

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.03.029

新型激光光敏根管消毒剂在牙本质中渗透性的研究*

黄健 马巍 王涛 毕良佳 林江 王晓春

(哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:观察新型激光光敏根管消毒剂、甲苯胺蓝和亚甲基蓝在牙本质中的渗透效果,评价三种光敏剂在牙本质中的渗透性。**方法:**收集新鲜拔除的离体单根管牙 90 颗,根管预备后随机分为三组。每组 30 颗。A 组为新型激光光敏根管消毒剂组;B 组为甲苯胺蓝组;C 组为亚甲基蓝组。A、B、C 三组实验根管内分别用浸有饱和的新型激光光敏根管消毒剂、甲苯胺蓝和亚甲基蓝的棉捻在根管内停留 60 秒。沿牙体长轴颊舌纵向劈开,倒置荧光显微镜下观察并拍照,用 Photoshop8.01 软件测量三种光敏剂渗透入牙本质的平均深度。**结果:**新型激光光敏根管消毒剂在牙本质内的渗透平均深度为 553.25 μm ,甲苯胺蓝在牙本质内的渗透平均深度为 350.75 μm ,亚甲基蓝在牙本质内的渗透平均深度为 168.25 μm 。**结论:**新型激光光敏根管消毒剂在牙本质渗透性明显优于甲苯胺蓝和亚甲基蓝,具有良好的牙本质渗透性。

关键词:激光;光敏剂;牙本质;渗透性;根管治疗

中图分类号:R781 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)03-507-04

A Study on Dentin Permeability of New Type of Laser Photosensitizer Disinfection Reagent in Root Canal Dentin*

HUANG Jian, MA Wei, WANG Tao, BI Liang-jia, LIN Jiang, WANG Xiao-chun

(The fourth affiliated hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To evaluate the permeability of three different kinds of laser photosensitizer in the root canal dentinal. **Methods:** 90 single-rooted human teeth were randomly divided into 3 groups after root canal preparing. (A group was laser photosensitizer disinfection reagent; B group was toluidine blue; C group was methylene blue.). Experimental groups were dipped for 60 seconds by different laser photosensitizer. Penetration depth of the three groups were measured by inverted fluorescent microscope after separating tooth along the axis. **Results:** The penetration depth of group A was 553.25 μm . B was 350.75 μm . C was 168.25 μm . **Conclusions:** The new laser photosensitizer's permeability was better than toluidine blue' and methylene blue'.

Key words: Laser; Photosensitizer; Dentin; Permeability; Root canal treatment

Chinese Library Classification(CLC): R781 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)03-507-04

前言

光活化根管消毒技术^[1-3](photo-activated disinfection, PAD)的基本原理是利用光敏剂(染色剂)确定靶细菌,由特定光谱的低能量激光照射产生游离态氧,游离态氧可以破坏细胞壁,从而导致细菌的坏死、崩解。利用光活化根管消毒技术能够有效杀灭根管内细菌,汽化细菌等有害代谢产物,尤其对渗入牙本质小管、侧支根管和弯曲根管等深层组织的细菌也有杀灭作用。

光敏剂一般为色素性物质^[4-6],甲苯胺蓝和亚甲基蓝等是目前最常用的光敏剂。利用光敏剂在牙本质中的渗透性,可以促进深层牙本质对激光光能的吸收,增强根管消毒的效果,因而激光光敏剂牙本质的渗透性直接影响光活化消毒技术的效果^[7]。本实验是研究新型激光光敏根管消毒剂在牙本质中的渗透性,以期临床光活化根管消毒技术寻找一种更为有效的激光光敏剂提供参考。

1 材料和方法

1.1 主要仪器和材料

日本尼康 TE2000-U 倒置荧光显微镜。

激光光敏根管消毒剂。(美国 Cao Group, Inc 公司研制)

甲苯胺蓝。(上海药品试剂公司)

亚甲基蓝。(上海药品试剂公司)

1.2 牙齿标本的选择

收集临床上由于正畸或牙周病需要拔除的年轻恒牙 90 颗,在数字牙片机颊舌和近远中方向摄片,确定为单根管。

实验样本纳入标准:①牙根长度 >12 mm,无明显发育异常;②无裂纹、无内吸收;③牙体无龋,未进行过牙髓治疗。

实验样本排除标准:①根管弯曲、钙化;②根管有解剖变异。

1.3 实验牙预备及分组

用洁治器清除离体牙表面的牙石、色素和软组织后,贮存

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术项目(12511227)

