

- [6] 韩改玲,王锐,王翠娟,等.非增殖性糖尿病视网膜病变患者采用注射用丹参多酚酸盐辅助治疗疗效[J].中国临床研究,2017,30(1):123-125.
- [7] 朱振涛.眼底激光联合羟苯磺酸钙治疗糖尿病视网膜病变[J].国际眼科杂志,2017,17(2):288-290.
- [8] 李为贵,吴健,王萍.羟苯磺酸钙胶囊治疗老年2型糖尿病合并单纯性视网膜病变的临床观察[J].老年医学与保健,2016,22(6):398-400.
- [9] 崔向勇.观察羟苯磺酸钙胶囊联合复方丹参滴丸治疗糖尿病性视网膜病变及肾病的疗效[J].糖尿病新世界,2016,19(4):31-32.
- [10] 隋亚楠.复方血栓通胶囊联合羟苯磺酸钙治疗糖尿病视网膜病变的疗效观察[J].内蒙古中医药,2017,36(8):93.
- [11] 王习哲,刘大川.糖尿病患者视网膜血管直径变化分析[J].中华眼科杂志,2016,52(5):358-361.
- [12] 宋君,裴文莹.激光结合药物治疗糖尿病视网膜病变的疗效观察与护理[J].激光杂志,2016,37(5):125-127.
- [13] 李永康.羟苯磺酸钙胶囊治疗糖尿病视网膜病变的临床研究[J].海峡药学,2012,24(6):80-81.
- (收稿日期:2017-09-16,修回日期:2017-11-03)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.07.048

◇ 药物与临床 ◇

松香局部应用对牙本质小管封闭效果的实验研究

唐成芳^a,左艳萍^a,曾辉^a,周芳^a,杨黎燕^b,马新扬^a,朱勇^a作者单位:西安医学院,^a口腔医学院,^b药学院,陕西 西安 710021

通信作者:朱勇,男,教授,研究方向为口腔疾病防治、眼耳鼻喉头颈外科,E-mail:zhuyong9023@qq.com

基金项目:国家自然科学基金(81641150),陕西省科技厅社会发展科技攻关项目(2016SF-148),陕西省卫生厅扶植项目(2016D022);西安医学院配套基金(2016PT35)

摘要:目的 观察天然松脂局部应用对牙本质小管的封闭效果以及其浓度效应,为其单独防治牙本质过敏提供实验依据。方法 制备牙本质块80个,采用随机数字表法分为8组,每组10个,酸蚀30 s,分别用无水乙醇,氟涂膜,10%,20%,30%,40%,50%和60%松香乙醇溶液涂布牙本质,场发射扫描电镜观察牙本质表面及剖面的显微形貌,并测量牙本质小管开口面积(ADTO)、牙本质小管开口相对面积(PADTO)和树脂突长度(LTD)。结果 各松香乙醇组ADTO,PADTO均显著低于乙醇组($P < 0.05$)。30%,40%,50%和60%松香乙醇组ADTO,PADTO与氟涂膜组差异无统计学意义($P > 0.05$),均显著低于10%和20%松香乙醇组($P < 0.05$)。扫描电镜见乙醇组牙本质表面牙本质小管完全开放,管壁较疏松;氟保护漆组牙本质小管完全封闭,未见明显树脂突形成;松香乙醇组牙本质小管呈不同程度封闭,剖面可见长度不等的树脂突形成。结论 松香乙醇溶液局部应用可快速封闭开放的牙本质小管,形成树脂突,且50%松香溶液即可达到较好即刻封堵效果。松香可通过封堵开放的牙本质小管防治牙本质过敏。

关键词:天然松香; 松香酸; 牙本质过敏; 牙本质小管

Sealing effects of Rosin applied locally on dentin tubules in vitro

TANG Chengfang, ZUO Yanping, ZENG Hui, ZHOU Fang, YANG Liyan, MA Xinyang, ZHU Yong

Author Affiliation: ^aCollege of Oral Medicine, ^bCollege of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710021, China

