

网络出版时间:2023-07-13 17:02:40 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms2/detail/34.1065.R.20230713.1442.056.html

2.5% NaClO 溶液冲洗对大鼠炎症牙髓愈合影响

杨 琪¹, 唐 颖¹, 李午丽², 陈乔尔³, 孙 麟³, 李 颀²

摘要 目的 评估使用 2.5% NaClO 溶液作为冲洗剂对大鼠炎症牙髓保存治疗后愈合的影响。方法 选取 24 只 8 周龄雄性 SD 大鼠上颌磨牙 48 颗,采用髓腔暴露法穿髓暴露 24 h 制备牙髓炎症模型,然后切除部分冠髓,根据对牙髓切断后不同的冲洗处理方法分组,2.5% NaClO 冲洗(NaClO)组和生理盐水冲洗(NS)组,均以 iRoot BP Plus 盖髓,窝洞用玻璃离子封闭。两组分别于术后第 1、7、28 天各处死 4 只动物,组织病理学观察评估剩余牙髓组织的炎症反应、组织破坏及硬组织的形成情况。结果 2.5% NaClO 组和 NS 组的牙髓炎症反应、组织破坏程度和修复性牙本质形成在术后第 1、7、28 天表现近似,两组间差异无统计学意义。结论 在大鼠炎症牙髓模型上牙髓部分切断后运用 2.5% NaClO 作为 iRoot BP Plus 盖髓前冲洗止血剂与生理盐水表现出相似的作用,并不影响牙髓炎症的愈合。

关键词 次氯酸钠;活髓保存;牙髓切断;盖髓

中图分类号 R 781.31

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)08-1413-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.028

活髓保存治疗(vital pulp therapy, VPT),即旨在保存和维持因广泛的龋坏、牙齿外伤、修复治疗或医源性原因而受损的牙髓组织^[1]。次氯酸钠(NaClO)是 VPT 过程中常用的药物,已经证实其具备良好的抗菌和止血性能以及优异的组织溶解能力^[2]。最近的一项对 96 例有轻微症状的不可复性牙髓炎患者进行的 VPT 试验中,发现使用 2.5% NaClO 冲洗显著减少了术后疼痛和治疗失败^[3]。另有临床研究^[4]也表明,与生理盐水相比,使用 2.5% NaClO 可以显著抵消牙髓炎症中高 MMP9/TP 值带来的炎症变化。这些研究足以提示,当 NaClO 冲洗应用于存在不可复性炎症和坏死感染的牙髓炎创面上时,可能会对其剩余牙髓组织的愈合产生有利影响,但在

此方面并没有组织学证据。

该研究采用建立大鼠不可复性炎症牙髓模型并模拟临床牙髓部分切断术的方式,使用 2.5% NaClO 作为 iRoot BP Plus 盖髓前的冲洗剂,评估 NaClO 对炎症牙髓愈合和修复过程的影响,为临床不可复性牙髓炎保存活髓的治疗提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 48 只 8 周龄雄性 SD 大鼠(SPF 级)购自安徽医科大学实验中心并饲养,体质量 200 g ± 10 g,身体发育良好,恒牙列完整,口腔卫生良好,无龋齿及其他牙体牙周疾病。

1.2 主要试剂与仪器 移动式牙科治疗机(型号:BD-402)购自广州超盛医疗器械有限公司;高速涡轮手机(型号:Pana-Max2 M4)购自日本 NSK 公司;DG16 探针(型号 0710-6D1)购自意大利 ASA 公司;牙科光敏刀(型号:008-0118)购自上海伟荣医疗器械有限公司;根管冲洗针头(型号:ORN-30G-22-3-B-M-S)购自河南佩朗医疗器械有限公司;球钻(型号:BR-49;BR-45)购自日本 MANI 公司;NaClO 消毒液(货号:190901)购自武汉朗力生物有限公司;生理盐水(货号:L139053009)购自四川科伦药业股份有限公司;iRoot BP Plus(型号:IRBPP 4610 J3)购自加拿大 Innovative Bioceramix Inc 公司;玻璃离子水门汀(型号:Ketac Molar Easymix)购自美国 3M 公司。

