

半导体激光美白程序对牙髓组织中降钙素 相关肽和 5-羟色胺的影响及意义

李春年

(河北医科大学口腔医院口腔内科,河北省口腔医学重点实验室 河北 石家庄 050017)

[摘要] 目的:观察在半导体激光美白程序使用连续频率和间断频率照射大鼠磨牙,观察不同时段牙髓组织中的降钙素相关肽(calcitonin gene-related peptide,CGRP)和 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)表达的变化,为半导体美白时的牙髓保护提供技术参考。**方法:**3 月龄 SD 雄性大鼠随机分为正常组(A 组)、半导体激光美白连续频率组(B 组)、半导体激光美白间断频率组(C 组);B 组选择半导体激光美白中的 7 W、20 Hz、15 s 连续频率照射大鼠上颌第一、二磨牙,术后即刻(B0 组)、1 d(B1 组)、3 d(B3 组)、7 d(B7 组)处死大鼠;C 组选择半导体激光美白中的 7 W、20 Hz、30 s、1/2 间断频率照射大鼠上颌第一、二磨牙,术后即刻(C0 组)、1 d(C1 组)、3 d(C3 组)、7 d(C7 组)处死大鼠;取大鼠上颌第一、二磨牙制作组织切片,免疫组织化学法检测牙髓组织中 CGRP、5-HT 的变化。**结果:**牙髓组织中 CGRP、5-HT 的表达在 B、C 各组均高于 A 组;从术后即刻开始升高,3 d 达最高,然后开始降低;相同时段比较 B 组高于 C 组。**结论:**连续频率和间断频率半导体激光美白时,有效时间相同连续频率的刺激性显著高于间断频率,间断频率为首选;同时,激光照射即刻到 3 d 牙髓组织中疼痛递质表达不断升高,应加强牙髓的保护,减少牙髓的刺激因素。

[关键词] 半导体激光 美白程序 牙髓组织 降钙素相关肽 5-羟色胺

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671-7651(2018)05-0563-04

[doi] 10.13701/j.cnki.kqxyj.2018.05.024

Effect of Semiconductor Laser on CGRP and 5-HT of Pulp Tissue during Whitening Procedure. LI Chun-nian. Department of Oral medicine, Hospital of Stomatology, Hebei Medical University; the Key Laboratory of Stomatology of Hebei Province, Shijiazhuang 050017, China.

[Abstract] **Objective:** To observe the expression of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and 5-hydroxytryptamine(5-HT) in rat molar pulp at different periods during the semiconductor laser whitening using continuous and interval frequencies. **Methods:** 3-month old male SD rats were randomly divided into group A, group B, and group C. Group B was continuous irradiation in 7 W, 20 Hz, and 15 s frequency for maxillary first and second molars of rats, which were sacrificed immediately (group B0), 1 d (group B1), 3 d (group B3), and 7 d (group B7). The irradiation in Group C was changed to 7 W, 20 Hz, and 30 s frequency at 1/2 interval. The expression of 5-HT and CGRP in the pulp tissue of rats maxillary first and second molars was measured by immunohistochemical method. **Results:** The expressions of CGRP and 5-HT in group B and group C were higher than that of group A. The immediate group began to rise, the 3 day group reached the highest, and then began to decrease. At the same time, group B was higher than group C. **Conclusion:** The stimulation of semiconductor laser whitening with continuous frequency was significantly higher than that with interval frequency. Laser irradiation immediately increased the expression of pain transmitters 3 days in the pulp, which should strengthen the protection of the pulp.

[Key words] Semiconductor laser Whitening procedure Pulp Calcitonin gene-related peptide
5-hydroxytryptamine

牙齿美白是一种保守且对牙体组织影响较小的

美容治疗方式^[1,2],美白的原理是基于促进过氧化氢对牙体组织中的色素氧化还原反应,如何快速促进过氧化氢进入牙体组织并持续产生作用是美白治疗中的重点内容。半导体激光因其渗透深度大、选择性高、作用效果强且持久而越来越受到关注。半

基金项目 河北省医学科学研究重点课题计划(编号:ZL20140043)

作者简介 李春年(1979~),男,河北承德人,硕士,副主任医师,主要从事牙体牙髓病学、牙周病学的临床、教学、科研工作, E-mail:lchunnian@163.com。

