

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00569

• 短篇论著 •

高压氧对牙周炎舰员牙龈血流量、袋内厌氧菌和谷胱甘肽过氧化物酶的作用

Effects of hyperbaric oxygen on gingival blood flow, subgingival anaerobes, and glutathione peroxidase in marines with periodontitis

陈铁楼¹, 刘国勤¹, 许兵², 张新海¹, 张庆福¹, 赵海军¹, 蔺世龙³, 刘景昌³

1. 解放军 411 医院口腔中心, 上海 200081
2. 同济大学化学系, 上海 200092
3. 海军医学研究所高压氧医学与生理实验室, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨高压氧(HBO)对舰员重症牙周炎牙龈血流量(GBF)、袋内厌氧菌和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的作用。**方法** 90例重症牙周炎患者分为3组,每组30例:HBO组、HBO加洁治组[HBO+SCA(scaling)组]和双氧水组(HP组),在治疗前、后即时和治疗结束1个月时用激光多普勒血流仪测定GBF、牙周袋厌氧菌培养、DTNB比色法测定GPx活性,记录牙龈指数(GI)、龈沟出血指数(SBI)、菌斑指数(PLI)、牙周袋深度(PD)、牙周附着丧失(AL)。**结果** 3组治疗后即时和治疗结束1个月时的GBF、袋内厌氧菌数和GPx与治疗前比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),HBO组和HBO+SCA组治疗后即时和治疗后1个月时的各指标与HP组比较差异有统计学意义($P < 0.01$);HBO+SCA组治疗后即时和治疗后1个月时的各指标与HBO组、HP组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),HBO和HBO+SCA组治疗后1个月各指标与治疗后即时无差异无统计学意义。**结论** HBO对舰员牙周炎有明显治疗作用,HBO加洁治更好,并维持1个月以上,其疗效与抑制致病性厌氧菌,增加GBF和GPx活性有关。

[关键词] 高压氧;牙周炎;牙龈血流量;厌氧菌;谷胱甘肽过氧化物酶

[中图分类号] R 781.42 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2010)05-0569-03

牙周炎患者牙龈血流量(GBF)明显低于健康牙龈,且牙周炎GBF与牙龈炎症程度负相关^[1]。自由基参与牙周炎组织破坏,自由基清除剂谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GPx)活性与牙周炎关系密切。高压氧(HBO)可增加牙龈组织中开放的血管数目,增加GBF^[2],对龈下厌氧菌有明显抑制作用^[3]。舰员牙周炎发病率高,目前对HBO在舰员牙周炎GBF、牙周袋厌氧菌和GPx作用未见报道,因此本研究探讨HBO对舰员牙周炎各指标的影响,为HBO临床应用提供依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象和分组 选舰员重症牙周炎90例,男性,年龄21~45岁,平均(34.2±3.5)岁,上舰艇时间2~13年,入选标准参照文献^[2]。患者无系统性疾病,3个月内未服用抗生素类药物。随机分为3组,每组30例,分别为:(1)HBO组:在加压舱内0.25 MPa面罩吸氧45 min,2次,中间间断吸空气10 min,每日1次,共10次;(2)HBO加洁治[HBO+SCA(scaling)]组:牙周洁治后当天开始作HBO治疗;(3)双氧水(HP)组:用3%双氧水冲洗牙周袋,每日1次,共10次。

1.2 临床指标测定 在治疗前、后即时和治疗结束1个月时用标准刻度探针测量实验牙牙周袋深度(pocket depth,PD)和牙周附着丧失(attachment loss,AL),普通探针按Loe标准测定牙龈指数(gingival index,GI)、龈沟出血指数(sulcus bleeding index,SBI)和菌斑指数(plaque index,PLI)。每例舰员检查6个牙(A₁、A₄、B₆、C₆、D₁和D₄)。