1.3 部分不可复性牙髓炎炎症模型^[5]建立 选取 24 只大鼠,其中 20 只大鼠称重后用 2% 戊巴比妥钠按 50 mg/kg 计量予以腹腔注射麻醉,取仰卧位固定于手术台上,0.5% 碘伏消毒口腔及周围组织,用高速涡轮手机携 BR-49 号球钻在水冷却的条件下于双侧上颌第一磨牙的咬合面中央窝处间断钻磨,直至窝洞底部透粉红,随后换用 DG16 探针稍加压力穿髓,穿髓孔的直径约为 0.35 mm,可见轻微出血点即为穿髓成功的标志。保持髓腔开放,根据牙髓暴露时间不同随机分为 5 组,即开放 6、12、24、48、72 h 组,每组 4 只。剩余 4 只不做处理作为对照组。术后采集标本,组织切片 HE 染色显示;开放 24 h 组牙髓组织均表现为轻度至中度的炎性病变以及小部分

2023-06-20 接收

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(编号:KJ2020A0164)

作者单位:¹ 安徽医科大学口腔医学院,合肥 230032

安徽医科大学附属口腔医院² 牙体牙髓科、³ 病理科,合肥 230032

作者简介:杨 琪,女,硕士研究生;

李 颀,女,教授,硕士生导师,主任医师,责任作者, E-mail:3197053337@qq.com

冠髓的坏死,根髓可见部分血管扩张充血(图1)。因此选择牙髓开放24 h模型作为此次实验所需的部分不可复性牙髓炎炎症模型。

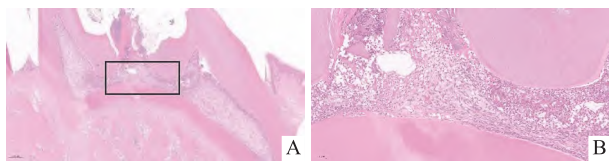


图1 预实验 HE 染色显示髓腔暴露24 h 牙髓组织出现部分不可复性牙髓炎组织学表现
A:完整牙髓 ×50;B:开髓孔周围 ×200

1.4 实验动物模型建立 另选取24只大鼠,随机分为2组,即2.5% NaClO 冲洗(NaClO)组和生理盐水冲洗(NS)组,每组12只,以双侧上颌第一磨牙为实验牙。采用上述步骤髓腔暴露24 h后,大鼠再次被麻醉,0.5% 碘伏消毒口内及口周组织,用高速涡轮手机携 BR-45 号球钻在水喷雾冷却下高速切除表面感染坏死的牙髓并制备窝洞,大小为深度(1.0 ± 0.1) mm,近远中宽度(1.2 ± 0.1) mm,颊舌宽度(1.0 ± 0.1) mm,每次备洞使用一个新钻头。随后 NaClO 组和 NS 组分别用2.5% NaClO 溶液和生理盐水冲洗30 s,再用分别浸泡其中的无菌棉球固定3 min(所有标本均可达到止血),然后使用 iRoot BP Plus 盖髓,玻璃离子水门汀严密充填。适当调低对颌磨牙,整个实验过程严格按照无菌操作标准进行,均由同一名经验丰富的主治医师独立完成以上操作。

1.5 实验标本的制备 分别于术后第1、7、28天每组随机取样4只,采用心脏灌注固定处死大鼠,迅速分离出含有双侧上颌第一磨牙的上颌骨并立即置于

4% 多聚甲醛中体外固定48 h。将固定好的标本放入10%的 EDTA(pH = 7.4) 溶液中,25 ℃ 恒温下脱钙4~5周,流水冲洗12 h,经脱水、透明、浸蜡处理,常规石蜡包埋,沿平行于牙体长轴方向做近远中向连续切片,厚度为4 μm,用于 HE 染色。

1.6 组织病理结果及分析 光学显微镜下观察大鼠牙髓组织切片,采用组织学评分标准^[6](表1),评估包括炎症细胞反应、组织破坏程度、修复性牙本质形成三种组织学特征并计分。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。用 Shapiro-Wilk 检验分析不服从正态分布数据。等级资料数据以频数表示。采用 Mann - Whitney U 检验对两实验组的牙髓组织炎症反应、组织破坏及牙本质桥形成程度评分进行统计分析,按 $\alpha = 0.05$ 水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各实验组组织病理学表现

