

早期釉质龋病变体部的透射电镜观察

赵 玮, 凌均荣, 汪说之, 樊明文, 于世凤

(中山大学光华口腔医学院·附属口腔医院牙体牙髓科, 广东 广州 510055)

摘要:【目的】探讨早期釉质龋中釉质微晶的溶解方式及病变体部的形成机制。【方法】应用透射电子显微镜(TEM)结合氩离子减薄制样技术对早期釉质龋病变体部的超微结构进行观察。【结果】在早期釉质龋病变体部, 釉柱间区增宽, 釉柱中心区微晶的破坏程度较周边严重, 釉柱中心区多数微晶出现中心穿孔, 釉柱周边两侧微晶边缘圆钝、增大, 并可见大量形态不一、大小不等的晶粒散布其间。【结论】早期釉质龋中单个晶粒的溶解方式主要表现为中心部优先溶解; 早期釉质龋病变体部的形成, 是以微晶脱矿为主, 脱矿和再矿化过程同时存在的结果。

关键词: 龋齿; 显微镜检查, 电子

中图分类号: R781.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2003)04-0352-03

Transmission Electron Microscopic Study on the Body of the Lesion in Incipient Enamel Caries

ZHAO Wei, LING Jun-qi, WANG Shuo-zhi, FAN Ming-wen, YU Shi-feng

(Guanghua Stomatological Colleges, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510055, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the carious dissolution mechanism of individual enamel crystals and formation mechanism of the body of the lesion in incipient enamel caries. 【Methods】 The body of the lesion in incipient enamel caries was observed by transmission electron microscopy (TEM, 200 kV), combined with selected-area argon-ion-beam thinning technique. 【Results】 In the body of the lesion, sheath region was enlarged. The crystals located in the prism cores were destroyed in the more serious degree than at the prism periphery. In the center of the enamel rod, the preferential core perforation was found in most enamel crystals. At the prism periphery, the presence of larger acid-resistant apatite crystals with rounded edge could be observed. In addition, a number of crystals with different size and shape were observed in the enlarged sheath region. 【Conclusion】 The individual crystal dissolution mainly occurs as the preferential crystal core dissolution. The body of the lesion in incipient enamel caries may be a result of a shift in the equilibrium between demineralization and remineralization processes, with the demineralization process predominant.

Key words: dental caries; microscopy, electron

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2003, 24(4): 352 ~ 354, 374]

早期釉质龋又名“白斑”病损, 在组织学上可以分为4带: 自牙体表面向内依次为表面带、病变体部、暗带、透明带。早期釉质龋各病变带中所形成微孔的数目、微晶种类和排列、及化学改变等均有不同, 提示早期釉质龋各病变带的形成机制存在差

异^[1]。已有的报道中^[2], 多数学者将病变的四带结构作为一个整体进行研究, 而对早期釉质龋病变各带的深入观察罕见报道。釉质龋的形成始于致龋菌酸性代谢产物引起的微晶脱矿^[3], 病变体部是早期釉质龋的病变主体, 脱矿明显, 是研究龋病脱矿

收稿日期: 2003-01-15

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(39830430)

作者简介: 赵 玮(1971-), 女, 湖北武汉人, 博士, 讲师; 汪说之, 樊明文, 武汉大学附属口腔医院; 于世凤, 北京大学附属口腔医院。

机制的良好模型。本研究应用透射电镜结合氩离子减薄制样技术对早期釉质龋病变体部进行观察,旨在探讨早期釉质龋中釉质微晶的溶解方式及病变体部的形成机制。

1 材料与方法

1.1 标本来源

选取新近拔除的年轻后牙 10 颗,牙邻面接触点下方可见呈白垩色斑块的早期龋损区。牙体拔除后去除软垢、牙石和软组织,置于 100 mL/L 甲醛中固定 24 ~ 48 h,蒸馏水冲洗,自然干燥备用。