作者简介:黄健(1974-)女,硕士,主要研究方向:口腔疾病诊治,电话:13946180650, E-mail:huangjian2015@sina.com

(收稿日期:2013-10-21 接受日期:2013-11-15)

在 0.9% 的生理盐水中备用。将所有样本牙均用金刚砂片于釉牙骨质界处切除牙冠, 拔除根髓后, 用 ISO 标准用手用不锈钢 15°K 形锉 (Mani Inc, Japan) 疏通根管。在手术显微镜下 (LEICA M500-N, Germany) ($\times 4$) 观察, K 形锉尖端自根尖孔处露出时, 调整固定参考点, 测量此时止动片到器械尖端的距离, 将此距离减去 1mm 定为工作长度。采用 ProTaper 手用镍钛锉 (Dentsply Mailler, Switzerland), 按厂家使用说明书以冠根向预备法进行根管预备, 预备至 F3。预备过程中, 每换一次器械, 选用 1 mL 的 5.25%NaClO 进行根管冲洗, 冲洗时间加停留时间为 1 min; 用 5 号注射器深入根管内进行冲洗, 冲洗时, 将针头深入到根管内的长度较工作长度短 1~2 mm。使针头尽量深入并左右上下运动针头, 以达到无阻力、无嵌塞、回流通畅。每个样本预备过程中, 共用 8 mL 冲洗液, 预备时间控制在 10 min。预备完成后的样本再用 5 mL 17%EDTA 进行冲洗, 以去除玷污层。先注入 1 mL 冲洗液, 停留 5 min, 用 15#K 形锉进入到工作长度上下提插后再用余下冲洗液冲洗; 最后用 5 mL 蒸馏水冲洗根管, 无菌棉捻吸干燥根管。实验牙根标记后随机分为 A 组新型激光光敏根管消毒剂组; B 组为甲苯胺蓝组; C 组为亚甲基蓝组, 每组 30 颗。

1.4 实验方法

甲苯胺蓝和亚甲基蓝分别用生理盐水稀释成浓度为 1 mg/ml, 将浸有饱和激光光敏根管消毒剂、甲苯胺蓝和亚甲基蓝的棉捻插入实验牙齿根管中, 充分接触牙本质内壁, 在根管内停留 60 秒后取出, 用纸尖吸干根管。沿牙体长轴通过根管口中心颊舌纵向剖开牙齿。倒置荧光显微镜 ($\times 10$) 下观察并拍照, 用 Photoshop8.01 软件测量三种物质在牙本质中的渗透深度, 标本每个剖面分别测量 3 次, 取其平均值作为样本渗透深度并记录。

1.5 统计分析

数据采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS12.0 统计软件对三种光敏物质渗入牙本质深度, 进行单因素方差分析 (ANOVA(LSD)), $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

三组实验牙中, 新型激光光敏根管消毒剂组在牙本质内的渗透深度明显大于甲苯胺蓝和亚甲基蓝的渗透深度, 差异有统计学意义 ($F=162.719$, $P=0.000$), 见表 1。

表 1 三组物质牙本质渗透深度比较结果 ($\bar{x} \pm s$, μm)

Table 1 The result of the penetration depth of the three kinds of laser photosensitizer

组别 (Group)	牙数 (颗) (The number of cases)	渗透深度 (μm) (Depth of penetration)	ANOVA
新型激光光敏根管消毒剂 Laser photosensitizer disinfection reagen	30	553.25 $\pm$ 17.653	F=162.719, P= 0.000
甲苯胺蓝 Toluidine blue	30	350.75 $\pm$ 11.785	
亚甲基兰 Methylene blue	30	168.25 $\pm$ 13.785	

3 讨论

牙本质是一种敏感的组织, 牙本质小管为贯通于牙本质全层的管状空间, 充满了组织液。牙本质小管自牙髓端伸向表面, 沿途分出许多侧支, 并与临近小管的侧支互相吻合, 牙根部牙本质小管的分支数目比冠部多。由于牙本质组织结构的多孔性, 因而具有良好的渗透能力, 组织液和牙局部微环境中的许多液体介质和离子可通过牙本质, 液体可通过牙本质小管自髓腔渗透达釉牙骨质界, 细菌产物内毒素等可进入牙深层本质小管引起炎症反应。粪肠球菌、血链球菌、衣氏放线菌等均有较强的渗透能力, 能够进入牙本质小管深层和跟面牙骨质层, 侵入深度 100 μm 到 500 μm 不等。