Abstract: Objective To observe the sealing effect natural rosin applied locally on dentin tubules, and provide an experimental basis for the prevention and treatment of dentin hypersensitivity. **Methods** Eighty dentin blocks were prepared and randomly divided into 8 groups ($n = 10$). The dentin surfaces were etched for 30 s, then were painted with absolute ethanol, fluoride varnish, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% and 60% natural rosin ethanol solution respectively. The micro morphology of dentin surface and longitudinal section were observed using field emission scanning electron microscope (FESEM), and the area of dentin tubular openings (ADTO), percentage area of dentin tubular openings (PADTO) and the length of resin tags (LRT) were also measured. **Results** The ADTO and PADTO in all rosin ethanol groups were significantly lower than that in the ethanol group ($P < 0.05$). The ADTO and PADTO in 30%, 40%, 50% and 60% rosin ethanol group had no significant difference with that in fluoride varnish group ($P > 0.05$), which were all significantly lower than that in 10% and 20% rosin ethanol group ($P < 0.05$). The dentin tubules were opened completely in ethanol group, and the walls of tubule were looser. The dentin tubules of dentin surface were sealed completely in fluoride varnish group, and no obvious resin

tags were formed. The dentin tubule were sealed in varying degrees on dentin surface and resin tags with different lengths were formed on longitudinal section according to rosin concentrations in rosin ethanol groups. **Conclusion** Local application of rosin alcohol solution can quickly seal the opened dentin tubules and form resin tags. 50 % rosin alcohol solution can achieve a better immediate sealing effect of dentin tubules. Rosin can prevent dentin hypersensitivity by sealing dentin tubules.

Key words: Nature rosin; Pine resin acids; Dentin hypersensitivity; Dentin tubule

牙本质过敏症 (Dentin hypersensitivity, DH) 是指牙齿在受到外界刺激, 如温度冷热、化学物质酸甜以及机械作用摩擦或咬硬物等所引起的一种异常酸痛症状, 是中老年甚至青少年的口腔多发常见症, 具有发作迅速、疼痛尖锐、时间短的特点, 是困扰医患双方的非龋难题^[1-3]。牙本质过敏症的发生主要与牙本质暴露、牙本质小管呈开放状态有关, 镜下观察表明牙本质敏感程度取决于牙本质小管的数量、开放比例以及小管开放程度^[4-5]。因而, 封闭牙本质小管被认为是减小牙本质通透率, 缓解牙本质敏感的重要措施^[1,3,6]。

松香为松科植物马尾松、油松或同属种植物的树脂除去挥发油后, 所留存的成分为松香酸酐、游离松香酸及少量槲皮素、 α -及 β -蒎烯等树脂烃、挥发油的固体树脂^[7-8]。自古记载, 松香具有祛风燥湿, 排脓拔毒, 生肌止痛及治风虫牙痛等功效^[8]。据此推测, 松香具有封闭牙本质小管和抗炎镇痛的潜能, 可能为 DH 的防治提供简便易得的方法或措施。松香在抗病毒、抗肿瘤等方面已被证实有确切疗效^[8,9-10], 以松香为基质含氟防龋涂料也被应用到 DH, 然单独应用松香防治 DH 的效果还不明确, 也尚未见相关报道。本实验自 2017 年 1—12 月观察不同浓度松香乙醇液口腔局部涂刷应用对牙本质小管封堵形貌, 并测量树脂突的深度以及牙本质小管口开放面积, 为松香防治 DH 提供实验依据, 以期临床 DH 防治提供简便可行的方式。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设备 松香, 无水乙醇, 37% 磷酸凝胶 (DenFil™, 韩国), 柯伯脂氟保护漆 (PULDENT, 美国 Puldent 公司, 美国), 源于 20~30 岁病人拔除的第三磨牙 (收集于西安交通大学口腔医院), 慢速切割机 (UNIPOL-830, 科晶有限公司, 沈阳), 场发射扫描电镜 (FESEM S-4800, Hitachi, 日本), 分析天平 (塞多利斯, 塞多利斯特泰帝公司, 德国)。

1.2 实验方法

1.2.1 样本制备及溶液制备 取新近拔除完整无隐裂、龋坏等病变的第三磨牙 40 颗, 按照文献描述方法制备牙本质块 80 个^[12]。此外, 室温下以无水乙醇为溶剂配制 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 及

60% 的松香乙醇溶液, 避光保存备用。

1.2.2 分组及处理 将 80 个试件随机分到无水乙醇, 氟保护漆, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 及 60% 松香组等 8 个组, 每组 10 个。各组试件超声清洗干净, 试件咬合面用 37% 磷酸凝胶酸蚀 30 s, 蒸馏水冲洗 3 次, 第次 10 s, 气枪轻吹去除多余水分后, 分别用无水乙醇、氟保护漆, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 及 60% 松香乙醇溶液均匀涂刷 2 次, 每次 10 s, 自然干燥。

1.3 指标观察与测定

1.3.1 表面及剖面形貌观察 沿制备的引导凹槽将各牙本质标本一剖为二, 喷金, 用 FE-SEM 观察牙本质表面牙本质小管口封堵情况, 以及剖面松香渗入牙本质小管的状况; 每个试样表面和剖面分别采集 3 组图像, 以便图像分析。