导体激光美白时虽然优点很多,但是其对牙髓的刺激性也不容忽视,本研究通过使用半导体激光美白程序时,分别用连续频率和间断频率照射大鼠磨牙,观察术后不同时段牙髓组织中的疼痛递质——降钙素相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)和5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)表达的变化,为临床使用半导体激光美白时更好进行牙髓保护提供实验依据和临床参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 雄性大鼠[河北医科大学实验动物中心,许可证号:SCXK(冀)2013-1-003,编号:1401042]。

1.2 仪器试剂 半导体激光治疗仪(Fotona 公司,斯洛文尼亚);兔抗大鼠 CGRP 抗体、兔抗大鼠 5-HT 抗体(武汉博士德生物工程有限公司);浓缩型二氨基联苯胺(diaminobenzine, DAB)试剂盒、免疫组织化学检测试剂(北京中杉金桥生物技术有限公司);多功能照相显微镜(日本 Olympos 公司)。

1.3 实验过程

1.3.1 分组 选取 3 月龄 SD 雄性大鼠 100 只,随机分为 3 组,正常组(A 组, $n=10$)、半导体激光美白连续频率组(B 组, $n=40$)、半导体激光美白间断频率组(C 组, $n=40$)。

1.3.2 方法 实验大鼠采用 10% 水合氯醛麻醉下, B 组选择半导体激光美白中的 7 W、20 Hz、15 s 连续频率照射大鼠上颌第一、二磨牙, C 组选择半导体激光美白中的 7 W、20 Hz、30 s、1/2 间断频率照射大鼠上颌第一、二磨牙。B 组分时段处死大鼠,分为术后即刻(B0 组)、1 d(B1 组)、3 d(B3 组)、7 d(B7 组)各组,每组 10 只; C 组分时段处死大鼠,分为术后即刻(C0 组)、1 d(C1 组)、3 d(C3 组)、7 d(C7 组)各组,每组 10 只。

1.3.3 标本采集 A、B、C 各组大鼠按时间段采用 10% 水合氯醛麻醉,股动脉放血处死大鼠,在冰盒上取大鼠上颌骨,制作苏木精-伊红(hematoxylin and eosin stain, HE)染色组织学切片观察牙髓组织的变化及牙髓中 CGRP 和 5-HT 表达的变化。

1.3.4 牙髓组织的观察 上颌骨标本 10% 甲醛溶液固定 48 h, 10% 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)溶液脱钙 8 周,标本沿牙体近远中长轴制作 5 μm 厚度的牙周组织切片, HE 染色观察牙髓组织的变化。

1.3.5 牙髓组织中 CGRP 和 5-HT 表达情况的观察 CGRP 和 5-HT 采用免疫组织化学染色[链

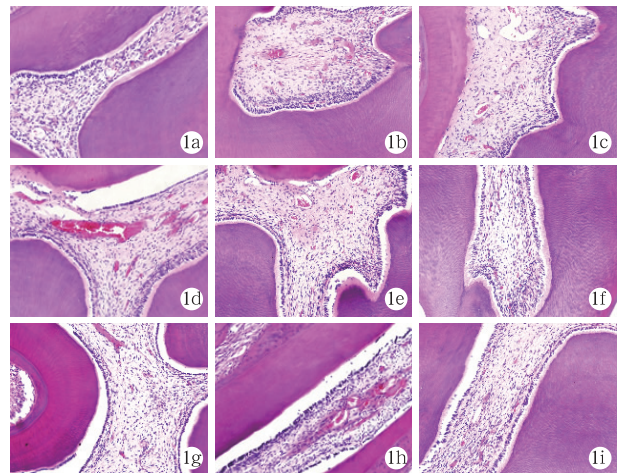
霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶联结法(streptavidin-peroxidase, SP)]检测,光镜观察。免疫组织化学阳性标准:胞质染色为黄色或棕黄色。根据显色深浅分为:阴性(不着色)、弱阳性(染色浅)、阳性(染色中等)、强阳性(染色深)。

1.3.6 免疫组织化学吸光度(A)值的测量 采用专业图像分析软件(麦克奥迪数码医学图像分析系统)对各组切片的免疫组织化学染色结果进行分析。在 400 倍光镜下观测牙髓组织表达情况,计算每张切片的 A 值,取 3 张切片的 A 值得平均值作为最终结果。