2.1.1 术后第1天 NaClO 组所有样本牙(8例)髓腔开孔处部分牙髓组织缺失,可见少量或轻度炎性细胞浸润,周围成牙本质细胞排列紊乱,血管扩张充血,根髓组织形态基本正常(图2A);3例出现创面周围成牙本质细胞空泡性变,8例样本均未见修复性牙本质形成。NS 组8例样本均表现为髓腔开孔处周围伴有少量炎症细胞或轻度的炎性浸润(图2B),血管增生扩张,成牙本质细胞层排列紊乱,根髓组织形态正常;其中5例样本可见创面下部分牙髓组织变性,所有样本均无修复性牙本质形成。

2.1.2 术后第7天 NaClO 组只有1例表现为重度炎症,根髓出现牙髓坏死。其余样本表现为少量散在炎症细胞或轻中度的炎性细胞浸润,较深的牙

表1 牙髓组织学评分标准

组织学特征	评分(分)	标准
炎症细胞反应	0	靠近牙髓创面或牙本质桥的组织中没有或只有少量散在的炎症细胞
	1	伴有多形核白细胞(急性)或单核淋巴细胞(慢性)的轻度炎性细胞浸润
	2	伴有中度的炎性病变,表现为脓肿或炎症浸润达根髓三分之一
	3	伴有严重的炎性病变或炎症浸润达整个根髓
组织破坏	0	牙髓创面以下组织形态基本正常
	1	牙髓创面以下组织正常形态破坏变性
	2	牙髓坏死达根髓三分之一
	3	大部分牙髓或根髓完全坏死
修复性牙本质形成	0	无修复性牙本质形成
	1	少量或薄层硬组织沉积于盖髓材料下方
	2	中量或较厚层的硬组织沉积于盖髓材料下方
	3	大量或厚而均匀的硬组织沉积于盖髓材料下方

髓组织形态基本正常,伴有扩张充血(图3)。其中5例样本有不同程度的硬组织沉积。NS组有3例表现为中度炎性细胞浸润(1例髓腔内脓肿形成),炎性浸润达根管中上端1/3,血管扩张明显;有2例出现了部分根髓的坏死,2例硬组织沉积形成。见表2。

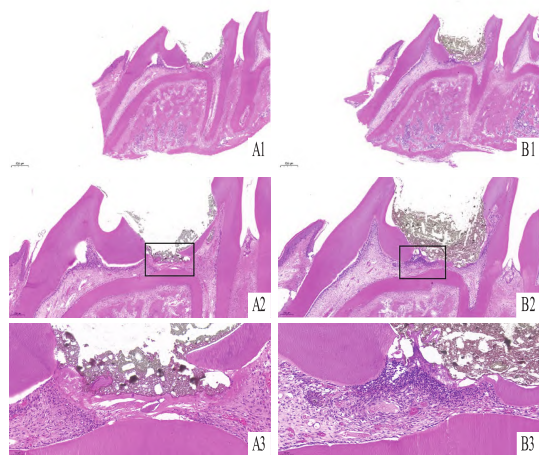


图2 术后第1天 HE 染色组织学表现

A:NaClO 组;B:NS 组;1: ×20;2: ×50;3: ×200

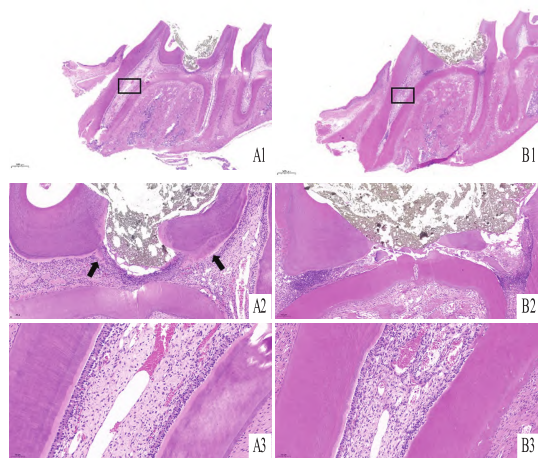


图3 术后第7天 HE 染色组织学表现

A:NaClO 组;B:NS 组;1:完整牙髓 ×20;2:冠髓 ×50;3:根髓 ×200

2.1.3 术后第28天 NaClO组中6例样本表现为开髓口下方存在局限性的牙髓坏死区和少量或轻度炎性浸润,剩余2例伴有根髓的炎症和坏死。一半样本(4例)根髓有不同程度的牙髓组织变性。所有样本均有不同程度的硬化桥形成。其中4例形成了厚而均匀的修复性牙本质延续至根端(图4A)。NS组有2例出现了中重度的炎症反应和根髓的坏死,其余6例有少量或轻度炎性浸润,伴有血管增生扩