1.3.2 牙本质小管开口面积百分比及小管树脂突渗入深度测定 按照文献的描述方法^[11]应用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件测量试样表面的牙本质小管开口面积 (area of dentin tubular openings, ADTO) 和剖面的树脂突长度 (length of resin tag, LRT), 并计算牙本质小管开口相对面积 (percentage area of dentin tubular openings, PADTO)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析。ADTO、PADTO、LRT 等数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较进行单因素方差分析及组间两两比较 (HSD- q 检验)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 表面及剖面形貌 乙醇组牙本质表面见牙本质小管完全开放, 呈圆形或类圆形, 剖面牙本质小管清晰可见, 管壁光滑, 管口处管壁疏松多孔; 氟保护漆组表面牙本质小管口完全封闭, 牙本质表面基本被膜状物覆盖; 剖面见管壁内被覆厚薄不一的膜状物, 但未形成明显的树脂突。

松香乙醇组依据浓度不同牙本质小管呈不同程度封闭, 剖面可见树脂突形成。10% 松香乙醇组观察到小管口明显的变小, 少数完全封闭但仍隐约可见小管的轮廓, 剖面见自管口向下约 10~70 μm 长度的管壁被覆致密膜状物; 20% 松香乙醇组牙本质小管大部分被封闭且被封闭的管口处较牙本质

其余部分略凹陷,少数管口变小,剖面致密膜状物较10%组长,少量树脂突形成;30%松香乙醇组表面牙本质小管完全封闭,小管轮廓隐约可见,树脂突明显增多;40%~60%松香乙醇涂膜组牙本质被覆致密膜状物,牙本质小管轮廓不清,剖面见牙本质小管内充满15~60 μm 的树脂突,管壁的裸露胶原被树脂包裹。见图1,2。

2.2 ADTO、PADTO、LRT 结果 ADTO、PADTO、LRT 资料及数据见表1。整体比较(单因素方差分析)知:各指标整体均差异有统计学意义($P < 0.05$)。多重比较并结合主要数据分析:ADTO 乙醇组最大,显著高于氟保护漆组,两组间 ADTO、PADTO 差异有统计学意义($P < 0.05$)。松香乙醇10%至30%组,ADTO、PADTO 随浓度增加呈减少趋势,至30%组及以上牙本质小管完全封闭。10%组松香乙醇组 ADTO、PADTO 显著低于乙醇溶剂组,高于氟保护漆组($P < 0.05$);30%~60%松香组牙本质小管口完全封闭,与氟保护漆组相当($P > 0.05$);20%松香乙醇组 ADTO、PADTO 低于10%组且高于30%松香乙醇组,但与两者均差异无统计学意义($P > 0.05$)。

乙醇组、氟涂膜10%松香乙醇组无明显树脂突。20%~50%松香乙醇组 LRT 逐渐增加,且组间两两比较均差异有统计学意义($P < 0.05$),50%松香乙醇组 LRT 略高于到60%松香乙醇组,但两组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组牙本质小管开口面积、开口相对面积及树脂突长度/ $\bar{x} \pm s$

组别	个数	ADTO/ μm	PADTO/%	LRT/ μm
乙醇组	10	3211.57 $\pm$ 624.78	29.50 $\pm$ 5.74	0.00 $\pm$ 0.00
氟保护漆组	10	0.01 $\pm$ 0.03	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
A;10%松香乙醇组	10	298.5 $\pm$ 67.93	2.66 $\pm$ 0.60	0.00 $\pm$ 0.00
B;20%松香乙醇组	10	74.01 $\pm$ 18.64	0.66 $\pm$ 0.17	2.25 $\pm$ 2.84
C;30%松香乙醇组	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	13.67 $\pm$ 4.43
D;40%松香乙醇组	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	28.68 $\pm$ 5.62
E;50%松香乙醇组	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	44.10 $\pm$ 3.27
F;60%松香乙醇组	10	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	42.87 $\pm$ 3.89
整体分析				
F 值		320.942	29.728	37.263
P 值		0.000	0.000	0.000

