

NO 与牙周病周期性发病关系的研究

李 波 刘 巍

(哈尔滨医科大学附属第五医院口腔科 黑龙江 大庆 163316)

摘要 目的:临床上牙周病总是活动与静止期交替发生,经研究牙周病患者中 NO 含量及其牙周病有显著相关性。本研究目的系为了阐明 NO 在牙周病中的调节机制。方法:通过对牙周炎患者不同时期的唾液 NO 含量进行分析,来检测其活动期与静止期 NO 含量变化。结论:数据表明,NO 在高浓度状态下可以导致炎症加重,在低浓度状态下可以抗炎。

关键词:牙周病;NO(一氧化氮);周期性

中图分类号:R781.4 文献标识码:A

Study on Relationship between NO and Cyclic Disease Development of Patients with Periodontal Disease

LI Bo, LIU Wei

(Department of Stomatology, the Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 163316, Heilongjiang, China)

ABSTRACT: Progression of periodontitis is characterized by periodic active phase and relative stationary phase alternately. Previous studies have shown that periodontal disease is closely associated with nitric oxide (NO). However, the relationship between the concentration of NO and the periodic progression of periodontal disease still remains unknown. It is hypothesized that NO may play a regulatory role in the development of periodontitis. In this study, the concentration of salivary NO from patients with periodontal disease were analyzed and compared between two groups of patient with active and stationary phases, respectively. The role and mechanism of NO in periodontal disease were delineated. Thus the result from this study will contribute to the treatment and prevention of periodontal disease.

Key words: Periodontal disease; Nitric oxide (NO); Periodic

前言

口腔是人体四大菌库之一。微生物与宿主、微生物之间存在着相互制约、互相依赖的关系,共同维持着口腔微生态的平衡。这种平衡关系是动态的。这个动态平衡也是决定牙周健康的重要因素,因此临床上牙周病总是活动与静止期交替发生,并且是目前人类最普通的疾病之一。随着分子生物理化技术及各项实验技术的发展,对牙周病发病机理的研究以深入到细胞因子、自由基、免疫活性物质等领域。

一氧化氮是一种毒性强、易扩散、化学性质不稳定的自由基。在体内参与免疫、血管、神经、消化等多种系统的生理功能调节。1993年由 Bodies 首次在唾液中检测到一氧化氮的存在,含量约为血液中的十倍,而口腔炎症患者唾液内的 NO 含量又较健康人高。并且国内外学者近些年研究发现:牙周病患者 NO 含量及其牙周病指标有显著相关性。但其含量与牙周病周期发病的关系尚无相关报道,也就是说 NO 在牙周病中的调节机制不甚明了。本研究通过对牙周炎患者不同时期的唾液 NO 含量进行分析,来检测其活动期与静止期 NO 含量变化,来阐明 NO 在牙周病中的作用及调节机制,以期对该病的防治产生积极的意义。

1 材料和方法

作者简介:李波(1969-),男,大学本科,副主任医师。

主要研究方向:口腔医学细胞生物基础研究。

(收稿日期:2006-02-11 接受日期:2006-04-16)

1.1 研究对象:

成年牙周病活动期患者 30 例(完成全部治疗及二期检测人数)。无其他口腔粘膜疾病及糖尿病、甲亢、肝炎等全身代谢性疾病者。男女各半,年龄 22~43 岁。记录完牙周指数和牙龈指数后,受试者首先刷牙后用清水漱口 3 次,清除口腔、牙面食物残渣,再以蒸馏水含漱两次,两分钟后收集受试者下唇自然流出的非刺激性全唾液 1ml 左右,密封于冰箱内(-20℃)保存至测试分析。这与其他实验采集唾液的方法有所不同,以往不需任何处置直接采集。我们认为食物残渣和牙面软垢所带来的硝酸盐和亚硝酸盐及口腔内细菌所产生的 NO 会对唾液的 NO 含量检测结果有较大影响,故认真清洁口腔并消毒是必要的。

1.2 治疗:

实验患者留取唾液后给予龈下洁治,然后龈沟内涂碘甘油。医嘱口服替硝唑片 0.5tid., 口泰含漱液含漱。用药一周后,再次取唾液测量 NO 含量。取唾液前确定无急性期牙周病表现。加服牙周宁片 40mg tid. po., 替硝唑片 0.1 tid. po., 用药一周。每周复诊一次,针对个体差异对用药及治疗进行指导。三月后,受检患者复诊,确定牙周病痊愈者再次取唾液(留取方法同第一次)。留取前由专业人员确诊牙周病临床指标检测低于 I° 牙周病数值。并确定已停用治疗药物一月以上。

1.3 对照组

取 20 例牙周组织正常的健康人群行 NO 测定作为对照组

2 实验方法

2.1 仪器设备:

LENGGUANG 721 分光光度仪, GL- 88G 螺旋震荡器, LXZ - II B 低温离心机

2.2 试剂:

NO 的化学性质活泼, 在体内代谢很快转为 NO₂ 和 NO₃, 而 NO₂ 又进一步转化为 NO₃。本法利用硝酸盐还原酶特异性将 NO₃ 还原为 NO₂, 通过显色深浅测定其浓度的高低。本试剂盒由南京建成生物制品研究所提供。