张。3例样本表现为根髓组织纤维样变,所有样本均有不同程度的修复性牙本质形成,一直延伸至根髓(图4B)。

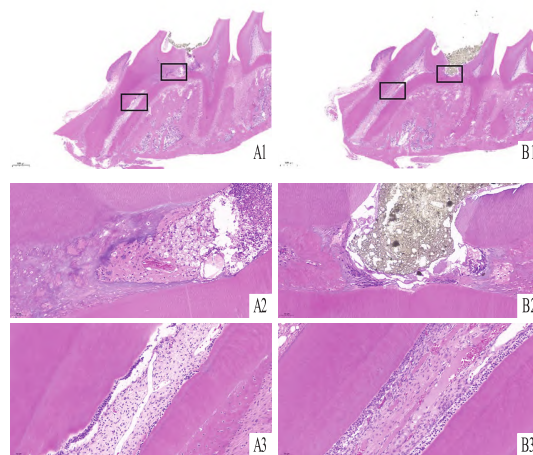


图4 术后第28天 HE 染色组织学表现

A:NaClO 组;B:NS 组;1:完整牙髓 ×20;2:冠髓 ×50;3:根髓 ×200

2.2 各实验组炎症反应、组织破坏程度及修复性牙本质形成情况分析与统计结果 根据上述的炎症反应、组织破坏程度及修复性牙本质形成情况的分级标准,对不同时间点各实验组进行评分、整理、分析如下(表2)。统计结果显示,NaClO组和NS组的牙髓炎症反应、组织破坏程度和修复性牙本质形成分别在术后第1、7、28天差异无统计学意义。表明两种冲洗剂表现出相似的作用。而术后时间对炎症和组织的影响差异也无统计学意义。但与NS组不同的是,NaClO组在第7天更早更多地形成了修复性牙本质,与第1天相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

临床上,牙髓疾病的诊断主要是依据患者的主观症状、客观的临床检查和放射学结果,而不是组织学结果。然而,这些临床诊断结果并不能准确反映牙髓组织的真实状态。即使有临床研究显示不可复性牙髓炎的牙齿采取VPT有较好的疗效,也不代表组织学成功,因为其也可能在没有临床症状和放射学证据的情况下发生治疗失败的结果,短期的成功率并不能说明治疗成功。因此,不可复性牙髓炎的活髓保存治疗仍然需要更多的组织学研究。本研究采用了动物炎症牙髓模型,模拟临床治疗程序,首次通过组织学观察,直观了解炎症牙髓经牙髓切断保

表2 牙髓炎症反应、组织破坏程度及修复性牙本质形成情况统计表

术后时间 (d)	组别	n	炎症反应						组织破坏						修复性牙本质形成					
			评分(分)				U 值	P 值	评分(分)				U 值	P 值	评分(分)				U 值	P 值
			1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4		
1	NaClO	8	3	5	0	0	29.50	0.798	5	3	0	0	27.50	0.442	8	0	0	0	31.00	1.000
	NS	8	3	4	1	0			3	5	0	0			8	0	0	0		
7	NaClO	8	2	4	1	1	24.00	0.645	5	2	1	0	23.50	0.382	3	3	2	0	30.00	0.234
	NS	8	1	4	3	0			3	3	2	0			6	1	1	0		
28	NaClO	8	3	3	2	0	32.00	0.959	2	4	2	0	20.50	0.878	0	2	2	4	26.00	0.574
	NS	8	3	3	1	1			3	3	1	1			0	2	4	2		

