图 5)与用药前相比牙槽骨高度无明显变化,CEJ-B 间的距离在治疗前后差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 5)。

表 5 各组治疗前后 X 线测量的 CEJ-B 间距离比较 (mm $\bar{x} \pm s$)

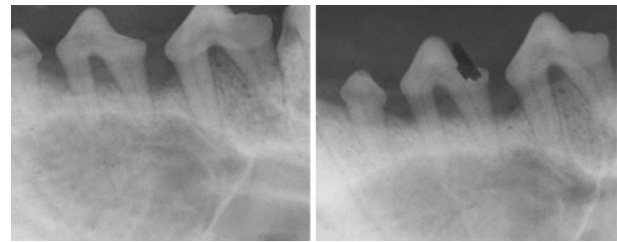
治疗时间	五倍子牙周缓释凝胶组	派力奥软膏组	空白载体组
基线	4.56 ± 0.52	4.78 ± 0.72	4.49 ± 0.84
用药 4 周	2.88 ± 0.49*	4.51 ± 0.42	4.45 ± 0.35

* 与基线相比 $P < 0.05$



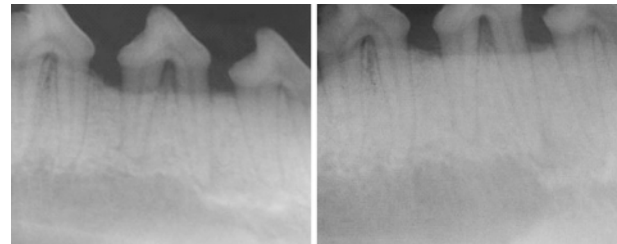
基线 用药 4 周后

图 3 五倍子牙周缓释凝胶组 X 线片



基线 用药 4 周后

图 4 派力奥软膏组 X 线片



基线 用药 4 周后

图 5 空白载体组 X 线片

3 讨论

牙周病的治疗一般分为手术和非手术治疗。非手术治疗是通过机械性刮治,消除菌斑及其他局部刺激因素,并辅以药物治疗控制和提高治疗效果,减少复发。但这些治疗手段目前尚未得到满意临床疗效,基础治疗配合药物辅佐治疗对于减少牙周袋深度差别幅度不大(大多在 1 mm 以内)^[16-17]。牙周病发展到较严重阶段后,则需手术治疗,其目的主要是促使牙周附着结构的再生,即形成新的牙周附着。主要通过骨或骨替代品材料,可吸收性膜和不可吸收性膜材料通过手术置入病损牙周袋内,以阻挡牙龈上皮在愈合过程中沿根面生长,阻挡牙龈结缔组织与根面的接触,并提供一定的空间,引导具有形成新附着能力的牙周膜细胞优先占领根面。但目前疗效的把握性及预期性仍较小,适应证范围仍较局限,且需要经历创伤性手术治疗,给病人带来极大痛苦^[18-19]。

临床上牙周病以牙龈发红、水肿、牙周袋形成、牙齿松动为主要症状。随着时间的进展,炎症逐渐由牙龈炎向牙周炎发展,症状也逐渐加重。本实验发现,建模 7 d 后全部实验牙 GI 均已出现不同程度的炎症表现,同时探诊出血(BOP)率也达 100%;当建模 30 d 后,实验牙牙周袋深度均达到 4 mm 以上,伴出血,即所有的实验牙均已形成不同程度的牙周炎,与正常组和建模前时比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。X 线片显示牙槽骨明显吸收,牙