1.2 早期釉质龋薄膜样品的制备及电镜观察

选取典型的具有三角形龋坏的病变,应用硬组织切片机将牙体组织沿牙体长轴方向纵切或约垂直于釉柱长轴方向横切以获取纵切片和横切片样品(厚度为 100 ~ 200 μm);样品经机械减薄、双面抛光至厚度约 80 ~ 100 μm 时,将其浸渍在加拿大胶中,制成磨片,于光镜下确诊。据光镜下所见,勾画出早期釉质龋病变各带;应用凹坑减薄仪(Gatan 公司产)在样品双面预挖锥坑,坑底最薄处厚度为 30 ~ 40 μm ;在样品表面粘接铜环,应用 LBS-1 型氩离子减薄仪(角度为 10 ~ 12°,电压 3.8 kV)将样品减至中心穿孔,所形成的穿孔正好穿过病变体部中心区,孔洞四周的透明薄区(100 nm)即为电镜下可观察的病变体部结构。采用 JOEL-2010 型高分辨透射电镜(日本电子公司产,加速电压为 200 kV)获取图像。

2 结 果

2.1 早期釉质龋的光镜观察

光镜下观察早期釉质龋未脱矿的纵磨片,病变区由里向外分为 4 层结构:即透明带、暗层、病损体部和表层。透明层位于病损的前沿,和正常釉质相连呈透明状;暗层紧接于透明层的表面,呈现结构混浊、模糊不清;病损体部是病损区范围最广的一层,从表层下一直延伸到靠近暗层,较为透明;表层位于病变的最表面。

2.2 病变体部的透射电镜(TEM)观察

釉柱纵断面:釉柱内微孔(micropores)明显增多(图 1)。釉柱间区增宽,两侧微晶边缘圆钝、增大,并可见大小不等的六角形、圆形或不规则形的晶粒散布于柱间区(图 2)。晶间微隙明显增宽,板

条状晶粒间可见大量不规则形短晶粒散布其间,单个板条状晶粒变细。

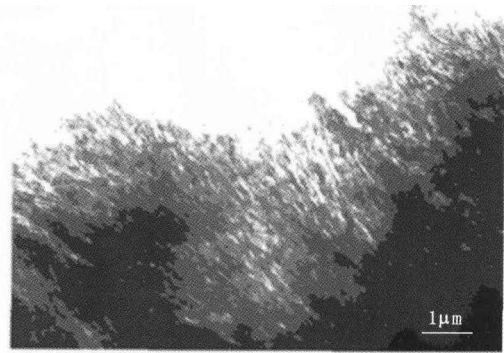


图 1 釉质纵切面 TEM 像

Fig. 1 TEM of the enamel in the longitudinally-sectioned sample

In the center of the enamel rod, the number of the micropore increased obviously

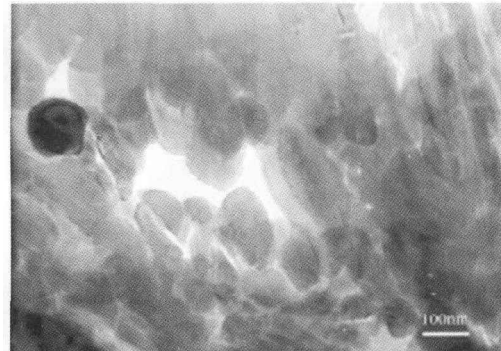


图 2 釉柱间区的 TEM 像

Fig. 2 TEM of the sheath region

In the enlarged sheath region, crystals with rounded edge could be observed at the prism periphery. In addition, a number of crystals with different size and shape were observed

釉柱横断面:釉柱间区增宽,两侧微晶圆钝。靠近柱间区的釉柱周边部可见体积较大的晶粒,此处微晶破坏程度较釉柱中心区轻,且晶粒中心未见明显的穿孔(perforation)形成。釉柱中心部的多数晶粒出现了中心溶解、穿孔(图 3),相邻的晶粒中心穿孔可彼此融合形成大的孔隙。孔隙区常可见到许多小的圆形致密颗粒。

3 讨 论

3.1 釉柱周边部大的耐龋溶解晶粒

釉柱横断面观察显示,位于柱间区两侧的釉柱周边部微晶紧密排列,体积较中心部晶粒大,且破坏程度较轻,显示对龋溶解较强的抵抗力。Sim-

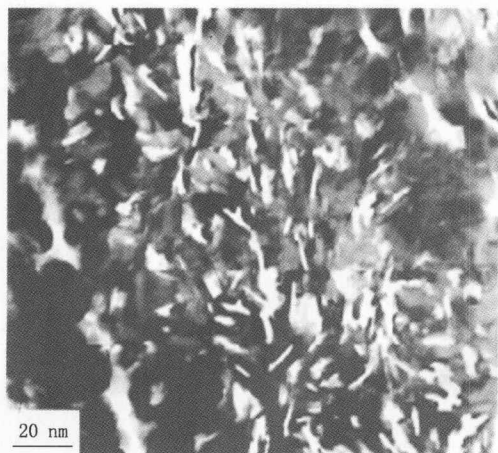


图 3 釉柱中心区的 TEM 像

Fig. 3 TEM of center of the enamel rod

The preferential core perforation was found in most of crystals. At the prism periphery, the larger acid-resistant apatite crystals could be observed

