

## 不同力值对小型猪牙根吸收的影响

谢永建, 麦理想, 王大为, 张 弘, 张 晟

(中山大学光华口腔医学院·附属口腔医院正畸科//中山大学口腔医学研究所, 广东 广州 510055)

**摘 要:**【目的】建立小型猪正畸牙根吸收动物模型, 观察不同力值作用于小型猪下颌乳侧切牙后的牙根吸收情况, 研究不同力值对小型猪牙根吸收程度的影响, 为正畸临床实践中预防牙根吸收提供参考。【方法】选用北京农业大学提供的 6 只中国实验用小型猪, 5~7 月龄, 体质量 12~16 kg(平均体质量 13.2 kg), 共 12 颗下颌乳侧切牙, 随机分为四组, 分别施加力值 0、100 g、200 g、300 g, 每 2 周加力 1 次, 术后 45 天切取标本, 连续切片后 HE 染色, 行普通光学显微镜形态观察和图像处理分析, 并对牙根吸收指数进行统计学分析, 统计方法采用裂区设计的方差分析。【结果】0、100 g、200 g 组均未见明显的牙根吸收, 也无可辨认的牙根长度变化; 300 g 组可见明显的牙根尖周吸收, 牙根变短。【结论】本研究小型猪动物模型牙根吸收程度随加载力值的增大而加重。

**关键词:**小型猪; 牙根吸收; 动物模型; 正畸牙移动

中图分类号: R783

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2008)01-0046-05

### Experimental Study of Different Forces on Root Resorption in Miniature Pigs

XIE Yong-jian, MAI Li-xiang, WANG Da-wei, ZHANG Hong, ZHANG Sheng

( Department of Orthodontics, Guanghua College of Stomatology//Hospital of Stomatology, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510055, China )

**Abstract:** 【Objective】 Establishing the model of root resorption in miniature pig under orthodontic treatment to study the effect of different forces on root resorption in mandibular deciduous lateral incisors of miniature pigs in order to offer reference for preventing root resorption in clinic. 【Methods】 Six experimental Chinese miniature pigs provided by Beijing Agricultural College were selected. They were 5~7 months old and their weight were 12~16 kg. Twelve mandibular deciduous lateral incisors of these six pigs were divided into four groups at random, and forces of 0, 100 g, 200 g, 300 g were put on in each group, respectively. The forces were exerted every two weeks. The animals were killed after forty-five days, and the specimens were made which were observed by light microscope and analyzed by computer. The different indexes of root resorption were calculated by statistic methods of t-test and analysis of variance. 【Results】 Obvious root resorption and identifiable change of root length can't be seen in the group of 0, 100 g, 200 g. Obvious apical root resorption can be seen in group of 300 g and root became shorter. 【Conclusion】 As the force become heavier, the degree of root resorption becomes more severe in miniature pig model.

**Key words:** miniature pig; root resorption; animal model; orthodontic tooth movement

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008, 29(1):46-50]

牙根吸收在正畸治疗中很常见, 造成牙根吸收的相关因素很多, 包括年龄、性别、营养状况、矫治器类型、矫治力大小、矫治方法、疗程等, 目前国内外对根吸收的基础研究主要集中在乳牙根吸

收、牙再植后的根吸收等方面<sup>[1]</sup>, 关于正畸引起牙根吸收的研究主要是发病率、不同矫治力系统、不同牙位根吸收的比较等临床研究<sup>[2-4]</sup>, 其中矫治力大小和牙根吸收相关性的基础研究国内外尚少报

收稿日期: 2007-01-05

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金(B2005056)

作者简介: 谢永建(1971-), 女, 四川德阳人, 主治医师; 王大为, 通讯作者, E-mail: xiang97519@21cn.com

道。本研究对一组正常小型猪下颌乳侧切牙施加不同力值后的牙根吸收情况进行分析研究, 探讨小型猪动物模型牙根吸收的程度与力值的相关性, 以期为今后临床正畸治疗使用合适矫治力, 减少牙根吸收提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

由北京农业大学中国实验用小型猪繁育场提供的农大 I 系雌性成年小型猪 6 头 (共 12 颗下颌乳侧切牙), 5~7 月龄, 黑色毛, 体质量 12~16 kg (平均体质量 13.2 kg), 耳号分别为: 2、4、5、6、10、11。健康, 无口颌系统疾病。由中山大学实验动物中心以标准猪饲料喂养, 饲养观察 1 个月 后实验。