3 讨论

作为口腔常见多发症的 DH 发病机制还不十分明确,目前普遍接受的学说是液体流动学说,当暴露的牙本质受到外界温度机械等刺激时引起牙

本质小管内的液体异常流动,从而将外界的刺激传递至牙髓内神经纤维进而产生一过性的尖锐疼痛^[1-2]。基于该学说,认为可采用抑制牙髓神经或牙本质神经纤维,提高阈值来降低敏感性或机械的封闭/减小开放的牙本质小管来降低牙本质通透性并阻止小管液的流动的方式防治 DH^[1,12]。目前氟化物诱导矿化法、磷酸钙/草酸钙等钙盐局部沉积、粘结覆盖法,激光熔融等封闭牙本质小管^[12-13]。蜂胶、地骨皮等也被用于牙本质过敏症的治疗,结果均表明蜂胶、地骨皮等对牙本质过敏具有较好的治疗效果^[14-15]。本实验探讨了松树分泌的天然树脂—松香单独用于开放牙本质小管的封闭效果观察,并对比了不同浓度松胶溶液的封闭效果。

切割牙本质会在牙本质表面形成一层由牙本质碎屑等组成的玷污层从而封堵牙本质小管,研究表明磷酸酸蚀可去除牙本质表面形成的玷污层^[16],因而本实验结合前期预实验结果采用了37%磷酸凝胶酸蚀30 s 去除玷污层并使牙本质小管完全开放作为因酸致牙本质敏感的体外模型。氟保护漆是以树脂为基质的含氟缓释剂,能在口腔内快速成膜,对牙体组织具有良好保护作用,并在局部缓慢释放氟与牙本质中大量存在的钙离子产生氟化钙晶体,形成被用于防龋和牙本质过敏防治^[14,17]。柯伯脂氟保护漆是从热带树木分泌的柯伯树脂为基质生产的氟保护漆,因松香与柯伯脂皆为天然树脂,故本实验选柯伯脂氟保护漆作为对照分析松香对暴露牙本质的封闭效果。实验结果提示:各组松香均与氟保护漆一样能在暴露牙本质上快速形成涂膜,并减小/封闭暴露的牙本质小管;此外,30%浓度以上的松香还可在牙本质管腔形成明显的树脂突,与乙醇溶液对照组和氟保护漆组有显著差异($P < 0.05$),结果表明松香能在牙本质表面形成涂膜和小管内树脂突,具备优于氟保护漆的即刻封闭效果。

本实验松香封闭牙本质的功效,可能与天然树脂——松香及乙醇溶剂的特性有关。(1)松香是从松树生物分泌的“固态液体”去除挥发油后的以树脂酸为主并含少量脂肪酸、萜类的固形成分^[7-8,18]。松香具有可溶于乙醇、丙酮等有机溶剂,遇热融化,不溶于水的特点;溶剂无水乙醇无毒,具有较好的渗透性和挥发性,因而涂布于牙本质表面的具有良好流动性的松香乙醇溶液可快速渗透入小管和牙本质表面,包裹脱矿的胶原纤维,并在牙本质表面形成一层保护层并可在牙本质小管内形成

粗大树脂突,从而封闭牙本质小管。其作用原理与由双酚甲基丙烯酸缩水甘油酯二甲基丙烯酸三甘醇酯,光引发剂和溶剂乙醇组成的低黏度树脂被用于龋病和封闭牙本质小管相似,其借助高渗透性及流动性渗入到病损微孔或牙本质小管内,进而堵塞和充填微孔或牙本质小管,在龋损内或牙本质表面形成屏障,发挥功效^[19]。(2)据《本草纲目》松脂性味苦、甘、温、无毒,主治痈疽恶疮,头疡白秃,排脓拔毒,生肌止痛,塞牙孔、杀虫的功效。风虫牙痛,刮松上脂,滚水泡化,一漱即止。古方提示,松胶软化后漱口具有治疗龋齿或牙疼、抗病毒、抗癌及皮肤病等功效。松香用于抗癌,牙周塞治,抗病毒等与其具有提高免疫,收湿敛疮、去腐生肌的作用有关^[8,9-10]。本法采用乙醇作为溶剂使松香呈流动的液态获得封闭牙本质小管的效果与古法开水泡化松香治疗风热牙疼可能都与液态松脂溶液渗入暴露牙本质封闭了龋洞或开放的牙本质小管有关。此外,据《本草纲目》,松脂/松香可能还具有抑制/杀灭致龋菌或镇静牙髓神经的作用,但其科学功效及机理需要进一步研究证实。