存活髓治疗后其生物学反应和愈合潜力,为临床治疗判断预后提供参考。

本研究表明使用 NaClO 和生理盐水两种冲洗剂的牙髓在术后第 1、7、28 天表现出近似的炎症反应和牙髓变性表现。Elias et al^[7]曾通过组织学研究评估人类牙髓使用 NaClO 作为冲洗止血剂对直接盖髓反应的影响,结果表明 NaClO 并不会影响牙髓修复;Özgür et al^[8]将 2.5% NaClO 和生理盐水随机分配,用于龋源性露髓的未成熟恒磨牙部分牙髓切断术中的伤口冲洗,结果显示,2.5% NaClO 消毒效果与生理盐水无显著性差异。在本研究中,NaClO 首次用于处理炎症牙髓创面,其表现与生理盐水组基本相似,提示使用 NaClO 冲洗并未干扰炎症牙髓的自我修复反应,这与前述在健康牙髓上的研究结果一致。本研究为临床操作中创面冲洗剂的选择提供更多参考。

本研究同时观察了炎症牙髓组织的愈合情况,结果显示,经活髓切断治疗 28 d 后,炎症牙髓并没有完全恢复健康,根髓仍然存在炎症表现,部分出现牙髓变性。此结果与 Ricucci et al^[9]报道的“愈合牙髓(healed pulp)”的组织学特征相吻合。其在对根髓牙本质复合体应对深龋或修复的组织学研究中将牙髓变化分为四类,分别为可逆的牙髓组织学变化、不可逆的牙髓组织学变化、正常完整的牙髓和愈合的牙髓。其中“愈合的牙髓”表现为牙髓没有明显的炎性细胞积聚,但与正常组织学检查结果存在偏差,即有散在的炎性细胞、血管扩张充血、牙髓纤维化和正常成牙本质细胞层的减少。同时本实验结果也与先前报道的人类恒牙活髓切断术后的根髓变化相似,贾瑞芝等^[10]曾发现经 VPT 的根髓组织可发生成牙本质细胞空泡性变、细胞减少、纤维增多等退行性表现。本研究结果提示,对于炎症牙髓采取活髓保存治疗时,虽然牙髓的活力可以通过部分切除坏死的牙髓来维持,但剩余牙髓组织可能仍存在程度不等的炎症表现和组织变性。

本研究表明 NaClO 组在更早时间更多地形成了修复性牙本质。推测其原因可能是因为 NaClO 能够溶解矿化的牙本质基质、释放生长因子,尤其是 TGF- β ^[11]。研究^[12]已经证明,TGF- β 1 和 TGF- β 3 亚型能够刺激成牙本质细胞分泌细胞外基质,从而刺激三期牙本质沉积。而在此之前,Silva et al^[13]也曾通过组织学研究比较生理盐水、NaClO 和氯己定作为止血剂对氢氧化钙覆盖的人牙髓组织学反应的影响,其研究发现 NaClO 在 90 d 时比三种药物在 7 d 时表现出更多的三期牙本质。在术后第 28 天,本研究观察到两组所有样本均有不同程度的修复性牙本质形成,同时还观察到新形成的三期牙本质一直延续至根端,这与 Minic et al^[14]发现在 VPT 后愈合的牙齿的根管壁上存在的管状第三级牙本质结果一致,认为形成的这种修复组织类似于矿化的纤维疤痕组织,并不是真正的管状牙本质。

虽然 NaClO 溶液广泛应用于活髓保存治疗过程之中,但是其对炎症牙髓的保存治疗是否有效尚缺乏组织学实验证据。本研究首次采用动物不可复性炎症牙髓模型,通过组织学观察研究 NaClO 作为盖髓前冲洗剂是否对剩余牙髓组织的愈合产生影响。结果表明,2.5% NaClO 和生理盐水作为 iRoot BP Plus 盖髓前冲洗剂表现出相似的作用,并未对炎症牙髓的愈合过程产生影响,该结果为临床操作中创面冲洗剂的选择提供了参考;研究结果也显示不可复性牙髓炎经保存活髓治疗后,根髓仍存在炎症表现和一定程度的组织学变性,表明现有的活髓切断术对于不可复性牙髓炎的组织并不能使其完全恢复健康。

参考文献

- [1] Edwards D, Stone S, Bailey O, et al. Preserving pulp vitality: part two-vital pulp therapies[J]. Br Dent J, 2021, 230(3): 148 - 55.
- [2] Munir A, Zehnder M, Rechenberg D K. Wound lavage in studies on vital pulp therapy of permanent teeth with carious exposures: a