1.3 GBF测定 在治疗前、后即时和治疗结束1个月时分别用LDF-3型激光多普勒血流仪(天津南开大学研制生产)测定舰员1颗前牙GBF,测定方法参照文献^[2]。

1.4 牙周袋厌氧菌测定 每例选1颗前牙(PD>4 mm),用滤纸条插入牙周袋30 s,取龈下菌斑,计算出浸湿面积为龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF)量。分别取相同浸湿面积标本,放入1.0 ml 硫乙醇酸盐溶液中,超声粉碎30 s,加液体石蜡隔离空气,立即送细菌实验室进行厌氧菌分离。将标本分别稀释成标本量的 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 和 10^{-7} ,在厌氧手套培养箱中37℃培养3~7 d,根据稀释度计算标本厌氧菌数^[3]。

1.5 GCF-GPx测定 每例选1颗前牙,将滤纸条放入牙唇侧近中牙周袋内30 s取出。10 s后重复取样,测定GCF

[收稿日期] 2009-06-14 **[接受日期]** 2009-12-05

[基金项目] 全军医学重点实验室基金(036),海军后勤部重点课题(2000-3327). Supported by Major Medical Laboratory Grant of PLA(036) and Major Project Foundation of PLA Naval Logistics Ministry(2000-3327).

[作者简介] 陈铁楼,硕士,教授、主任医师。E-mail: xbct@sh163.net

量^[2]后将2张滤纸条一同放入盛有200 μl生理盐水EP管中,置于-20℃冰箱内保存。1个月内取出,振荡洗涤后离心(6 708×g),取上清液测定GCF中GPx活性。原理: 2GSH+H₂O₂ GPx→GSSG+2H₂O,GPx活力以催化GSH氧化反应速度即单位时间内GSH减少量来表示。

GSH和5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)[5,5'-dithion-bis(2-nitrobenzoic acid),DTNB]反应,在GPx催化下生成黄色5-硫代2-硝基苯甲酸阴离子,测定该离子浓度可计算出GSH减少量。将每单位GCF在37℃反应5 min,扣除非酶反应,使GSH浓度降低1 μmol为1个酶活单位(U)。

1.6 统计学处理 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用

t 检验。

2 结果

2.1 各组临床指标比较 HBO组和HBO+SCA组GI、SBI、PLI、PD和AL在治疗后即时和治疗结束1个月均明显降低($P < 0.01$),HP组治疗后即时与治疗前比较也明显降低($P < 0.01$),但治疗结束1个月时的GI和SBI与治疗后即时比较明显上升($P < 0.01$)。HBO+SCA组治疗后即时和治疗结束1个月时各指标与HBO组、HP组比较降低更明显,差异有统计学意义($P < 0.01$,见表1)。

表1 3组GI、SBI、PLI、PD和AL比较

($n=180, \bar{x} \pm s$)

组别	GI	SBI	PLI	PD l/mm	AL l/mm
HBO组					
治疗前	2.3±0.5	2.6±0.4	3.9±0.4	5.5±0.5	5.6±0.5
治疗后	1.1±0.7**	1.2±0.3**	3.1±0.4**	4.6±0.5**	4.7±0.4**
治疗后1个月	1.0±0.3**	1.1±0.5**	3.0±0.3**	4.4±0.5**	4.5±0.3**
HBO+SCA组					
治疗前	2.4±0.2	2.6±0.5	3.8±0.5	5.4±0.4	5.5±0.5
治疗后	0.5±0.7**△△	0.2±0.2**△△	0.5±0.3**△△	3.2±0.5**△△	3.8±0.5**△△
治疗后1个月	0.4±0.2**△△	0.2±0.1**△△	0.4±0.1**△△	3.1±0.3**△△	3.7±0.4**△△
HP组					
治疗前	2.3±0.3	2.5±0.3	3.9±0.3	5.5±0.3	5.5±0.5
治疗后	1.3±0.7**	1.3±0.5**	3.2±0.2**	4.9±0.5**	4.8±0.5**
治疗后1个月	1.9±0.5▲▲	2.0±0.4▲▲	3.5±0.3	5.1±0.5	5.2±0.2

