

# 正畸牙移动过程中龈沟液碱性磷酸酶活性的变化<sup>①</sup>

张定铭, 邓 锋, 杨 宓

重庆医科大学 附属口腔医院, 重庆 400015

**摘要:** 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)被认为是成骨细胞分化 and 功能状态的重要标志, 为评价正畸牙移动过程中 ALP 活性的变化趋势及其所起的作用, 选择 17 颗需远中移动的正畸尖牙, 分别在加力前与加力后 1 h、24 h、7 d、14 d、21 d 和 30 d 收集尖牙近远中侧龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF), 生化分析 ALP 活性的变化。结果显示: 加力后 7 d、14 d 和 21 d, GCF-ALP 活性均较受力前显著增加( $p < 0.05$ ), 且在 14 d 达到峰值( $p < 0.01$ ); 近、远中位点 GCF-ALP 活性存在差异, 近中侧大于远中侧( $p < 0.05$ )。表明 GCF-ALP 活性的变化趋势反应了正畸力作用下牙周骨组织改建模式, 并与牙移动过程密切相关。ALP 是反应正畸牙移动和牙周组织改建生物指标之一。

**关键词:** 正畸牙移动; 龈沟液; 碱性磷酸酶活性

**中图分类号:** R783.5

**文献标识码:** A

正畸治疗的一个最基本现象就是牙齿受力以后, 机械刺激将导致相应牙周组织发生生物化学和组织结构变化, 从而牙齿移动<sup>[1,2]</sup>。最近的研究显示, 正畸牙受力以后, 其张力侧和压力侧牙槽骨骨壁的骨改建均是一个启动、吸收、转换和形成的连续过程<sup>[3]</sup>, 骨改建的机理可能与在龈沟液中检测到的生化成分释放密切相关<sup>[4,5]</sup>, 骨改建过程涉及到牙周膜细胞转化为成骨细胞的增殖和分化过程<sup>[6]</sup>。碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)是参与生物矿化活动的酶类, 它在细胞中的表达可以反应具矿化功能的细胞的分化程度和功能状态, 是成骨细胞分化成熟的标志<sup>[7]</sup>。

龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF)是一种渗出液, 其成份有多种来源, 包括微生物牙菌斑、宿主炎症细胞、宿主组织和血清<sup>[8]</sup>。近年来, 大量研究表明 GCF 中部分生化成分是牙周病活动期组织破坏的诊断指标, ALP 便是指标之一<sup>[8,9]</sup>。但关于正畸力作用下 GCF 中 ALP 在正畸牙移动、牙周骨组织改建过程所发挥的作用, 目前少有这方面的报道。

本实验拟通过检测正畸牙加力前与加力后不同时间段 GCF-ALP 活性, 探讨牙周骨组织改建过程中 ALP 的变化趋势及其所起的作用, 为正畸牙移动机制研究提供新的手段和实验数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验对象

17 名患者, 男 8 名, 女 9 名, 年龄 11~14 岁, 平均 12.1 岁。全身情况良好, 在接受实验前 6 个月未使用抗菌素、非甾体抗炎药、免疫抑制剂, 牙周状况良好, 龈沟探诊深度不超过 2 mm, X 线片显示无牙槽骨丧失, 至少需拔除一颗第一双尖牙。每名患者随机选择一颗需远中移动的尖牙为实验牙, 共 17 颗尖牙。在收集龈沟液前, 所有病人都进行牙周预备, 包括洁治跟抛光。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 前期口腔卫生指导

在实验前的 2 个月内, 所有受试者接受反复的口腔卫生指导, 诸如牙刷、牙线和牙间隙刷的使用等。

① 收稿日期: 2006-08-08

作者简介: 张定铭(1972-), 男, 重庆人, 主治医师, 主要从事口腔正畸学研究。

分别在初次检查时、拔牙前、拔牙后 2 周、戴矫治器前 1 周进行菌斑染色检查, 确保受试者已掌握正确的口腔卫生知识和刷牙方法.

### 1.2.2 正畸加力装置设计和施力

第一磨牙粘着带环, 第二双尖牙及尖牙粘 MBT 托槽,  $0.40\text{ mm} \times 0.60\text{ mm}$  不锈钢方丝弯制 Ricketts 片段弓, 用 150 g 力远中移动尖牙. 实验期间不采取其他正畸治疗措施.