槽嵴顶模糊呈虫蚀状,嵴顶由宽平变凹陷,牙槽骨高度降低。吸收长度均为根长的1/2,约在根分叉下3~4 mm,部分牙在临床检查中出现不同程度的松动。经4周治疗后,与基线相比,除空白载体组外,五倍子牙周缓释凝胶实验组和派力奥软膏组的PD、BOP、GI均有明显好转,有显著性差异($P < 0.05$)。其中PD下降幅度以五倍子牙周缓释凝胶组较好,与派力奥软膏组相比有显著性差异($P < 0.05$);X线片显示五倍子牙周缓释凝胶组的CEJ-B距离明显缩短,而派力奥软膏组和空白载体组相比无显著性差异($P > 0.05$)。虽然派力奥软膏控制和消除牙周局部的炎症效果显著^[20],但对牙周附着丧失的恢复无明显疗效,这可能由于派力奥软膏在牙周袋内不能凝固,无法阻挡牙龈上皮根向生长,为牙周再附着提供生长空间。而五倍子牙周缓释凝胶的主要成分由高分子材料PLGA和五倍子冻干粉组成,PLGA遇水后形成骨性支架,五倍子中鞣酸与龈沟液及唾液形成蛋白质沉淀物,两者结合,同时置于牙周袋内,可能为牙周膜的再生提供有利空间。将来有望开发用于临床治疗,但其具体机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 孟焕新. 牙周病学 [M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2008: 32-33.
- [2] 倪红丽. 浅谈牙周病治疗 [J]. 中华中西医杂志, 2005, 3(9): 311.
- [3] Greenstein G, Polsan A. The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases: A comprehensive review [J]. *J Periodontol*, 1998, 69(5): 507-520.
- [4] Niklaus L. Antiseptics and antibiotics in periodontal therapy. In: Jan Lindhe ed. *Textbook of Clinical Periodontology* [M]. 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard, 1997: 369-374.
- [5] Higashi K, Matsushita M, Morisaki K et al. Local drug delivery-systems for the treatment of periodontal disease [J]. *J Pharmacobiodyn*, 1991, 14(3): 72-81.
- [6] Schwach-Abdellaoui K, Vivien-Castioni N, Gurny R. Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50(1): 83-99.
- [7] 朱秀丽, 陈强, 唐荣银, 等. 五倍子对常见牙周细菌抑制作用的体外研究 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2001, 12(5): 255-257.
- [8] 王静, 唐荣银, 王志良, 等. 五倍子水提取物对胶原酶活性的影响 [J]. 临床口腔医学杂志, 2006, 22(8): 451-453.
- [9] 王静. 五倍子水提取物对犬牙周膜细胞保护作用的实验研究 [D]. 第四军医大学硕士学位论文, 2002.
- [10] 岳晓红, 唐荣银, 王志良, 等. 五倍子水提取物抑制内毒素诱导人牙龈成纤维细胞分泌IL-6 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2004, 14(04): 203-206.
- [11] 祝磊, 唐荣银, 张海鸥, 等. 五倍子牙周缓释凝胶对LPS介导HPDLFs分泌MMP-3的影响 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2009, 19(5): 271-274.
- [12] 宋光志, 刘进, 陈道刚. 五倍子鞣质的质量检测标准 [J]. 华西药学杂志, 2004, 19(4): 279-281.
- [13] Fischer RG, Kling B. Clinical and histological evaluation of ligature-induced periodontitis in the domestic ferret [J]. *J Clin Periodontol*, 1994, 21(1): 230.
- [14] Biancu S, Ericsson I, Lindhe J. Periodontal ligament tissue reaction to trauma and gingival inflammation: an experimental study in the beagle dog [M]. *Clin Periodontol*, 1995, 22: 772.
- [15] 孟焕新. 牙周病学 [M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2008: 119-121.
- [16] Loos B, Claffey N, Crigger M. Effects of oral hygiene measures on clinical and microbiological parameters of periodontal disease [J]. *J Clin Periodontol*, 1988, 15(2): 211.
- [17] Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical periodontology and implant dentistry [M]. 3rd ed. *Special rykeriet Viborg as Denmark*, 2000.
- [18] Cortellini P & Tonetti M: Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration (GTR) [J]. *Periodontol*, 2000, 22(5): 104-105.
- [19] Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology [M]. 9th ed, New York: WB Saunders Co, 2002.
- [20] 赵曼, 陈卓, 闫大勇. 翻瓣术与派力奥软膏治疗慢性牙周炎的疗效 [J]. 医药论坛杂志, 2009, 30(14): 86-87.