GI: 牙龈指数; SBI: 龈沟出血指数; PLI: 菌斑指数; PD: 牙周袋深度; AL: 牙周附着丧失. ** $P < 0.01$ 与治疗前比较; △△ $P < 0.01$ 与HP组或HBO组比较; ▲▲ $P < 0.01$ 与同组治疗后比较

2.2 各组GBF、袋内厌氧菌和GPx比较 3组治疗后即时和治疗结束1个月时的GBF、袋内厌氧菌数和GPx与治疗前比较差异有统计学意义($P < 0.01$),HBO组和HBO+SCA组治疗后即时和治疗结束1个月时的GBF、厌氧菌数和GPx与HP组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),HBO+SCA组治疗后即

时和治疗结束1个月GBF、厌氧菌数和GPx与HBO组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。HBO和HBO+SCA组治疗后1个月GBF、牙周袋厌氧菌和GPx与治疗前即时各指标比较差异无统计学意义,HP组治疗结束1个月时GBF、厌氧菌数和GPx与治疗前即时比较差异有统计学意义($P < 0.01$,见表2)。

表2 3组GBF、牙周袋内厌氧菌、GPx比较

($n=30, \bar{x} \pm s$)

组别	GBF (V/mV)	牙周袋内厌氧菌 ($\times 10^6, CFU \cdot ml^{-1}$)	GPx _{AB} /U
HBO组			
治疗前	98.9±10.3	3 029.61±30.2	148.73±21.52
治疗后	329.8±14.2**△△	26.32±2.5**△△	502.30±4.51**△△
治疗后1个月	332.6±10.8**△△	25.11±3.2**△△	558.01±11.32**△△
HBO+SCA组			
治疗前	102.5±12.5	3 122.90±43.2	143.39±23.20
治疗后	623.7±13.2**△△□□	5.38±1.9**△△□□	795.18±9.58**△△□□
治疗后1个月	665.4±13.5**△△□□	4.53±1.3**△△□□	865.50±2.31**△△□□
HP组			
治疗前	99.1±11.2	3 101.25±12.5	134.65±23.08
治疗后	253.8±12.7**	89.47±12.3**	265.17±13.24**
治疗后1个月	169.1±13.2**▲▲	215.19±10.7**▲▲	198.33±15.81**▲▲

GBF: 牙龈血流量; GPx: 谷胱甘肽过氧化物酶. ** $P < 0.01$ 与治疗前比较; △△ $P < 0.01$ 与HP组比较; □□ $P < 0.01$ 与HBO组比较; ▲▲ $P < 0.01$ 与同组治疗后比较

3 讨论

牙龈炎牙龈微血管中红细胞流速减慢,血栓形成,GBF减少;HBO可增加牙龈组织中微血管数量,增加GBF^[1-2]。本研究发现HBO组舰员GBF增加明显高于HP组,HBO+SCA组GBF增加明显大于HBO组,说明HBO加洁治对舰员牙龈微循环改善作用最强。以往研究证实游离龈和附着龈GBF无显著差异^[2],本研究选牙龈龈缘下3mm处测定GBF,结果恒定,说明GBF可作为判断牙周健康的指标之一。