### 1.2.3 GCF 收集

戴矫治器前、加力后 1 h、24 h、7 d、14 d、21 d 和 30 d 依次收集尖牙近、远中侧龈沟液. 取样时, 嘱受试者漱口, 取样牙位以棉卷隔湿, 轻轻以气枪吹干受试牙牙面及周围牙龈粘膜, 去除龈上菌斑及软垢, 将专用滤纸条 Periopaper(Harco, Tuston, CA, USA)分别轻轻插入该牙近中和远中侧龈沟内, 至有轻微阻力即停止, 留置 30 s 后取出, 重复 2 次. 收集中保证滤纸条不被血液和唾液污染, 取出后的滤纸条分别置入已高温高压消毒的 Ep 管密封,  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  冻存.

### 1.2.4 牙周临床指标的检测

收集完龈沟液样本后记录菌斑指数(plaque index, PI)、牙龈指数(gingival index, GI)、出血指数(bleeding index, BI)、牙周探诊深度(probing depth, PD), 从而评估实验过程中受试者牙周状况的变化.

### 1.2.5 GCF-ALP 活性测定

样本常温下解冻, 解冻后将滤纸条放入盛有  $80\text{ }\mu\text{L}$  磷酸缓冲液( $\text{pH}=7.2$ )的微离心管内, 室温放置 1 h 后取出滤纸条, 将剩余液体保存于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 24 h 内用全自动生化分析仪测定 ALP 活性水平. 结果用酶活性/位点表示.

### 1.2.6 数据分析和统计方法

结果用 SPSS8.0 统计软件分析. 配对 t 检验作加力前与加力后各时间点 GCF-ALP 活性的比较以及相同时间点近中侧与远中侧 GCF-ALP 活性的比较, Wilcoxon 检验分析牙周临床指标.

## 2 结 果

### 2.1 牙周临床指标检测结果

所有受试者在整个实验期间菌斑指数、牙龈指数均较小, 没有牙周探诊出血情况, 探诊深度在实验中均小于 2 mm. 统计检验显示加力后各时间点牙周临床指标与加力前无显著性差异( $p>0.05$ ).

### 2.2 GCF 中 ALP 活性检测结果

以固定矫治器放置前 17 颗尖牙近、远中位点 GCF-ALP 活性作为基线水平. 正畸加力后 7 d、14 d 和 21 d, 近、远中位点 GCF-ALP 活性比加力前显著增加( $p<0.05$ ), 且在 14 d 达到峰值( $p<0.01$ ); 加力 30 d 后, GCF-ALP 活性较加力后 14 d 显著下降, 基本回复至基线水平. 在加力后 7, 14, 21 d, 近、远中位点 GCF-ALP 活性存在差异, 近中侧大于远中侧( $p<0.05$ )(表 1).

表 1 正畸牙移动过程中龈沟液 ALP 活性水平( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Levels of ALP Activity in GCF During Orthodontic Tooth Movement

	近中侧(IU/位点)	远中侧(IU/位点)		近中侧(IU/位点)	远中侧(IU/位点)
基线	$55.34 \pm 20.26$	$52.47 \pm 21.43$	14 d	$204.38 \pm 58.75^{**} \triangle$	$104.58 \pm 35.54^{*}$
1 h	$58.52 \pm 23.74$	$53.63 \pm 21.81$	21 d	$150.92 \pm 50.61^{*} \triangle$	$89.04 \pm 30.69^{*}$
24 h	$67.18 \pm 27.54$	$59.04 \pm 25.26$	30 d	$63.55 \pm 25.72$	$60.41 \pm 24.58$
7 d	$146.47 \pm 47.63^{*} \triangle$	$87.46 \pm 28.72^{*}$			

\*  $p<0.05$ 、\*\*  $p<0.01$  (较基线水平);  $\triangle p<0.05$  (较远中侧水平).

## 3 讨 论

龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF)是一种渗出液, 其成份有多种来源, 包括微生物牙菌斑, 宿主炎症细胞, 宿主组织和血清, 其成分和渗出量受牙周炎症以及毛细血管通透性的影响, 与牙周组织的生理状态密切相关<sup>[2]</sup>. 当牙周组织细胞合成 ALP 增加时, 进入 GCF 中的 ALP 也增加, 故可用 GCF 中的 ALP 活性估计组织水平. 当排除了因口腔卫生不良造成的牙周组织炎症反应后, GCF-ALP 活性的变化可视为

与正畸力的作用有关<sup>[10]</sup>。本实验所有受试者由于接受了多次口腔卫生宣教, 掌握了正确的口腔卫生知识和刷牙方法, 正畸治疗过程中各项牙周临床指标较治疗前无显著性变化, 排除了由于牙周组织健康状况改变所导致的龈沟液体积、成分发生变化这一因素, 这是本研究得以开展的前提条件。