melink 等^[4]在经酸处理的人成熟牙釉质中观察到同样的现象,而在同期处理的鼠牙釉质晶体中则不然,故认为釉柱周边大的耐酸颗粒是人牙釉质晶体独有的特征。然而 Daculsi 等^[5]在含 F 量较高的鲨鱼釉质样晶体中观察到相似的晶粒形态,推测釉柱周边部大的耐酸晶粒的形成,可能与牙齿长时间的口腔环境暴露有关。牙萌出后,在进一步的成熟过程中,由于牙釉质长期暴露于口腔环境,口腔中的 F 可摄入釉柱间区,从而在邻近区形成大的耐酸晶粒,可能为一种生理性防御机制。

3.2 病变体部微晶的中心溶解

龋病变过程中,有关单个晶粒的溶解方式认识不一。多数学者提出微晶中心部优先溶解(preferential crystal core dissolution)的观点^[6],认为龋病过程中微晶的龋溶解始于其中心部。而 Holmen 等^[7]通过扫描电镜观察,指出龋病过程中晶体破坏始于单个晶粒的周边溶解,从而使晶粒的宽度和厚度减小。Jongbloed 等^[8]应用透射电镜对正常牙釉质和经酸处理牙釉质进行对比观察,发现正常牙釉质晶体和经酸处理后牙釉质晶体具有相同的晶粒外径尺寸,而酸处理釉质出现了微晶中心溶解,在体外证实了微晶中心优先溶解的观点。本研究观察显示,早期釉质龋病变体部釉柱中心区的多数晶粒出现中心溶解、穿孔现象,而微晶自身的厚度和宽度没有明显减小,从而为进一步支持微晶中心优先溶解的观点提供了体内研究证据。

3.3 早期釉质龋病变体部的再矿化现象

龋病的再矿化机制复杂,涉及结构、化学和生物等过程的变化。目前认为龋病晶体的再矿化方式可能有两种^[9]:一种是新晶核的析出并长成微晶;另一种是原晶粒的长大。在釉质龋表层下、靠近表层的釉柱鞘非晶区内,可观察到许多小黑点,认为是新析出的晶核。然而,本研究在早期釉质龋病变体部的柱间区内,并未观察到新的晶核析出及体积明显增大的再矿化颗粒存在,认为可能与观察的部位有关。当观察区紧邻矿化程度较高的病变表层,因而再矿化现象明显,而本研究观察主要位于脱矿严重的病变体部的中心区。本研究在增宽的釉柱间区和晶间区观察到许多大小不等、形态不一的致密颗粒散布其间,其可能代表着病变体部的一种再矿化现象,在一定程度上阻止龋溶解的进展。

3.4 病变体部的形成

偏振光显微镜的观察显示病变体部孔隙可占釉柱容积的 5% ~ 25%, 光镜下观察釉质龋磨片,此带较正常区透明,釉质生长线和横纹更为清晰^[1]。目前,对病变体部多样的组织学表现尚无令人信服的解释。本研究通过 TEM 观察,认为病变体部同时存在脱矿和再矿化现象,且脱矿过程占有主导地位。脱矿过程中,微晶在酸性物质的作用下中心部优先溶解形成穿孔,相邻穿孔可彼此融合、扩大,形成较大的孔隙。同时,脱矿晶粒形成的残余碎片或再矿化晶粒可再沉积至已形成的孔隙中,使增大的孔隙继而缩小。随着不同区域溶解脱矿和再矿化程度的不同,病变区可出现大小不等、形态不一的孔隙,当用树胶浸封磨片观察时可形成光镜下病变体部的特征性病理改变。

参考文献:

- [1] 樊明文. 龋病学[M]. 贵州:科技出版社, 1993. 148.
- [2] 李挺星,刘瑗如,温树林,等. 早期釉质龋的高分辨电镜研究[J]. 中华口腔医学杂志, 1987, 22(1):1.
- [3] 赵玮,凌均荣,于世凤. 碳酸基团在牙磷灰石中的定性、定量分析[J]. 中山医科大学学报, 2002, 23(5s):7.
- [4] Simmelink J W, Abrigo S C. Crystal morphology and decalcification patterns compared in rat and human enamel and synthetic hydroxyapatite[J]. Adv Dent Res, 1989, 3(2): 241.
- [5] Daculsi G, Kerebel L M. Ultrastructural study and com-