许丽华等^[4]用免疫组化技术证实产黑素类杆菌可侵入牙周炎患者袋壁深部组织,导致牙周炎不易愈合,所以用牙周刮治清除龈下菌斑后,再用抗厌氧菌的HBO治疗,可破坏微生物生态环境,杀灭侵入袋壁组织内细菌,有利于牙周组织的愈合。本研究发现,HBO组舰员牙周炎致病性厌氧菌明显降低,HBO+SCA组对厌氧菌的降低程度明显强于HBO组和HP组。GPx是位于细胞线粒体和生物膜上水溶性蛋白酶,有较强的抗自由基作用,能将H₂O₂还原为H₂O,保护细胞免受自由基损害。Pristov等^[5]发现组织中血栓形成时GPx升高3倍,组织中自由基活性增加可降低GPx对人体的保护作用,增加血栓形成危险。本研究用DTNB比色法在舰员牙周炎GCF中检测出了GPx活性,证实该方法可用于舰员牙周炎GCF中GPx测定。Kudchodkar等^[6]报道,HBO可影响GPx酶活性,减轻自由基脂质氧化反应对组织的损伤,可明显增加GPx和谷胱甘肽还原酶,还可减少脑动脉栓塞时氢氧自由基的形成和谷氨酸盐的释放,减缓组织的炎症反应^[7]。所以本实验HBO组GCF中GPx活性明显增加;还发现,HBO组GI、SBI、PLI、PD和AL明显降低,HBO加洁治对舰员牙周炎的疗效明显优于HBO组和HP组,且可维持1个月以上,表明洁治对提高HBO疗效有一定作用。虽然HBO治疗费用稍高于双氧水治疗,但HBO对于侵袭性或复杂性牙周炎的治疗仍值得关注。双氧水冲洗牙周袋,虽然可杀灭牙周致病菌对牙周炎起一定作用,但对GBF、GPx作用明显小于HBO组,在治疗1个月时对GBF、GPx、龈下厌氧菌及GI、SBI作用明显降低,可见HBO治疗舰员牙周炎有广阔的前景。

综合本次和以往研究,HBO可增加GBF,改善牙龈微循环^[2],减少组织中前列腺素含量^[8],抑制牙槽骨吸收和促进骨形成^[9],抑制牙周致病性厌氧菌繁殖,增加龈沟液中GPx含量,从而对舰员牙周炎起治疗作用。

致谢 本研究得到上海交通大学第九人民医院李德懿教授和同济大学药理学教研室苏丹老师的帮助,在此致谢!

[参考文献]

- [1] Gleissner C, Kempski O, Peylo S, Glatzel J H, Willershausen B. Local gingival blood flow at healthy and inflamed sites measured by laser Doppler flowmetry[J]. J Periodontol, 2006, 77: 1762-1771.
- [2] 陈铁楼, 蔺世龙, 刘国勤, 刘景昌, 宋培智, 许兵, 等. 高压氧对人重度牙周炎的作用及疗效维持时间[J]. 上海口腔医学, 2003, 12: 403-405.
- [3] Chen T, Zhou Y, Liu J, Xu B, Wu Z, Li D. Biological effects of hyperbaric oxygen on human severe periodontitis[J]. Undersea Hyperbaric Med, 2002, 29: 159-166.
- [4] 许丽华, 薛毅, 史俊南, 刘彦仿. 侵入牙周病变组织中的牙龈类杆菌[J]. 中华口腔医学杂志, 1995, 30: 212-214.
- [5] Pristov J B, Spasojevic I, Mikovic Z, Mandic V, Cerovic N, Spasic M. Antioxidative defense enzymes in placenta protect placenta and fetus in inherited thrombophilia from hydrogen peroxide[J]. Oxid Med Cell Longev, 2009, 2: 14-18.
- [6] Kudchodkar B J, Pierce A, Dory L. Chronic hyperbaric oxygen treatment elicits an anti-oxidant response and attenuates atherosclerosis in apoE knockout mice[J]. Atherosclerosis, 2007, 193: 28-35.
- [7] Yang Z J, Xie Y, Bosco G M, Chen C, Camporesi E M. Hyperbaric oxygenation alleviates MCAO-induced brain injury and reduces hydroxyl radical formation and glutamate release[J]. Eur J Appl Physiol, 2010, 108: 513-522.
- [8] 陈铁楼, 蔺世龙, 刘景昌, 许兵, 海角, 唐大海. 高压氧对牙周炎组织前列腺素的作用及其机理分析[J]. 中华口腔医学杂志, 2002, 37: 228-230.
- [9] 陈铁楼, 刘景昌, 王晓熙, 蔺世龙, 周以钧, 吴织芬, 等. 高压氧对豚鼠实验性牙周炎作用的组织病理学研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2002, 18: 418-420.

[本文编辑] 尹茶