成骨细胞来自多潜能的间充质干细胞, 主要负责骨基质形成及钙化。来自未分化间充质细胞的骨源性细胞向成骨细胞分化时先形成前成骨细胞。在前成骨细胞的胞质内有显著发达的粗面内质网、高尔基氏体。它分泌大量的 I 型、III 型、V 型、VI 型胶原和多糖体等有机基质, 在前成骨细胞向成骨细胞分化时细胞膜碱性磷酸酶活性显著增高, 细胞形成明显极性, 即细胞核远离骨面, 然后分泌基质小泡, 并逐渐有骨结晶析出<sup>[11]</sup>。

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)是成骨细胞分化时所分泌的酶, 它的主要功能是在碱性条件下(pH 7.6~9.9)水解多种磷酸酯并具有转磷酸基作用。成骨细胞所分泌的骨型 ALP 是一种细胞外酶, 分子量约 12 kD。Robison<sup>[9]</sup>23 年首先提出 ALP 是一种与骨矿化和软骨钙化有关的重要蛋白质, 随后很多学者也都认为 ALP 的作用是水解有机磷酸酯, 将磷离子释放到体液环境中, 形成过饱和状态, 导致钙盐的沉积, 与矿化组织的形成有密切的关系, 是成骨细胞分化和功能状态的重要标志, 通常被作为检测成骨活动的指标之一<sup>[7,10]</sup>。

动物模型的研究显示, 正畸牙受力以后, 其牙槽骨改建模式为: 启动, 加力初期骨吸收, 逆转期, 加力晚期骨沉积, 张力侧和压力侧牙槽骨壁均符合这个模式<sup>[3]</sup>。本实验中, 张力侧(近中侧)与压力侧(远中侧)GCF-ALP 活性变化趋势在整个实验期间表现出一致性, 反应了正畸力作用下张力侧与压力侧骨改建模式的一致性。加力后 1 h 至 24 h, 张力侧与压力侧 GCF-ALP 活性较加力前无显著性升高; 加力后 7~21 d GCF-ALP 活性增加, 较加力前有显著性差异, 并在 14 d 达到峰值; 加力 30 d 后, ALP 活性回落接近基线水平。这表明牙移动早期, 由于涉及到一个急性炎症反应, 牙周组织改建以骨吸收为主。7 d 以后, GCF-ALP 活性升高, 提示成骨细胞增殖骨沉积已开始发生; 随着时间推移, 增殖细胞数目增多, 细胞增殖活跃程度增加, 牙周骨组织改建由吸收为主逐渐过渡到骨吸收与骨沉积同步; 在 14 d 时 GCF-ALP 活性达到峰值, 表明此时成骨活动最为活跃。其他研究也得出了类似结论<sup>[3,10]</sup>。加力 30 d 后 GCF-ALP 活性回落, 可能反应了细胞基质的矿化。因为 ALP 的出现先于矿化的发生, 而矿化发生后, ALP 迅速消失<sup>[7]</sup>。但这并不代表牙周骨组织改建已完成, Christenson 发现骨基质沉积完成需要 80~120 d 时间<sup>[12]</sup>。

实验期间, 虽然压力侧与张力侧 GCF-ALP 活性变化趋势表现出了一致性, 但在 7 d、14 d 和 21 d, 统计分析表明双侧 GCF-ALP 活性存在显著差异, 即压力侧低于张力侧。表明张力侧与压力侧虽然有相一致的骨改建模式, 但张力侧是主要发生骨沉积的区域, 而压力侧则主要进行骨吸收。这点与其他研究结论一致<sup>[12]</sup>。

到目前为止, 正畸牙受力移动的生物学机理尚不十分清楚。检测正畸牙受力后 GCF 内生化学成分含量变化的方法直接且无损伤, 为正畸牙移动的生物学机制研究提供了一种简便而可行的实验途径<sup>[10,13]</sup>。近年来, 正畸加力后 GCF 中生化成分变化的研究成为正畸领域研究的热点之一。有关碱性磷酸酶在正畸牙移动机制中的作用, 目前还较少有这方面的报道。

本实验通过检测正畸牙移动过程中其张力侧与压力侧 GCF-ALP 活性水平, 结果表明在有效控制牙周健康状况的前提下, GCF-ALP 活性的变化反应了正畸力作用下成骨细胞变化趋势和牙周骨组织改建模式, 并与牙移动过程密切相关。ALP 是反应正畸牙移动和牙周组织改建生物指标之一, 但影响 ALP 的因素很多, 如性别、年龄、力值大小、取样的牙位等, 均有待进一步深入研究。