1.4 统计学分析 上述所有数据采用 SPSS 20.0 统计软件处理分析,对各组数据进行正态性检验和方差齐性检验。数据符合正态分布和方差齐性,采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为统计学意义。

2 结果

2.1 各组牙髓组织的表现 HE 染色可见, A 组牙本质小管清晰,牙髓血管无明显扩张,牙髓组织内无明显炎症细胞浸润。B 组即刻牙髓组织无明显变化;1 d 后牙本质细胞排列轻度紊乱,牙髓血管轻度扩张;3 d 牙髓组织内血管扩张最为显著;7 d 牙髓血管恢复正常。C 组牙髓组织及血管变化情况与 B 组相似,但牙髓血管扩张情况较 B 组轻微,见图 1。



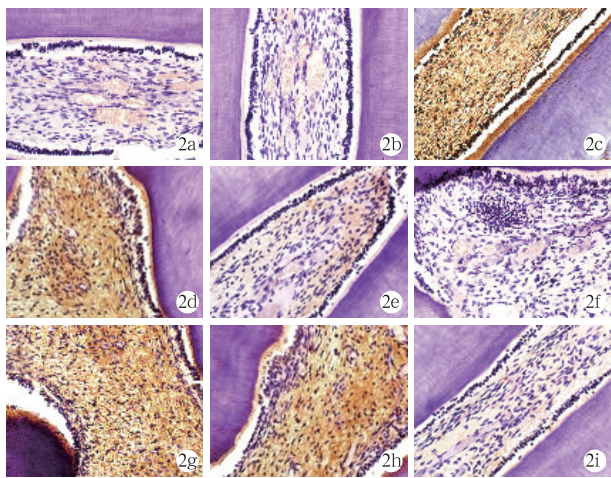
1a: A 组; 1b: B0 组; 1c: B1 组; 1d: B3 组; 1e: B7 组; 1f: C0 组; 1g: C1 组; 1h: C3 组; 1i: C7 组

图 1 苏木精-伊红染色检测各组牙髓组织的表现($\times 100$)

Fig. 1 The morphology of pulp in each group ($\times 100$).

2.2 各组牙髓组织中 CGRP 的表达情况 免疫组织化学染色结果显示, B 组激光照射后, CGRP 表达开始增加, 高于 A 组; 1 d 后 CGRP 表达不断增加, 高于即刻组; 3 d 后 CGRP 表达水平继续增加, 高于 1 d 组; 7 d 后 CGRP 表达水平降低, 但仍然高于 A

组,见图 2、图 3。



2a: A 组; 2b: B0 组; 2c: B1 组; 2d: B3 组; 2e: B7 组; 2f: C0 组; 2g: C1 组; 2h: C3 组; 2i: C7 组

图 2 免疫组织化学检测各组牙髓组织中 CGRP 的表达情况(×400)

Fig. 2 The expression of CGRP in the pulp of each group (×400).

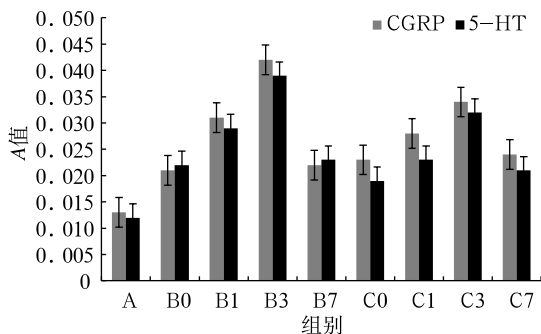
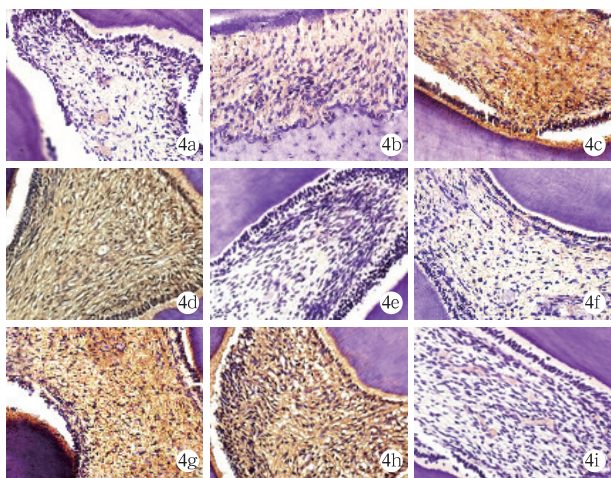


图 3 各组牙髓组织中 CGRP 和 5-HT 的表达情况

Fig. 3 The expression of CGRP and 5-HT in the pulp of each group.



