

三种临床盖髓剂的抗菌性及生物相容性对比研究

谢家晔¹, 李力文¹, 朱强²

(1. 上海交通大学医学院附属同仁医院, 口腔科, 上海 200336; 2. 海军军医大学第一附属医院(长海医院), 口腔科, 上海 200433)

摘要: 盖髓剂对于保存牙髓和治疗龋病具有重要作用。临床常用的三种盖髓剂的治疗效果存在较大差异, 如何依据病情选择恰当的盖髓剂亟需相关对比研究予以指导。本研究旨在对临床常用的三种盖髓剂: 齿科氧化锌丁香酚水门汀(ZnO)、自固化氢氧化钙(Dycal)和光固化氢氧化钙间接盖髓剂(Calcimol)的形貌、成分以及理化性能进行表征, 并通过体外细菌和细胞培养实验对其抗菌性和生物相容性进行对比评价。实验结果表明, 齿科氧化锌丁香酚的疏水性能较强, 其有效成分 ZnO 可持续释放 Zn 离子, 呈现出优异的抗菌性能; Dycal 和 Calcimol 具有相似的结构形貌和成分, 但 Dycal 相对疏水, 能持续释放 Ca 离子, 在周围形成碱性微环境, 从而赋予其抗菌性和较好的生物相容性; Calcimol 为亲水材料, 便于临床操作, 钙离子释放量少, 抗菌性稍弱, 但生物相容性优异。本研究结果为临床上以龋病程度及牙髓健康状况为依据, 选择合适的盖髓剂提供了实验基础。

关键词: 盖髓剂; 结构表征; 抗菌性; 生物相容性

中图分类号: TQ174 文献标志码: A

Contrastive Study on *in Vitro* Antibacterial Property and Biocompatibility of Three Clinical Pulp Capping Agents

XIE Jiaye¹, LI Liwen¹, ZHU Qiang²

(1. Department of Stomatology, Tongren Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200336, China; 2. Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Changhai Hospital), Shanghai 200433, China)

Abstract: Pulp capping agents are effective materials which can preserve dental pulp and treat caries in different ways. It is urgently demanded to establish a guidance to select the appropriate pulp capping agents according to the conditions of pulp and cary requirements. In this work, morphology, composition, physical, and chemical properties of three commonly used clinical pulp capping agents, namely dental zinc oxide eugenol cement (ZnO), self-curing calcium hydroxide (Dycal), and light-curing calcium hydroxide (Calcimol), were studied. Their antibacterial, cytocompatibility and blood compatibility were evaluated. The results showed that ZnO was hydrophobic and its effective component, crystallized ZnO, could consistently release zinc ions, giving its alkaline environment to inhibit bacteria. Structure, morphology and components in Dycal were similar to those in Calcimol. However, its surface was more hydrophobic and its release amount of calcium ions was larger than that of Calcimol. It formed an alkaline

收稿日期: 2022-08-05; 收到修改稿日期: 2023-06-30; 网络出版日期: 2023-07-28

基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会科研课题(201840040)

Scientific Research Project of Shanghai Health and Family Planning Commission (201840040)

作者简介: 谢家晔(1979-), 男, 硕士研究生. E-mail: xpony171207@163.com

XIE Jiaye (1979-), male, Master candidate. E-mail: xpony171207@163.com

通信作者: 朱强, 副教授. E-mail: txzdzq1979@163.com

ZHU Qiang, associate professor. E-mail: txzdzq1979@163.com

micro-environment, thereby possessed good antibacterial ability and biocompatibility. Meanwhile, Calcimol was hydrophilic and convenient to operate, and released less metal ions. Due to its safe composition, Calcimol exhibited excellent biocompatibility but slightly weaker antibacterial property. Our results suggested that these comparative results might be a useful clinical guidance for selecting appropriate pulp capping agents according to the degree of caries and the health status of dental pulp to treat the caries.