- qualitative systematic review[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(4):984.
- [3] Ballal N V, Duncan H F, Rai N, et al. Sodium hypochlorite reduces postoperative discomfort and painful early failure after carious exposure and direct pulp capping-initial findings of a randomized controlled Trial[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(8):2408.
- [4] Ballal N V, Duncan H F, Wiedemeier D B, et al. MMP-9 levels and NaClO lavage in randomized trial on direct pulp capping[J]. *J Dent Res*, 2022, 101(4):414–9.
- [5] He Y, Gan Y, Lu J, et al. Pulpal tissue inflammatory reactions after experimental pulpal exposure in mice[J]. *J Endod*, 2017, 43(1):90–5.
- [6] Shinkai K, Taira Y, Kawashima S, et al. Histological evaluation of direct pulp capping with all-in-one adhesives in rat teeth[J]. *Dent Mater J*, 2017, 36(3):348–56.
- [7] Elias R V, Demarco F F, Tarquinio S B, et al. Pulp responses to the application of a self-etching adhesive in human pulps after controlling bleeding with sodium hypochlorite[J]. *Quintessence Int*, 2007, 38(2):e67–77.
- [8] Özgür B, Uysal S, Güngör H C. Partial pulpotomy in immature permanent molars after carious exposures using different hemorrhage control and capping materials[J]. *Pediatr Dent*, 2017, 39(5):364–70.
- [9] Ricucci D, Lughin S, Niu L N, et al. Changes in the radicular pulp-dentine complex in healthy intact teeth and in response to deep caries or restorations: a histological and histobacteriological study[J]. *J Dent*, 2018, 73:76–90.
- [10] 贾瑞芝, 郑树国, 高岩, 等. 年轻恒前牙活髓切断术后根髓的组织学改变[J]. *中华口腔医学杂志*, 2007, 42(7):412–6.
- [11] Zeng Q, Nguyen S, Zhang H, et al. Release of growth factors into root canal by irrigations in regenerative endodontics[J]. *J Endod*, 2016, 42(12):1760–6.
- [12] Neves V C M, Sharpe P T. Regulation of reactionary dentine formation[J]. *J Dent Res*, 2018, 97(4):416–22.
- [13] Silva A F, Tarquinio S B, Demarco F F, et al. The influence of haemostatic agents on healing of healthy human dental pulp tissue capped with calcium hydroxide[J]. *Int Endod J*, 2006, 39(4):309–16.
- [14] Minic S, Florimond M, Sadoine J, et al. Evaluation of pulp repair after biodentine™ full pulpotomy in a rat molar model of pulpitis[J]. *Biomedicine*, 2021, 9(7):784.

The effect of 2.5% NaClO solution irrigation on dental pulp healing in rats with inflammatory pulp

Yang Qi¹, Tang Ying¹, Li Wuli², Chen Qiaor³, Sun Lin³, Li Song²

(¹*School of Stomatology, Anhui Medical University, Hefei 230032*; ²*Dept of Dentistry*, ³*Dept of Pathology, The Affiliated Stomatological Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032*)

Abstract Objective To evaluate the effect of 2.5% NaClO solution as irrigating agent on the healing of dental pulp after preservation treatment in rats with inflammatory pulp. **Methods** 48 maxillary molars of 24 8-week-old male SD rats were selected and pulpitis models were established by pulp cavity exposure for 24 hours. Then part of the crown pulp was removed and divided into two groups according to different irrigation methods: 2.5% NaClO flushing group (NaClO) and saline flushing group (NS). The pulp was covered with iRoot BP Plus and the cavity was sealed with glass ionomer. Four animals in the two groups were killed on the 1st, 7th and 28th day after operation, respectively. And the inflammatory reaction, tissue destruction and hard tissue formation of residual dental pulp tissue were observed and evaluated by histopathology. **Results** The pulp inflammatory reaction, tissue destruction and restorative dentin formation in 2.5% NaClO irrigation group and saline irrigation group were similar on the 1st, 7th and 28th day after operation, there was no significant difference between the two groups. **Conclusion** 2.5% NaClO used as a hemostatic before iRoot BP Plus pulp capping after partial pulpotomy has similar effect with normal saline on the inflammatory pulp model of rats, and does not affect the healing of pulp inflammation.

Key words sodium hypochlorite; vital pulp preservation; pulpectomy; pulp capping