各组两两比较,同组别 B 组明显高于 C 组, $P < 0.05$; 开始不断升高, 3 d 组最高, 然后降低, $P < 0.05$

图 4 免疫组织化学检测各组牙髓组织中 5-HT 的表达情况(×400)

Fig. 4 The expression of 5-HT in the pulp of each group(×400).

2.3 各组牙髓组织中 5-HT 的表达情况 免疫组织化学染色结果显示, B 组激光照射后, 5-HT 表达开始增加, 高于 A 组; 1 d 后 5-HT 表达不断增加, 高于即刻组; 3 d 后 5-HT 表达水平继续增加, 高于 1 d 组; 7 d 后 5-HT 表达水平减少, 但仍然高于 A 组, 见图 3、图 4。

3 讨论

随着人们对牙齿美容的要求不断提高, 各种牙齿美容的方法和材料层出不穷, 但是作为口腔专业的医生, 应该考虑患者的创伤最小、花费最少、效果最好的治疗方式, 虽然现在我们不能找到这样一种完美的治疗方式, 但是应该尽力减少患者在治疗过程承受的痛苦。近些年出现的半导体激光牙齿美白是一种新技术。激光牙齿美白是一种对牙体硬组织无明显破坏的治疗方式, 主要原理是激光激发美白剂——过氧化脲, 形成超氧化自由基、新生态的游离氧、自由基和新生态氧可以穿透牙釉质和牙本质, 将牙体内的色素分解为小分子, 并散发到牙齿表面, 进而改变牙齿的颜色^[3,4]。半导体激光美白技术充分利用了激光的优势, 半导体激光在激光中对水的吸收强烈, 能够更好地激发富含水的美白剂, 而且激光的穿透力更强, 可以更好地有选择地去除牙体深部的色素, 作用持久^[5~7]。但是半导体激光有连续程序和间断程序可以选择, 连续程序相对间断程序可以提供更高的功率和能量, 但是对牙髓是否有刺激及对治疗后牙髓的保护, 是本研究的主要目的, 通过本实验可以得到结论: 间断程序对牙髓的刺激性要小于连续程序。

CGRP 和 5-HT 是人体内作用广泛的疼痛递质, 在人体的各种疼痛的发生中起着重要的作用。CGRP 是一种由 37 个氨基酸组成的多肽血管舒张因子, 是最强的血管扩张物质, 也是感觉神经的主要递质, 分布于中枢和周围感觉神经的 C 纤维神经末梢和感觉器官中。正常情况下牙髓中的 C 神经纤维末梢中的 CGRP, 通过调节牙髓中局部血管的张力维持牙髓血液的正常循环, 可以加强牙髓防御反应^[8]。局部刺激引起疼痛, 刺激牙髓的末梢感觉神经, 引起牙髓末梢 C 神经纤维释放 CGRP^[9]。5-HT 在疼痛的形成过程中具有独特的机制, 无论在中枢神经系统还是在外周神经系统都参与疼痛的调节^[10]。在中枢神经系统是镇痛作用, 在外周神经系统是致痛因子^[11]; 疼痛发生时, 血小板的活化增加, 释放过多的 5-HT 入血, 引起血浆中的 5-HT 增加, 血中的 5-HT 升高可以引起血管壁的无菌

性炎症性反应和通透性增加^[12,13],在牙髓组织中就会引起牙髓充血,进而增加牙髓疼痛的发生。在本实验中也可以观察到,牙髓受到半导体激光的美白程序治疗后,疼痛递质 CGRP、5-HT 会升高,3 d 后达到最高水平,以后逐渐降低,7 d 后接近正常水平,间断程序的刺激性明显小于连续程序。

在口腔临床实践和口腔实验医学研究可以发现,半导体激光美白具非侵入性、不良反应小的优点;但是美白时应该选择好程序,才能减少牙髓的刺激,做到远期疗效确切,同时应更多的应用于口腔临床,可以更好地为患者提供牙齿美学服务。