牙髓病和根尖周病为人群中常见病、多发病, 根管治疗^[8-9] (RCT root canal therapy) 被认为是治疗牙髓病和根尖周病的首选的、疗效较为可靠的保守治疗方案。根管治疗的主要目的是去除根管内病原菌, 促进根尖周组织愈合, 根管彻底杀菌消毒是根管治疗成功与否的重要环节^[10]。根管系统的复杂性, 决定了根管消毒的必要性。化学冲洗和消毒是目前消除根管内感染的重要手段, 国际上广泛使用的是 0.5%~5.25% 次氯酸钠溶液 (NaClO), 具有较强的抑菌能力和溶解坏死物得能力, 次氯酸

钠溶液的生物效应大部分依赖于其在根管内停留的时间和剂量的应用, 小剂量、短时间的应用效果有限, 随着浓度增加, 其组织刺激性和细胞毒性也增加。一直以来, 有关根管消毒的文献较多, 并且用细菌培养检查方法来鉴定根管是否已经达到无菌, 这样就导致根管消毒的复诊次数较多, 无法简化^[11-13]。长期的临床观察和基础研究结果对根管消毒的认识进一步提高, 强调根管消毒的程度应更科学, 更客观, 将根管清理、成形、消毒合为一体, 提倡应用局部消毒技术作为更有效和保守的治疗方法, 以减少牙体组织的过多去除, 提高临床疗效。激光根管清理的原理是激光被生物组织吸收后, 产生瞬间高强度的光热作用、光化学作用、光电磁作用, 使组织瞬间汽化、熔融或凝固, 达到杀菌消炎、去除玷污层。目前临床运用激光根管清理的最大难点是: 激光的能量要达到一定的能量以上才能达到消毒的效果。使用高能激光在消毒根管的时候产生高热, 可以引起根尖周组织的损伤和炎症反应, 同时受传导激光的光纤尺寸限制, 激光本身不能接触到根管的侧枝根管和牙本质小管位置, 导致消毒不完全, 限制了激光根管消毒的临床应用。

国外最近的研究发现, 常规的超声清洗技术加上激光诱发的化学消毒技术可提高根管内消毒感染的效果^[14]。光活化消毒技术 (photo-activated disinfection, PAD) 又称光动力疗法、光动

力抗微生物化学疗法,是一种新兴的抗微生物方法,是在有氧的条件下,应用光敏剂和低能量激光实现微生物灭活。光敏剂分子接受光照,吸收光子的能量,在靶细胞内发生光化学反应,产生的活性氧(reactive oxygen species,ROS)具有细胞毒作用,能高效地氧化生物分子,破坏细胞壁,致病因子灭活甚至DNA损伤,最后诱导细胞坏死。此疗法具有疗效确切、安全微创、痛苦轻微、对正常组织损伤很轻、不引起耐药、可重复、可配合其它手段开展综合治疗等许多优点或特点,已经在眼科、皮肤科、肿瘤等科疾病中得到应用。光敏剂是光活化消毒技术中不可缺少的核心物质,光敏剂的渗透性质直接影响光活化消毒技术的效果^[15]。现阶段采用的光敏剂主要为各种染料,Williams^[16]等的研究结果证实就证实甲苯胺蓝、亚甲基蓝等光敏剂可以使口腔内G⁺和G⁻菌被He-Ne激光杀死。文献^[17-19]报道,体外单独使用PAD技术也可以有效降低根管内细菌的数量,PAD消毒后根管系统内仍然存在保持活性的粪肠球菌,可能因为PAD系统中的光敏剂没有完全渗透到牙本质小管或侧副根管内。Souza等^[20]认为,目前PAD消毒的效果可能仍局限于主根管内,与NaClO溶液的作用区域无明显差别。Bonsor^[21]以亚甲基蓝为光敏剂,在离体根管内,用665 nm的红光照射培养的悬浮态细菌,即使应用了高质量浓度的亚甲基蓝和高强度的激光照射,人为培养的粪肠球菌生物膜也没有被完全消灭,分析其原因可能原因是根管形态复杂以及亚甲基蓝的牙本质渗透性有限。