本实验表面形貌还提示松香浓度越高,其封闭牙本质的小管的效果越强。可能原因为松胶乙醇溶液的浓度越低,流动性和渗透性越强,更易顺着空隙渗入胶原纤维和牙本质小管,单位体积低浓度松胶溶液中溶剂挥发后被覆于牙本质表面和管腔内的固形成分较少,因而仅缩小了牙本质开口的管径或封闭后仍可见小管轮廓;反之,松胶乙醇溶液浓度越高,流动性则相对较弱,则能在牙本质表面形成致密膜状物和树脂突。FE-SEM 剖面形貌也证实了上述观点,在 10% 及 20% 低浓度松香组剖面仅见小管内壁覆盖致密膜状物,30% 及 40% 松胶组剖面管腔内则可见树脂突形成,且 40% 组树脂突相对粗大。结合本实验中的 TADTO, PADTO 及 LRT 结果,认为 50% 松胶组效果较佳,其既能完全封闭牙本质小管,又能形成粗大树脂突,且树脂突长度可达 40 μm 。

本实验证实松胶乙醇溶液局部涂布可在牙本质表面形成保护膜和小管内树脂突,封闭开放的牙本质小管,且 50% 松胶溶液即可达到较好即刻封堵效果。然而其能否经受刷牙等磨损及长期封堵效果还有待进一步研究。

(本文图 1,2 见插图 7-4)

参考文献

- [1] Chinese Stomatological Association Expert Committee On Dentin Hypersensitivity. Guideline for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity[J]. Chin J Dent Res, 2015, 18(1): 13-16.
- [2] WEST NX, LUSSI A, SEONG J. Dentin hypersensitivity: pain mechanisms and aetiology of exposed cervical dentin[J]. Clin Oral Investig, 2013, 17(Suppl 1): 9-19.
- [3] VAN DER WEIJDEN FN, VAN LOVEREN C, SLOT DE, et al. Preventive dentistry 3. Prevalence, aetiology and diagnosis of dentine (hyper) sensitivity[J]. Ned Tijdschr Tandheelkd, 2017, 124(2): 85-90.
- [4] ABSI EG, ADDY M, ADAMS D. Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine[J]. J Clin Periodontol, 1987, 14(5): 280-284.
- [5] YOSHIYAMA M, MASADA J, UCHIDA A, et al. Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive human radicular dentin[J]. J Dent Res, 1989, 68(11): 1498-1502.
- [6] ARANHA AC, EDUARDO CDE P. In vitro effects of Er, Cr: YSGG laser on dentine hypersensitivity. Dentine permeability and scanning electron microscopy analysis[J]. Lasers Med Sci, 2012, 27(4): 827-834.
- [7] 王晓萍, 崔小敏, 李富贤, 等. 不同产地松香药材中松香酸的含量测定[J]. 陕西中医, 2017, 38(2): 259-261.
- [8] 韩世荣, 李景霞. 松香临床应用与研究进展[J]. 中医药研究, 1988, 5: 28-29.
- [9] 阳宏林, 张绍伟. 含氟涂料预防儿童龋齿的研究状况[J]. 贵州医药, 2006, 30(5): 478-479.
- [10] YANG NY, LIU L, TAO WW, et al. Diterpenoids from Pinus massoniana resin and their cytotoxicity against A431 and A549 cells[J]. Phytochemistry, 2010, 71(13): 1528-1533.
- [11] 唐成芳, 曾辉, 杨黎燕, 等. 松香局部应用对牙本质小管的封闭效果及其耐磨损性[J]. 山西医科大学学报, 2018, 49(3): 258-263.
- [12] 李雪英, 林敏, 从丛, 等. Nd:YAG 激光作用下牙本质脱敏机制的研究[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, (2): 275-279.
- [13] 王浙君, 撒悦, 王贻宁, 等. 牙本质小管封闭治疗牙本质过敏症的机制和效果[J]. 国际口腔医学杂志, 2010, 37(1): 81-84.
- [14] 朱立芬, 林居红, 蒋琳, 等. 蜂胶治疗牙本质过敏症的扫描电镜观察及临床疗效研究[J]. 重庆医学, 2008, 37(5): 464-466.
- [15] 刘承德, 常桂欣, 赵文龙, 等. 中药地骨皮治疗基牙预备后牙本质过敏的临床观察[J]. 中国医疗前沿, 2010, 5(12): 63.
- [16] SENCER P, WANG Y, WALKER MP, et al. Molecular structure of acid-etched dentin smear layers—in situ study[J]. J Dent Res, 2001, 80(9): 1802-1807.
- [17] 陈珊, 张露露, 柳志文. 氟保护漆防龋的研究进展[J]. 现代医药卫生, 2016, 32(14): 2172-2174.
- [18] 陈亚, 邱明华, 古昆. 天然松树脂的研究进展[J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(3): 353-356.
- [19] 李菊, 王璐, 李鹏. 渗透树脂与流体树脂封闭牙本质小管的实验研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2016, 32(3): 336-340.

(收稿日期: 2018-04-08, 修回日期: 2018-06-23)