Key words: pulp capping agent; microstructure characterization; antibacterial property; biocompatibility

牙髓疾病是影响人类口腔健康的主要疾病, 细菌感染是临床上牙髓损伤最常见的原因, 龋病是引起牙髓细菌感染最主要的途径^[1], 如何保存活髓治疗牙髓疾病一直是难点之一。采用生物活性材料作为盖髓剂进行保髓治疗是临床治疗损伤牙髓的主要方案^[2]。盖髓剂可以保存活髓、治疗细菌感染、促进根尖发育完全, 针对意外露髓, 尤其是根尖未发育完全的年轻恒牙具有较好的治疗效果^[3]。目前临床常用的盖髓剂分为丁香酚和氢氧化钙两类, 其中, 丁香酚具有抑菌和局部镇痛的功效, 混合氧化锌后可作为安抚剂用于间接盖髓、根管充填及暂封^[4]; 氢氧化钙作为最常用且价格低廉的盖髓剂, 其抑菌性能良好, 溶于水后呈强碱性, 可中和细菌酸性产物, 促进矿物质沉积, 并诱导修复性牙本质生成, 被用于评价盖髓剂性能的金标准^[5]。

临床用盖髓剂具有良好的封闭性、较强的杀菌和抑菌能力^[6], 其抑菌性能有助于抑制细菌对牙髓组织的损伤, 从而保存牙髓活力, 促进牙髓组织修复愈合。不同盖髓剂各有其功能特点。Leye 等^[7]发现 Dycal 具有形成牙本质桥迅速、引起牙髓炎症轻微的优点。Applerot 等^[8]揭示了 ZnO 优异的抗菌能力及其机理, 其抗菌作用由 ZnO 颗粒与细菌膜接触产生, 其抗菌机理源于 ZnO 表面与水的反应提高了活性氧即羟自由基水平, 进而杀死细菌。Fisher 等^[9]通过体内实验验证了氢氧化钙具有良好的抗菌性。除抗菌性能外, 各种盖髓剂与牙髓干细胞(Human Dental Pulp Stem Cells, HDPSCs)的细胞相容性同样值得关注。研究表明, 丁香酚对 HDPSCs 的毒性作用因浓度不同而差异较大^[10], 因时间不同(1 h 到 32 d)而有所不同^[11], 高浓度的丁香酚对细胞均显示出毒性作用。Jun 等^[12]利用氧化锌丁香酚的浸提液培养 HDPSCs, 造成细胞大量死亡, 显示丁香酚有较高的细胞毒性。就同一盖髓剂而言, 虽然细胞毒性的结论类似, 但实验结果因实验条件和方法不同而没有可比性。就不同盖髓剂而言, 其理化性能相差很大, 以往的研究常常在不同条件下仅对其主要成分或有效成分进行的性能研究, 其结论相互之间也没有可比性, 对临床选择盖髓剂缺乏精细的指

导。在相同条件下对不同盖髓剂开展抗菌性和生物相容性研究, 有利于临床依据不同病情选择更为精准的盖髓剂提供依据。

基于此, 本研究针对临床常用的三种盖髓剂, 即齿科氧化锌丁香酚水门汀、自固化氢氧化钙(Dycal)、光固化氢氧化钙(Calcimol), 在相同实验条件下, 系统地表征理化性质, 在相同生物环境下开展抗菌性和生物相容性的对比研究, 探讨了相关作用机理, 为体内实验提供理论依据, 并为盖髓剂的临床选择和牙髓疾病的精准治疗提供支撑。

1 实验方法

1.1 样品制备

实验用盖髓剂样品分别为: 齿科氧化锌丁香酚水门汀(ZnO, 荣祥齿科材料有限责任公司, 上海), 自固化氢氧化钙(Dycal, Dentsply, 美国)以及钙思莫光固化氢氧化钙(Calcimol, Voco, 德国)。三种盖髓剂的成分如表 1 所示。

表 1 三种材料的组成成分
Table 1 Content of the three samples

Sample	Components
ZnO	Zinc oxide powder Eugenol solution
Paste A (13 g)	1,3-butanediol bis(salicylic acid) vinegar
	Zinc oxide
Dycal	Calcium phosphate
	Calcium tungstate
	Iron oxide pigment
	Calcium hydroxide
Paste B (11 g, with catalyst)	<i>N</i> -ethyl- <i>o/p</i> -toluenesulfonamide
	Zinc oxide
	Iron dioxide
	Zinc stearate
	Iron oxide pigment
Calcimol	Urethane dimethacrylate
	Barium aluminosilicate
	Barium sulfonate; Silica
	Triethylene glycol dimethacrylate
	Calcium hydroxide