虽然光活化消毒技术显示了良好的应用前景,由于亚甲基蓝、甲苯胺蓝等光敏剂的牙本质渗透性有限,激光照射后,根管内牙本质深层仍残存细菌。理想的光敏剂要求生物相容性良好,无毒副作用,表面张力低,可渗入牙本质小管深处,且对于微生物的杀伤有高度选择性。如何开发高渗透性的光敏剂是目前尚未解决的难题。本实验通过观察三种光敏剂在牙本质内的渗透深度,来进行对比研究三种光敏剂的渗透性。实验证明^[22,23]在新鲜离体牙和活体上测定的牙本质渗透性非常相近。本实验选用新鲜离体牙齿90颗,每组30颗。通过常规根管预备、清洗,清理根管内病变组织和各种毒素、除去根管壁表层感染的牙本质、使根管壁牙本质软化,充分开放牙本质小管,有助于光敏剂能够充分渗透到牙本质深层。实验中标本用倒置荧光显微镜观察研究,倒置荧光显微镜是近代发展起来的新式荧光显微镜,此种荧光显微镜的优点是视野照明均匀,成像清晰,放大倍数愈大荧光愈强,由荧光附件与倒置显微镜有机结合构成的,主要用于细胞等活体组织的荧光、相差观察,能够准确测量三种光敏剂在牙本质的渗透深度。牙本质渗透性测量的方法很多,其中染料渗透法操作简便,结果客观可靠。渗透法^[24]可以准确的测量光敏剂渗透入牙本质的深度,不破坏样本,可以重复测量。实验中三种激光光敏剂中甲苯胺蓝、亚甲基蓝是生化试剂,是细胞核的染色剂,可停留在细胞核成分较多的组织中,多用于染色。本实验中新型激光光敏根管消毒剂是以水和其它溶剂为载体的生物染料,生物相容性好,表面张力低,经简单根管处理后,可以在1分钟以内快速渗透根管内牙本质中,并且渗透入根管牙本质的平均深度达553.25 μm 。由于根管口和侧副根管口的虹吸作用及表面张力,光敏爆破剂向根尖周组织的渗

透性极低,光敏根管消毒剂基本控制在根管系统的范围内,在牙本质中的渗透性良好。由于在标本制作过程中,离体牙标本的个体差异(根管的直径和长度)、离体牙的储存方法、根管冲洗药物的浓度和计量、测量的角度等对实验结果也有一定影响。本实验针对新型激光光敏根管消毒剂牙本质渗透性的研究仅限于离体牙,对于激光光敏根管消毒剂在临床应用中的可行性;临床应用时的最适宜浓度的剂量和浓度;涂布于根管内的最佳时间;激光的类型、强度以及剂量等尚缺乏深入、系统的研究,有待于进一步探索。

参考文献(References)

- [1] Nixdorf DR, Moana-Filho EJ, Law AS, et al. Frequency of persistent tooth pain after root canal therapy: a systematic review and meta-analysis [J]. J Endod, 2010, 36(2): 224-230
- [2] Lim Z, Cheng JL, Lim TW, et al. Light activated disinfection: an alternative endodontic disinfection strategy [J]. Aust Dent, 2009, 54(2): 108-111
- [3] Noiri Y, Katsumoto T, Azakami H, et al. Effects of Er:YAG Laser Irradiation on Bio film-forming Bacteria Associated with Endodontic Pathogens In Vitro [J]. J Endod, 2008, 34(7): 826-829
- [4] Ferrari PH, Cai S, Bombana AC, et al. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections [J]. Int Endod J, 2005, 38(6): 372-380
- [5] Nair PN, Henry S, Cano V, et al. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005, 99(2): 231-252
- [6] Harashina T, Kinoshita J, Kimura Y, et al. Morphological comparative study on of dental hard tissues at cavity preparation by Er: YAG and Er, Cr: YSGG [J]. Photomed Laser Surg, 2005, 23(1): 52-55
- [7] 贺慧霞, 刘鲁川, 安建平, 等. 脉冲Nd:YAG激光根管内照射剂量与杀菌效应关系 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2003, 13(5): 276-279
He Hui-xia, Liu Lu-chuan, An Jian-ping, et al. Pulsed Nd:YAG laser irradiation in root canal sterilization dose and effect relationship of [J]. Journal of dental pulp and periodontal disease, 2003, 13(5): 276-279
- [8] Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, et al. Microbiological evaluation of photo activated disinfection in endodontic scan in vivo study [J]. Br Dent J, 2006, 200(6): 337-341
- [9] Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, et al. An alternative regimen for root canal disinfection [J]. Br Dent J, 2006, 201(2): 101-105
- [11] Souza LC, Brito PR, De Oliveira JC, et al. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation irrigation procedures in promoting canal reduction of Enterococcus faecalis [J]. J Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, et al. Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens ex vivo [J]. Int Endod J, 2008, 41(3): 227-239
- [12] Marley JT, Ferguson DB, Hartwell GR. Effects of chlordan gluconate as an endodontic immigrant on the apical seal: short-term results [J]. J Endod, 2001, 27(12): 775-778
- [13] Lee MT, Bird PS, Walsh LJ, et al. Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics [J]. Aust Endod, 2004,