## 参考文献:

- [1] 李小彤, 张 丁. 正畸牙齿移动中的生物学现象 [J]. 口腔正畸学, 2005, 12(4): 189-192.
- [2] Davidovich Z, Nicolay D F, Ngan P W, *et al.* Neurotransmitters, Cytokines, and the Control of Alveolar Bone Remodeling in Orthodontics [J]. Dent Clin North Am, 1988, 32(3): 411-435.
- [3] Keeling S, King G, Valdez M. Serum and Alveolar Bone Phosphatase Changes Reflect Remodeling During Orthodontic Tooth Movement [J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 1993, 103(4): 320-326.

- [4] Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Interleukin (IL)-1 Beta, IL-6, Tumor Necrosis Factor-Alpha, Epidermal Growth Factor, and Beta 2-Microglobulin Levels are Elevated in Gingival Crevicular Fluid During Human Orthodontic Tooth Movement [J]. *J Dent Res* 1996, 75(1): 562 - 567.
- [5] Ren Y, Maltha J C, Hof M A, *et al.* Cytokine Levels in Gingival Crevicular Fluid are Less Responsive to Orthodontic Force in Adults Than in Juveniles [J]. *J Clin Periodontol.* 2002, 29(8): 757 - 762.
- [6] Roberts W E, Chase C D. Kinetics of Cell Proliferation and Migration Associated with Orthodontically-Induced Osteogenesis [J]. *J Dent Res.* 1981, 60(2): 174 - 181.
- [7] 胡立桢, 陈卫民, 毛 靖, 等. 持续压力对大鼠成骨细胞碱性磷酸酶分泌活性的影响 [J]. *临床口腔医学杂志*, 2003, 19(2): 79 - 81.
- [8] 汪战红. 牙周病诊断方法研究进展 [J]. *国外医学口腔医学分册*, 2002, 29(2): 80 - 82.
- [9] 薛晨屹. 龈沟液中酶的检测及其与牙周病的关系 [J]. *口腔材料器械杂志*, 2004, 13(2): 99 - 101.
- [10] Batra P, Kharbanda O, Duggal R, *et al.* Alkaline Phosphatase Activity in Gingival Crevicular Fluid During Canine Retraction [J]. 2006, 9(1): 44 - 51.
- [11] 朱 虹, 潘 凌. 成骨细胞与破骨细胞功能调节及其关系 [J]. *国外医学口腔医学分册*, 1996, 23(5): 291 - 293.
- [12] Christenson R H. Biochemical Markers of Bone Metabolism: an Overview [J]. *Clin Biochem.* 1997, 30(8): 573 - 593.
- [13] 田玉楼, 谢江春, 赵震锦, 等. 正畸牙龈沟液白细胞介素-1 $\beta$ 与肿瘤坏死因子- $\alpha$ 水平的变化及其生物学意义 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2006, 24(3): 243 - 245.

## Alkaline Phosphatase Activity in Gingival Crevicular Fluid During Orthodontic Tooth Movement

ZHANG Ding-ming, DENG Feng, YANG Mi

*Affiliated Stomatological Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400015, China*

**Abstract:** It is considered that alkaline phosphatase (ALP) is an important marker of osteoblastic differentiation and functional status. In order to evaluate the change's tendency and role of ALP during orthodontic tooth movement, seventeen canine teeth of patients that need be moved distally were selected for the study. At the mesial and distal aspects of the canine teeth, the gingival crevicular fluid (GCF) were collected at baseline, and at 1 h, 24 h, 7 d, 14 d and 30 d respectively after initiation of the experiment. The changes of ALP activity in GCF were determined by biochemical assay. The result showed that GCF-ALP activity is more greater at 7 d, 14 d and 21 d after applying orthodontic force than the baseline ( $p < 0.05$ ), whereas the highest level of ALP was observed at 14 d ( $p < 0.01$ ), and statistically differences in GCF-ALP activity between the mesial and distal sites were seen, being always greater in the mesial sites ( $p < 0.05$ ). The study showed that the change's tendency of GCF-ALP activity reflected the remodeling pattern of alveolar bone under orthodontic loading, and had close relationship with the tooth movement processes. ALP activity could be a biological indicator of remodeling in the periodontium and orthodontic tooth movement.

**Key words:** orthodontic tooth movement; gingival crevicular fluid; alkaline phosphatase activity