(下转第 374 页 to page 374)

良将影响视网膜的氧化、营养,促使新生血管形成,这可能是 DRP 不断进展、微血管瘤发生的重要原因。

3.3 彩色多普勒超声检查血流参数指标的变化与血糖的相关性研究

本研究中糖尿病大鼠 CRA 各项血流参数的变化与血糖无明显相关性,提示上述血流的变化可能与高血糖引起的继发改变如血管活性因子的释放等因素有关,有待进一步研究。

综上所述,本研究通过采用彩色多普勒超声检查对糖尿病大鼠 CRA 的血流参数进行测定与分析,并以糖尿病大鼠视网膜血管消化铺片结果作为参照,结果表明在糖尿病早期,视网膜出现血管病变之前,视网膜血流动力学已经出现异常改变,并进行性加重,提示视网膜血流减少、血液灌注不良是 DRP 的重要发病原因。在糖尿病早期、DRP 发病之前即进行相应的治疗以改善视网膜的血供,可能延缓或逆转 DRP 的发生与发展。而针对早期视网膜血流的变化特点、寻找其病变原因、并进行相应的治疗则是本课题下一步研究的方向。

(本文图 1~3 见封 2. Fig. 1~3 shown in inside front cover)

参考文献:

- [1] Attawia M A, Nayak R C. Circulating antipericyte autoantibodies in diabetic retinopathy[J]. *Retina*, 1999, 19(5): 390.
- [2] Higashi S, Clermont A, Dhir V, *et al.* Reversibility of

retinal flow abnormalities is disease-duration dependant in diabetic rats[J]. *Diabetes*, 1998, 47(4): 653.

- [3] Schmetterer L, Wolzt M. Ocular blood flow and associated functional deviations in diabetic retinopathy[J]. *Diabetologia*, 1999, 42(4): 387.
- [4] Kohner E M, Patel V, Rassam S M B. Perspectives in diabetes: role of blood flow and impaired autoregulation in the pathogenesis of diabetic retinopathy[J]. *Diabetes*, 1995, 44(6): 603.
- [5] Tilton R G, Chang K, Pugliese G, *et al.* Prevention of hemodynamic and vascular albumin filtration changes in diabetic rats by aldose reductase inhibitors[J]. *Diabetes*, 1989, 38(10): 1258.
- [6] 张惠蓉. 眼微循环及相关疾病 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993. 19.
- [7] Asrani S, Zou S, D' Anna S, *et al.* Noninvasive visualization of blood flow in the choriocapillaris of the rat[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1996, 37(8): 312.
- [8] Dimitrova G, Kato S, Tamaki Y, *et al.* Choroidal circulation in diabetic patient[J]. *Eye*, 2001, 15(pt 5): 602.
- [9] Mackinnon J R, Mckillop G, O' Brien C, *et al.* Color doppler imaging of the ocular circulation in diabetic retinopathy[J]. *Acta Ophthalmol Scand*, 2000, 78(4): 386.
- [10] Deng D, Evans T, Mukherjee K, *et al.* Diabetes-induced vascular dysfunction in the retina: role of endothelin[J]. *Diabetologia*, 1999, 42(10): 1228.

(编辑 刘清海)

(上接第 354 页 from page 354)

- parative analysis of fluoride content of enameloid in sea-water and fresh-water shark[J]. *Arch Oral Biol*, 1980, 25(2): 145.
- [6] Frank R M. Structural events in the caries process in enamel, cementum and dentin[J]. *J Dent Res*, 1990, 69(Spec): 559.
- [7] Holmen L, Thylstrup A, Gaard B, *et al.* A scanning electron microscopic study of progressive stages of enamel caries *in vivo*[J]. *Caries Res*, 1985, 19(4): 355.
- [8] Jongebloed W J, Molenaar I. Morphology and size distribution of sound and acid-treated enamel crystallites[J]. *Calcif Tissue Res*, 1975, 19(2): 109.
- [9] Wen S L. Human enamel structure studied by high resolution electron microscopy[J]. *Electron Microsc Rev*, 1989, 2(1): 1.

(编辑 刘清海)