按照三种盖髓剂的使用说明分别进行混合, 其中 Dycal 需将 A 和 B 两种组分按照 1:1 均匀混合。三种盖髓剂混合后均呈糊状, 然后采用旋涂法 (5000 r/min, 30 s) 将这些盖髓剂分别均匀涂抹于直径为 13 mm 的灭菌玻璃圆片上, 以作后续表征和对比研究。

1.2 表面形貌与成分表征

采用钨灯丝扫描电子显微镜 (SEM, S-3400, Hitachi, Japan) 观察 ZnO、Dycal 和 Calcimol 三种样品的表面形貌。采用能谱仪 (EDS, S-3400, Hitachi, Japan) 分析样品表面元素含量。采用 X 射线衍射仪 (XRD, Rigaku, Japan) 分析样品的成分和晶相, 扫描范围为 5°~80°, 扫描速率为 0.08 (°)/s。

1.3 表面湿润性表征

采用视频接触角仪 (SL200B, 上海梭伦信息科技有限公司) 测量样品接触角。将 ZnO、Dycal 和 Calcimol 分别置于样品台上, 用针头向样品表面滴加 2 μL 超纯水, 液滴在样品表面稳定后, 使用动静态接触角分析系统拍摄样品照片并分析各组样品的接触角大小, 以灭菌玻璃圆片作为对照组。

1.4 离子释放和 pH 表征

采用电感耦合等离子体原子发射光谱 (ICP-AES, JY2000-2, Horiba Jobin Yvon, France) 测定盖髓剂中 Ca 离子和 Zn 离子的释放量。将各组样品浸泡在 10 mL 超纯水中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内, 浸泡 4 h、1 d、4 d、7 d 和 14 d 时分别收集浸提液, 测定其中 Ca 离子和 Zn 离子的浓度。将各组样品放入 24 孔板, 每孔加入 3 mL 超纯水, 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内放置 3 d, 随后使用 pH 计 (FE20-fiveEasyTM, Mettler Toledo, Switerland) 测定各组样品的 pH。

1.5 抗菌性能评价

采用革兰氏阴性大肠杆菌 (*E. coli*, ATCC25922) 和革兰氏阳性金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*, ATCC25923) 评价三种盖髓剂的抗菌性能。细菌悬液稀释至 10⁷ CFU/mL 备用。

1.5.1 细菌活性检测

利用阿尔玛蓝试剂盒蓝 (AlamarBlueTM, AbDserotec Ltd, UK) 检测盖髓剂对两种细菌培养后的活性。将三种盖髓剂样品经紫外照射 2 h 后置于 24 孔板内, 取 60 μL 菌液滴加在样品表面, 维持培养板湿度并置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h, 之后每孔加入阿尔玛蓝试剂 500 μL , 继续培养 2 h 后, 使用酶标仪 (ELX800, Bio-Tek, USA) 检测细菌培养液在 560 nm 波长处激发、590 nm 波长处发射的荧光强度。细菌细胞活性 (Cell viability) 按下式计算:

$$\text{Cell viability} = \frac{\text{FI}_{\text{test}} - \text{FI}_{\text{blank}}}{\text{FI}_{\text{control}} - \text{FI}_{\text{blank}}} \times 100\% \quad (1)$$

其中, FI_{test} 为样品组的荧光强度, FI_{blank} 为空白组的荧光强度, $\text{FI}_{\text{control}}$ 为对照组的荧光强度。

1.5.2 细菌菌落计数

采用细菌菌落计数法表征盖髓剂的抑菌性能。将灭菌样品放置在 24 孔细菌培养板, 表面分别接种 60 μL 浓度为 10⁷ CFU/mL 的细菌并置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h。将样品小心夹出, 放置在灭菌离心管中, 加入生理盐水 4 mL, 用振荡器震荡离心管, 将细菌从样品表面分离出来。将分离的细菌悬液倍比稀释 100 倍, 取 100 μL 稀释菌液滴加于营养琼脂培养皿, 用推棒涂匀, 倒置在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18 h。采用凝胶成像系统 (FluorChem M, ProteinSimple, USA) 对培养后的细菌琼脂培养皿拍照、计数细菌菌落数。