### 1.2 方 法

1.2.1 麻 醉 采用长春军事医学科学院军事兽医研究所提供的家猪麻醉药噻胺酮, 每只小型猪按 0.06~0.1 mL/kg 经耳后肌肉垂直注射, 5~10 min 后产生全身麻醉, 药效持续 2~3 h。

1.2.2 矫治器的戴入及加力 6 头小型猪的 12 颗下颌乳侧切牙随机分为 A、B、C 及 D 共 4 组, 见表 1, 在下颌乳侧切牙与第二乳磨牙之间结扎固定 0.3 mm 镍钛螺簧 (北京有色金属研究总院), 为防止螺簧脱落, 在下乳侧切牙及第二乳磨牙唇侧龈方磨出深 0.5 mm 的沟槽, 用结扎丝固定螺簧在两牙上 (图 1)。以测力计 (美国 ETM 公司) 结合游标卡尺测量螺簧长度作为确定力值的指标, 分别施加力值 0、100 g、200 g、300 g, 为补偿螺簧应力疲劳及牙移动引起的力值衰减, 每 2 周加力 1 次<sup>[5]</sup>。

表 1 6 只小型猪的 12 颗下颌乳侧切牙分组

Table 1 Grouping the mandibular deciduous lateral incisors of six miniature pigs

Number	Left	Right
1	A	B
2	C	D
3	B	A
4	D	C
5	B	D
6	C	A

Group A: 0 g; Group B: 100 g; Group C: 200 g; Group D: 300 g.

1.2.3 标本制作 由同一名操作者用同一台 X 线摄像机摄 X 线牙片, 每颗实验动物下颌乳侧切牙在实验开始前拍摄 X 线片后, 安放矫治器, 每次加力前及 45 d 后均拍摄 X 线片。于 15 d、30 d 各加力 1 次, 45 d 后处死动物, 将实验牙及其周围牙周组织一同取下, 40 g/L 甲醛溶液固定 2 d, 1.1 g/L (pH7.4) 乙二胺四乙酸 (ethylenediamine-tetracetic, EDTA) 的 PBS 液中脱钙约 5 周, 常规乙醇系列脱水, 石蜡包埋, 于牙根接近根管部分开始沿牙长轴作唇舌向连续切片, 每张切片厚 5  $\mu$ m, 每切 7 张留取 1 张, 每颗牙各取 10 张切片, HE 染色。

1.2.4 观察及分度 在普通光学显微镜多种放大倍数下观察实验牙牙周组织及牙根在形态学上的特征和差异。按 Brezniak 正畸炎性牙根吸收分类标准分为三度<sup>[6]</sup>。① 表层吸收: 只有表层牙骨质局限性吸收, 并最终被邻近的组织完全修复。这个过程类似于骨小梁修复。② 牙本质吸收: 这一过程中牙骨质与外层牙本质发生吸收, 并由类牙骨质进行修复。发生吸收和修复的牙根最后形态可能与原形态不一致。③ 根尖周吸收: 根尖部硬组织进行性吸收, 牙根明显缩短。

1.2.5 图像分析处理 用日本产 MINTRON MTV 3503 CB 型微型摄像机摄取镜下组织像存入与之相连的电子计算机中, 用图像处理软件 WinCeph8.0 的图像测量工具在分别在组织像上吸收区边界及整个牙根边界描点, 对每颗实验牙的 10 张组织切片进行计算机图像处理, 测量吸收面积与根总面积, 计算牙根吸收指数<sup>[7]</sup>, 并进行统计学分析, 统计方法采用裂区设计的方差分析及多组均数间的多重比较 SNK-*q* 检验, 统计分析软件 SAS8.1,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

牙根吸收指数=吸收面积/牙根总面积

## 2 结 果

### 2.1 实验测量

B、C、D 组在一个加力周期 (2 周) 内, 下颌乳侧切牙与第二乳磨牙无移动或发生极轻微的倾斜移动, 经游标卡尺对施力前后螺簧长度测量, 发现下颌乳侧切牙远中移动及第二乳磨牙近中移动的总量均小于 0.5 mm。而 A 组下颌乳侧切牙与第二乳磨牙未见变化。



图 1 矫治器的安放

Fig.1 The placement of appliance

## 2.2 X 线显示

A、B 组均未见明显的牙根吸收,也无可辨认的牙根长度变化;C 组未见明显的牙根吸收,偶见牙根尖稍圆钝;D 组可见明显的牙根尖吸收,牙根变短。

## 2.3 形态学观察

各组实验动物牙根组织切片常规 HE 染色,光学显微镜下所见如下:

A 组(施加力值 0 g)连续切片均未见任何形式的牙根吸收,偶见多核破骨细胞位于牙槽骨吸收陷窝内,可见骨改建;牙周膜唇腭侧均可见到粗大而稠密的主纤维束,呈功能方向排列,可见穿通纤维。

B 组(施加力值 100 g)与 A 组相似,在牙根压力区偶见表层牙骨质局限性吸收发生,成纤维细胞增多,牙周纤维粗大而稠密,可见到穿通纤维,主纤维束沿功能方向排列;牙根张力区可见新沉积的骨基质或骨质。

C 组(施加力值 200 g)见图 2 在牙根压力区见多个表层牙骨质局限性吸收腔,成纤维细胞明显增多,可见多核破骨细胞,也可见新沉积的骨基质或骨质,牙周纤维较纤细,主纤维束排列稠密、紊乱。

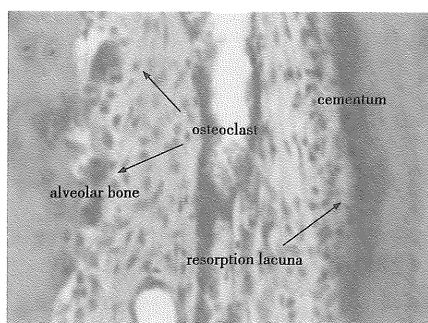


图 2 C 组表层牙骨质局限性吸收病理片

Fig.2 The pathological slice of local resorption in the surface of cementum in group C ( $\times 200$ )

D 组(施加力值 300 g)见图 3 牙骨质大面积吸收,有的部位甚至已无牙骨质附着,累及牙本质,根吸收区附近集中分布大量的多核破牙骨质细胞(图 4),根吸收区附近的牙槽骨多数可见破骨活动,大量破骨细胞分布于骨质表面,形成骨吸收陷窝;血管成分丰富并有扩张充血,可见大量成纤维细胞;牙周纤维比较紊乱、薄弱,少见连接良好的主纤维束。

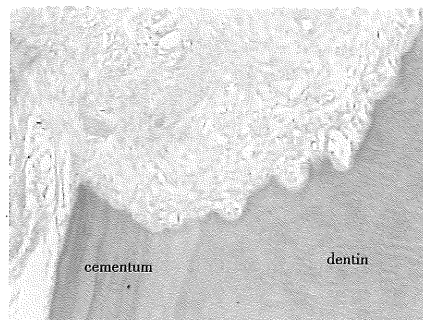


图 3 D 组牙根吸收病理片

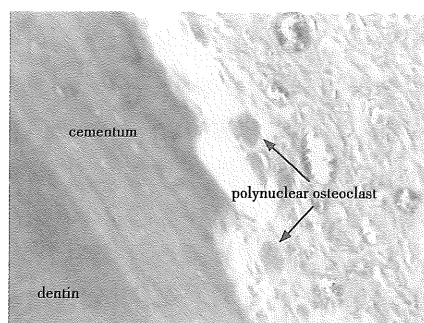
Fig.3 The pathological slice of the area of root resorption in group D ( $\times 100$ )

图 4 根吸收区的多核破牙细胞

Fig.4 The polynuclear osteoclast in the area of root resorption ( $\times 200$ )

## 2.4 图像处理分析

2.4.1 小型猪牙根吸收指数测量结果 6 只小型猪下颌左右乳侧切牙牙根吸收指数(%)测量结果见表 2。统计方法采用裂区设计的方差分析,统计分析软件 SAS8.1,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。统计学处理显示:A、B、C、D 组牙根吸收指数比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),即牙根吸收指数  $D > C > B > A$ 。

2.4.2 小型猪牙根吸收程度测量结果 根据 Brezniak 分类标准<sup>[6]</sup>,分别测量牙根吸收指数(%) 在四组小型猪不同牙根吸收类型中的情况,测量结果见表 3。统计方法采用方差分析和多组均数

表 2 6 只小型猪下颌乳侧切牙分组及牙根吸收指数 (%) 测量结果

Table 2 The root resorption index in both left and right mandibular deciduous lateral incisors of six miniature pigs (%)

Number	1	2	3	4	5	6
Left	0.0(A)	7.6(C)	0.0(B)	20.8(D)	3.4(B)	8.9(C)
Right	2.3(B)	26.2(D)	0.0(A)	9.9(C)	22.5(D)	0.0(A)