参考文献

- [1] Morgan S, Jum'ah AA, Brunton P. Assessment of efficacy and post-bleaching sensitivity of home bleaching using 10% carbamide peroxide in extended and non-extended bleaching trays [J]. Br Dent J, 2015, 218(10): 579-582
- [2] Zhao K, Zong L, Zhang Q, et al. Clinical comparison between two bleaching techniques: a 180-day follow-up study [J]. Quintessence Int, 2013, 44(8): 601-607
- [3] De Moor RJ, Verheyen J, Verheyen P, et al. Laser teeth bleaching: evaluation of eventual side effects on enamel and the pulp and the efficiency *in vitro* and *in vivo* [J]. ScientificWorldJournal, 2015, 2015: 835405
- [4] Wang W, Zhu Y, Li J, et al. Efficacy of cold light bleaching using different bleaching times and their effects on human enamel [J]. Dent Mater J, 2013, 32(5): 761-766
- [5] Dionysopoulos D, Strakas D, Koliniotou-Koumpia E, et al. Effect of Er, Cr: YSGG laser irradiation on bovine enamel

surface during in-office tooth bleaching *ex vivo* [J]. Odontology, 2017, 105(3): 320-328

- [6] Mirzaie M, Yassini E, Ganji S, et al. A comparative study of enamel surface roughness after bleaching with diode laser and YAG laser [J]. J Lasers Med Sci, 2016, 7(3): 197-200
- [7] 徐彦彬,李春年. 半导体激光美白术的临床疗效比较[J]. 河北医药杂志, 2016, 38(19): 2964-2966
- [8] 刘伟,陈杰,胡开进,等. 负载 GPRS 及 SP 的明胶缓释微球用于修复家兔骨质疏松模型骨缺损的研究[J]. 口腔医学研究, 2016, 32(3): 228-232
- [9] 李源静,杨岚,李倩倩,等. 降钙素基因相关肽对成骨细胞 OPN 表达的影响[J]. 口腔医学研究, 2016, 32(11): 1137-1140
- [10] Su YS, Mei HR, Wang CH, et al. Peripheral 5-HT mediates mirror-image pain by a cross-talk with acid-sensing ion channel 3 [J]. Neuropharmacology, 2017, 130: 92-104
- [11] Ohnami S, Kato A, Ogawa K, et al. Effects of milnacipran, a 5-HT and noradrenaline reuptake inhibitor, on C-fibre-evoked field potentials in spinal long-term potentiation and neuropathic pain [J]. Br J Pharmacol, 2012, 167(3): 537-547
- [12] Santos CM, Francischi JN, Lima-Paiva P, et al. Effect of transcutaneous electrical stimulation on nociception and edema induced by peripheral serotonin [J]. Int J Neurosci, 2013, 123(7): 507-515
- [13] Spradley JM, Davoodi A, Gee LB, et al. Differences in peripheral endocannabinoid modulation of scratching behavior in facial vs. spinally-innervated skin [J]. Neuropharmacology, 2012, 63(4): 743-749

[收稿日期:2017-11-05]

(本文编辑 关隽)

湖北省口腔基础医学重点实验室—省部共建国家重点实验室 培育基地暨口腔生物医学教育部重点实验室(武汉大学) 第二届学术委员会第一次会议顺利举行

2018年3月28日,湖北省口腔基础医学重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地暨口腔生物医学教育部重点实验室(武汉大学)第二届学术委员会第一次会议在武汉大学口腔医学院1号楼隆重举行。湖北省科技厅乔楚华调研员,武汉大学科学技术发展研究院侯祚勇副院长和项瑞望主任,医院领导、研究生导师和人才梯队成员参加了会议。

本次会议成立了新一届的学术委员会,张志愿院士担任主任委员;舒红兵院士和边专教授担任副主任委员;学术委员包括俞光岩教授、王松灵教授、赵钦民教授、陈谦明教授、郭传斌教授、程斌教授、庞代文教授和李红良教授。

与会委员和领导听取和讨论了实验室在2017年的科学研究、队伍建设、学科发展与人才培养和实验室开放交流与运行管理的工作,一致肯定了实验室取得的成绩,为实验室的发展规划提出许多了宝贵的建议,并为实验室的评估工作提出了建设性的意见。会议期间,委员会进行了实验室开放基金的评审。