1.5.3 抑菌环测试

测试抑菌环用于分析盖髓剂材料抗菌性来源。将 100 μL 浓度为 10⁷ CFU/mL 的细菌均匀涂抹于营养琼脂板, 随后将各组样品倒扣 (样品的盖髓剂面贴附于琼脂) 在琼脂板中心, 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 18 h。利用凝胶成像系统拍照记录, 测量抑菌环。

1.6 生物相容性评价

1.6.1 细胞相容性测试

采用购买于北京三有利和泽生物科技有限公司的人牙髓干细胞 (HDPHCs) (Cat No.1047D) 对比评价 ZnO、Dycal 和 Calcimol 三种盖髓剂的细胞相容性。细胞培养液为添加 10% 胎牛血清 (FBS, Gibco, USA) 和 1% 青霉素/链霉素混合液 (Hyclone, USA) 的 α -MEM 基础培养液 (Gibco, USA)。细胞培养在含有体积分数 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中进行。

将紫外灭菌处理 2 h 的样品放入 24 孔细胞培养板, 没有旋涂盖髓剂的玻璃圆片作为对照组。使用磷酸缓冲液清洗各组样品后, 每孔滴加密度为 2 \times 10⁴ cell/mL 细胞悬液 1 mL, 培养 3 d 后, 吸去原培养液, 分别加入含有 10% 阿尔玛蓝染液的新鲜培养液, 按阿尔玛蓝试剂盒说明书操作, 采用酶标仪测定细胞培养液在 560 nm 波长处激发、590 nm 波长处发射的荧光强度值。

1.6.2 血液相容性测试

采用上海交通大学附属同仁医院提供的血液进行血液相容性实验。去离子水和生理盐水分别作为阳性对照和阴性对照。各组样品放入 24 孔板并加入 1.5 mL 生理盐水, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内保温 30 min。将 0.5 mL 的生理盐水加入 0.4 mL 血液内并混合均匀。

取稀释后的血液 30 μL 加入样品中继续培养 60 min。对浸提液离心并取上清液, 测试上清液在 545 nm 处吸光度。溶血率(Hemolysis ratio)按下式计算:

$$\text{Hemolysis ratio} = \frac{\text{OD}_{\text{test}} - \text{OD}_{\text{NaCl}}}{\text{OD}_{\text{H}_2\text{O}} - \text{OD}_{\text{NaCl}}} \times 100\% \quad (2)$$

其中, OD_{test} 表示样品组的吸光度, OD_{NaCl} 为生理盐水的吸光度, $\text{OD}_{\text{H}_2\text{O}}$ 为超纯水的吸光度。溶血率越高, 表明血液相容性越差。

1.7 数据统计分析

上述定量实验每组均作 3 个或 3 个以上平行实验, 使用数据统计软件 GraphPad Prism 7 对各组数据进行分析, 结果记录为平均值 \pm 标准差。采用非配对检测方法对数据进行显著性差异分析。 $p < 0.05$ 表示数据存在统计学意义的显著性差异并在统计图上标记为*; $p < 0.01$ 为更显著差异, 标记为**; $p < 0.001$ 为极显著差异, 标记为***。

2 结果与讨论

2.1 表面理化性质

图 1(a)为 ZnO、Dycal 和 Calcimol 旋涂样品的

SEM 形貌照片, EDS 元素含量分析和结果归纳列于图 1(b)。ZnO 表面呈现白色的较光滑形貌, 高放大倍率下呈现相对均匀的纳米颗粒结构, 主要元素组成为 C、O 和 Zn。Dycal 和 Calcimol 表面相对粗糙, 表面形貌相似, 但 Dycal 呈淡黄色, 而 Calcimol 为乳白色。两者均由无规则颗粒构成, 低倍下观察可见, Calcimol 的颗粒大小分布较为均匀, 而高倍下观察可见大量的孔洞结构。从 EDS 元素含量分析结果看, ZnO 样品中主要含 C、O 和 Zn 元素, 其中 Zn 原子分数达到 10.7%; Dycal 和 Calcimol 中均含有大量的 C、O 和 Ca 元素, 但 Dycal 中还含有 2.2% 的 Zn 元素。