2.3 实验步骤

- ①唾液于 - 20℃ 冷冻储存, 测试时 37℃ 水温复浴。
- ②标准品一支 (10mmol/L) - 20℃ 保存, 每次测试前取 0.1ml 用双蒸水稀释至 10ml (100 倍稀释) 配制成 100μmol/L 标准应用液。

表 1 测试步骤
Table 1 Test Measures

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(ml)	0.1		
100μmol/L KNO ₃		0.1	
唾液(ml)			0.1
1号试剂(ml)	0.2	0.2	0.2
2号试剂(ml)	0.2	0.2	0.2
漩涡混匀器混均后 37℃ 水浴 1 小时			
3号试剂(ml)	0.2	0.2	0.2
4号试剂(ml)	0.1	0.1	0.1
充分混匀 30 秒, 室温静置 10 分钟 3500- 4000 转/分, 离心 10 分钟, 取上清			
上清(ml)	0.5	0.5	0.5
显色剂(ml)	0.6	0.6	0.6

3 实验结果:

牙周病急性期患者 NO 含量: 59.31 ± 11.70 μmol/l, 牙周病静止期患者 NO 含量: 33.21 ± 8.39 μmol/l, 牙周痊愈性期患者 NO 含量: 26.87 ± 8.01 μmol/l, 对照组 NO 含量: 29.38 ± 6.90 μmol/l。

4 讨论

NO 是一种含不成对电子的气体, 生物半衰期仅 3~ 5 秒。很快就会被氧化为 NO₂。所以检测唾液内 NO 含量实际是通过测定其代谢产物 NO₂ 含量来实现的。这就是硝酸盐还原酶法的基本原理。由于唾液中 NO 的明确来源、调控机制至今没有定论, 有研究认为其来源有可能由腺体内神经末梢、唾液腺泡细胞、导管细胞、肌上皮细胞、炎症细胞及口腔微生物群体等。所以为更准确地反映唾液中 NO 含量, 所收集的标本是非刺激性全唾液。并且为尽量减少口腔内食物残渣和牙面软垢及口腔内细菌产生 NO 所造成的影响, 故在收集唾液前认真清洁口腔并清水含漱。所选择治疗药物要求不能对 NO 含量产

生影响, 治疗过程中避免外源性高浓度亚硝酸盐的给予。

结合牙周炎临床症状, 测量出 NO 含量与牙周病有明显的负相关性 (t < 0.05 = , 提示 NO 确实参与了牙周病的炎症反映。这与实验前预测结果及部分学者的研究有区别。我们分析, 其他研究中多为验证牙周病患者与正常人群的 NO 差异, 所以对牙周病时期性不加以控制。而本实验重点在于不同时期的 NO 含量的对比, 而且我们采集唾液的方法是在认真清洁口腔后取样, 所以检测结果同其他实验的结果有区别。这种结果表明: NO 参与了牙周病炎症的反映, 而且高浓度的 NO 对牙周组织存在损伤。所以在急性期时 NO 的含量值明显高于静止期及痊愈期。那么由此推断, 如在牙周给予外源性高浓度 NO 后, 炎症表现会加重。但在人体试验中此过程不能进行, 在相关动物实验课题中得到证实。

一直以来人们对硝酸盐的认识大都认为其有害。对机体的炎性刺激方面。Duncan 等发现口腔内 NO₃ 转化为 NO₂, NO₂ 还原后产生 NO 有杀灭口腔内病原菌的作用, 起到维持口腔内菌群与宿主平衡关系的作用。在口腔环境中, 龈沟内的产酸菌能将硝酸盐降解为 NO, 而硝酸盐降解酶由许多碱性厌氧菌在低氧饱和度的情况下合成。而深牙周带内为低氧饱和度环境, 理论上有利于细菌定植产生 NO, 并能为保护这些细菌免受短暂的酸化及之后亚硝酸盐降解的损害提供共生适应环境。表现在静止期、痊愈期 NO 含量明显低于活动期 (t < 0.05), 接近对照组且无明显差异性。并且已确定是停止治疗药物一月后无复发征象的患者唾液标本。这样就是说作为一种炎性介质, NO 同时又是一种内环境稳定的保护剂。那么就出现了这样的一个现象:



也就是说 NO 参与了牙周病的周期性发病。在牙周病的发生和发展过程中, 局部 NO 的浓度决定了疾病的走向。这一机理在该病的诊断与治疗过程中可作为重要的辅助实验室检查加以推广使用。

参考文献

- [1] Anggard. Nitricoxide: mediator, murderer and medicine[J]. Lancet, 1994, 343(8907): 1199- 1026
- [2] Stamler JS, Singel DJ, LoscalzoJ. Biochemistry of nitric oxide and its redox- activated forms[J]. Science, 1992, 258: 1898- 1902
- [3] MatejaM, PartykaK, Ulm c, et al. Nitric oxide synthesis is increased in periodontal disease[J]. J Periodont Res, 1998, 33(3): 517- 518
- [4] 陈桂珍, 孙伟莲. 牙周病患者唾液 NO 与牙周病指标相关性的研究[J]. 华西口腔医学杂志, 1999, 17(2): 140- 141
- [5] 王忠东, 文玲英, 金岩, 等. 人牙龈组织中内皮素及一氧化氮合成酸的异常与牙周病相关性的研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2001, 11(1): 1
- [6] 孙伟莲, 陈莉丽. IGF- II 对小鼠成骨样细胞一氧化氮合酶基因表达的影响[J]. 中华口腔医学杂志, 2004, 39(3): 201- 207