Comparison of resorption index between groups A, B, C, and D,  $P < 0.05$

间的多重比较 SNK- $q$  检验, 统计分析软件 SAS8.1,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。B、C、D 组牙根表层吸收差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), B、C、D 组牙本质吸收有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 采用多组均数间的多重比较 SNK- $q$  检验, C、D 两组牙本质吸收与根尖周吸收差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 即 300 g 组比 200 g 组牙本质吸收与根尖周吸收程度严重。

表 3 四组小型猪 Brezniak 牙根吸收程度 (%)

Table 3 The Brezniak resorption degree of four groups miniature pigs (%)

Resorption degree	A (F=0 g)	B (F=100 g)	C (F=200 g)	D (F=300 g)
Surface resorption	0.0	1.6	6.1	5.2
Dentinal resorption	0.0	0.3	2.7	10.2
Periapical resorption	0.0	0.0	0.0	7.1

Comparison of the surface resorption between groups B, C, and D,  $P > 0.05$ ; Comparison of the dentin resorption between groups B, C, and D,  $P < 0.05$

### 3 讨论

#### 3.1 动物模型的建立

在正畸治疗中, 牙根吸收是一种常见的并发症。由于其过程的不可逆性, 针对人体牙根吸收的研究多为回顾性的研究, 因而在人为控制下研究牙根吸收, 动物模型的建立是必不可少的。以往常选择大鼠、兔、猫等建立动物模型, 但这几种动物模型均存在不足之处。近年来小型猪在口腔研究领域得到越来越广泛的应用。小型猪在牙齿解剖、生长发育甚至生理结构上均与人有着很大的相似性, 这使得小型猪成为一种理想的实验动物; 同时, 小型猪繁殖较快、存活率高, 易于饲养, 价钱相

对较便宜; 此外, 小型猪的口腔和牙齿大小适宜, 便于矫治器的戴入。

由于小型猪的上颌为平坦阶梯状, 并无类似人类的腭穹隆, 且上前牙临床牙冠过短, 不利于矫治器的安放; 而其下颌口底较深, 下前牙临床牙冠较长, 且下颌牙的生长替换等特点和人类相似, 故选择下颌牙作为实验牙。小型猪下颌乳侧切牙 2~3 月龄牙根发育完成后至 18 月龄才发生替换, 且乳牙根的长度比较接近人类尖牙牙根的长度。本研究选用 5~7 月龄的小型猪下颌乳侧切牙, 牙根尚未因替换而发生吸收, 可作为理想的实验用牙。

#### 3.2 加载力的选择

3.2.1 力值 研究表明, 根吸收的产生可能涉及许多因素, 如患者的年龄、性别、营养状况、矫治器类型、矫治力大小、矫治方法、疗程等; 其中矫治力过大是发生牙根吸收的主要原因。Schwarz 的<sup>[8]</sup>研究表明最适宜的矫治力是不超过毛细血管的压力, 即 20~26 g/cm<sup>2</sup>, 此种温和而持久的矫治力使牙齿能产生所希望的移动而又不会引起牙根及牙周组织的损伤, 这被视为“经典力学”, 多年来一向为正畸工作者所遵从, 超过这种理想水平的力则易造成不同程度的牙根吸收。因此, 学者们推荐正畸施力的大小必须考虑牙根的表面积, 尽量使用最佳正畸力, 力值一般在几十克或 100~200 g, 极少超过 250 g<sup>[9]</sup>。然而, 因牙根表面积难以准确测量及牙齿移动方式不同, 临床上很难定出这种最适当矫治力。作者结合临床经验, 选用 100 g, 200 g, 300 g 几种力值来研究小型猪牙根吸收的情况, 希望通过动物实验找出临床使用力值的依据。

3.2.2 持续时间 国外研究<sup>[10,11]</sup>发现矫治力的持续时间也是引起牙根吸收的原因之一, 并且比力的大小更重要。采用间断力进行矫治时, 已发生吸收的牙骨质在间歇期可以重新修复, 并能防止进一步的吸收<sup>[12]</sup>。姜若萍等的研究结果显示间歇性施加外力可能更符合细胞在生物体内的生理状态, 而长时间地使组织细胞受到同样的力, 可能不利于细胞发挥其生理功能, 因而有可能加重牙根吸收<sup>[13]</sup>。本实验采用镍钛螺旋簧加力, NiTi 螺旋簧应力疲劳力值衰减较慢, 且实验每 2 周加力 1 次, 故加载力可视为持续力。在持续重力作用下, 可加重各力值实验牙发生根吸收的程度。