- 30(3): 93-98
- [14] Macecek J, Kolarova H, Bajgar R, et al. Comparison of light emitting diodes and semiconductor laser inducing photodynamic therapy of cancer cells[J]. Proc of SPIE, 2007, 6604 (2J): 66042J-1-66042J-5
- [15] Wong TW, Wang YY, Sheu GN, et al. Bactericidal Effects of Toluidine Blue mediated Photodynamic Action on vibrio funiculus [J]. Antimilitary Agents Che mother, 2005, 49 (3): 895-902
- [16] Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ, et al. The photo-activated antibacterial action of toluidine blue O in acollagen matrix and in carious denting[J]. Caries Res, 2004, 38(6): 530-536
- [17] Soukos NS, Chen PS, Morris JT, et al. Photodynamic therapy for endodontic disinfection[J]. J Endod, 2006, 32(10): 979-984
- [18] Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, et al. Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens exvivo[J]. Int Endod J, 2008, 41(3): 227-239
- [19] Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, et al. Photodynamic treatment of endodontic poly microbial infection in vitro[J]. J Endod, 2008, 34(6): 728-734
- [20] Souza LC, Brito PR, de Oliveira JC, et al. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intertarsal reduction of Enterococcus faecalis [J]. Endod, 2010, 36(2): 292-296
- [21] Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, et al. Microbiological e-valuation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study)[J]. Br Dent J, 2006, 200(6): 337-341
- [22] 郑铁丽, 黄翠, 张智星, 等. 离体牙储存方式对牙本质黏结剂微拉伸强度的影响[J]. 上海口腔医学, 2005, 14(4): 147-150
Zheng Tie-li, Huang Cui, Zhang Zhi-xing, et al. Teeth in vitro storage effects on dentin bonding agent micro-tensile strength. [J]. Shanghai Journal of stomatology, 2005, 14(4): 147-150
- [23] 黄达鸿, 桂和明, 张建明, 等. 微波影响染料在牙本质渗入深度的实验研究[J]. 佛山科学技术学院学报, 2007, 25(2): 77-79
Huang Da-hong, Gui He-ming, Zhang Jian-ming, et al. Effect of microwave dye in the experimental study of dentin depth of penetration[J]. Journal of Foshan University, 2007, 25(2): 77-79
- [24] Tamse A, Katz A, Kablan F. Comparison of apical leakage shown by four different dyes with two evaluating methods[J]. Int Endod J, 1998, 31(5): 333-337

(上接第 499 页)

- [14] Channon K. Oxidative stress and coronary plaque stability [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, 22(11): 1751-1752
- [15] Youssef AA, Chang LT, Sheu JJ, et al. Association between circulating level of CD40 ligand and angiographic morphologic features indicating high-burden thrombus formation in patients with acute myocardial infarction undergoing primary coronary intervention [J]. Circ J, 2007, 71(12): 1857-1861
- [16] 黄红梅, 李俐. 替罗非班治疗老年非 ST 段抬高急性冠脉综合征的临床研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2011, 3(1): 41-43
Huang Hong-mei, Li Li. Tirofiban used in treatment of senile acute coronary syndrome with non-ST elevation [J]. Chin J Evid Based Cardiovasc Med, 2011, 3(1): 41-43
- [17] Song TJ, Lee KO, Kim DJ, et al. Rescue Treatment with Intra-arterial Tirofiban Infusion and Emergent Carotid Stenting [J]. Yonsei Med J, 2008, 49(5): 857-859
- [18] Egbertson MS, Chang CT, Duggan ME, et al. Non-peptide fibrinogen receptor antagonist optimization of atyrosine-template as a mimic for Arg-Gy-Asp[J]. Med Chem, 1994, 37: 2537-2551
- [19] 吕磊, 罗义. 冠心病患者及介入治疗对 CD41 水平的影响[J]. 实用老年医学, 2012, 26 (4): 312-313
Lv Lei, Luo Yi. CD41 level in patients with coronary artery disease and the influence of PCI[J]. Pract Geriatr, 2012, 26(4): 312-313
- [20] Moe KT, Wong P. Current trends in diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome[J]. Ann Acad Med Singapore, 2010, 39(3): 210-215
- [21] 郭华, 钟勇, 江时森. 血运重建对非 ST 段抬高急性冠脉综合征患者生活质量的影响[J]. 临床军医杂志, 2011, 39(6): 1108-1110
Guo Hua, Zhong Yong, Jiang Shi-sen. The impact of coronary artery revascularization on the patient with non-ST segment elevation acute coronary syndrome[J]. Clin J Med Offic, 2011, 39(6): 1108-1110