#### 3.3 不同力值的影响

牙根吸收是正畸治疗常见的并发症之一,

Harry和Sims<sup>[14]</sup>认为几乎所有的正畸患者都存在某种程度的根吸收,大量研究证实其发生率在20~100%之间<sup>[15]</sup>,大部分关于根吸收与正畸治疗关系的研究表明,根吸收是由于正畸力压迫牙周膜产生透明样变,潜掘性吸收的结果累及根面,在透明性变区的根面无细胞组织中产生牙骨质吸收陷窝,发生根吸收。根吸收是一个复杂的过程,由破牙细胞与体内各种调解因子协同作用完成,破牙骨质细胞与破骨细胞具有相似的细胞活性和功能特征。牙根吸收的机理与骨吸收基本类似,由与破骨细胞形态相似的破牙细胞承担主要的破牙骨质功能,包括两种生物学过程,酸化过程和有机基质的降解。当牙骨质因机械力发生破坏或脱落,破牙骨质细胞形成细胞层覆盖在硬组织上发生破骨活动。破牙骨质细胞既能脱矿,又能在脱矿面降解有机质。

根吸收通常在牙齿受到过大力作用后发生,本研究采用小型猪建立动物模型,对下颌乳侧切牙分别施加力值0、100 g、200 g、300 g,通过动物实验找出临床使用力值的依据及建立可靠的牙根吸收动物模型。X片结果显示0、100 g、200 g组未见明显的牙根吸收,也无可辨认的牙根长度变化;300 g组可见部分牙根变短,见明显的牙根尖吸收。光学显微镜下观察到随着力值的加大,牙骨质吸收面积逐渐增加,且程度加深;成纤维细胞数量增多;多核破牙骨质细胞和破骨细胞增多;牙周纤维也由粗大稠密变为薄弱,紊乱。实验连续切片结果显示,牙齿受重力后证实了根吸收的存在。

但由于本实验仅为小样本动物实验,所得结论尚需进一步研究与论证。

#### 参考文献:

- [1] Redlich M, Roos H, Reichenberg E, et al. The effect of centrifugal force on mRNA levels of collagenase, collagen type-1, tissue inhibitors of metalloproteinases and beta-actin in cultured human periodontal ligament fibroblasts [J]. *J Periodontal Res*, 2004,39(1):27-32.
- [2] 杨小平,曾融生,王剑宁,等.严重骨性开颌畸形的正颌外科矫治 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2004, 25(3S):267-269.
- [3] Jill M, Ra Y, William G. TIMP-2 Expression modulates human melanoma cell adhesion and motility [J]. *An New York Aca Sci*, 1994,73(2):233-247.
- [4] 钟小龙,陈松龄,李杨健.螺旋CT牙体表面成像技术在正畸治疗骨内埋伏牙中应用 [J]. *中山医科大学学报*, 2002,23(6):480-482.
- [5] 解志强,白玉兴,王邦康.小型猪正畸牙根吸收实验动物模型的建立 [J]. *北京口腔医学*, 2004,12(1):22-26.
- [6] Brezniak N, Wasserstein A. Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part I: The basic science aspects [J]. *Angle Orthod*, 2002,72(2):175-179.
- [7] Goldier S, King G J. Root resorption and tooth movement in orthodontically treated, calcium-deficient, and lactating rats [J]. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 1984, 85(5):424-430.
- [8] Schwartz AM. Tissue changes incidental to tooth movement [J]. *Int J Orthod*, 1992,18(5):331-352.
- [9] 段银钟,陈华,张巧余.正畸牙移动时牙周硬组织改变的X线观察 [J]. *中华口腔医学杂志*, 1990,25(3):219-221.
- [10] Vardimon AD, Graber TM, Vossli R, et al. Determinants controlling iatrogenic external root resorptions and repair during and after palatal expansion [J]. *Angle Orthod*, 1991,61(2):113-122.
- [11] Kuroi J, Owman P, Lundgren D. Time-related root resorption after application of a controlled continuous orthodontic force [J]. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 1996,110(3):303-310.
- [12] Kaley J, Phillips C. Factors related to root resorption in edge-wise practise [J]. *Angle Orthod*, 1991,61(3):125-132.
- [13] 姜若萍,张丁,傅民魁.正畸治疗前后牙根吸收的临床研究 [J]. *口腔正畸学*, 2001,8(3):10-12.
- [14] Harry MR, Sims MR. Root resorption in bicuspid intrusion: a scanning electromicroscopic study [J]. *Angle Orthod*, 1982,52(3):235-258.
- [15] Owman P, Molland K. Root resorption after orthodontic treatment in high and low-risk patients: analysis of allergy as a possible predisposing factor [J]. *Eur J Orth*, 2000,22(3):657-663.

(编辑 王晓鹰)