图 2 为三种样品的 XRD 图谱。由图谱可见, ZnO 丁香酚水门汀中的 ZnO 高度结晶; Dycal 和 Calcimol 的结晶峰多, 但结晶性不强。Dycal 主要成分为 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 和羟钙石型 $\text{Ca}(\text{OH})_2$, 以及少量的 ZnO; Calcimol 主要结晶相为 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 以及少量 SiO_2 。

图 3(a)为样品基底材料玻璃圆片(对照组)、ZnO、Dycal、和 Calcimol 四组样品的表面接触角测试结果, 表面平均接触角分别为 61° 、 90° 、 75° 和 22° 。这一结果表明, 三种临床常用盖髓剂的接触角

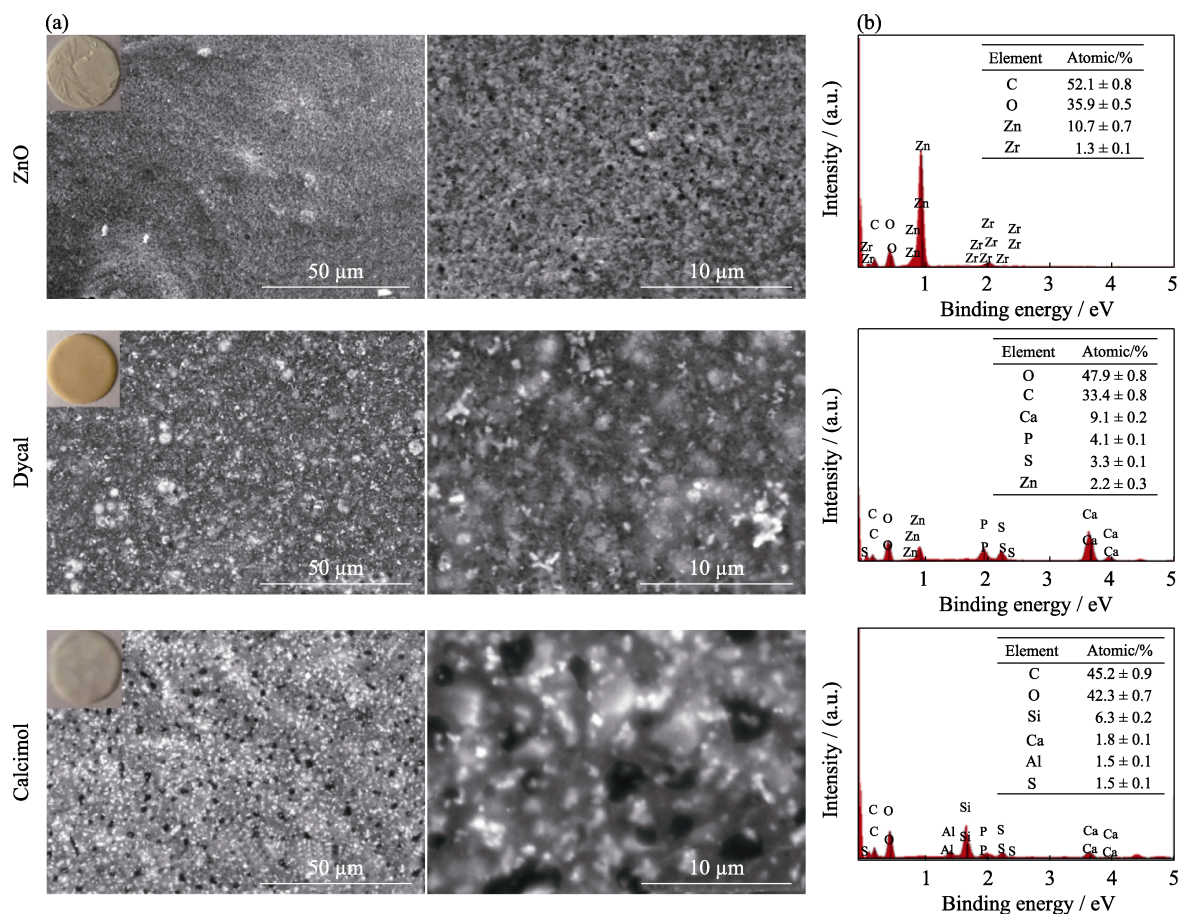


图 1 样品表面形貌的 SEM 照片(a)及其 EDS 能谱分析结果(b)

Fig. 1 SEM images (a) and EDS results (b) of three samples

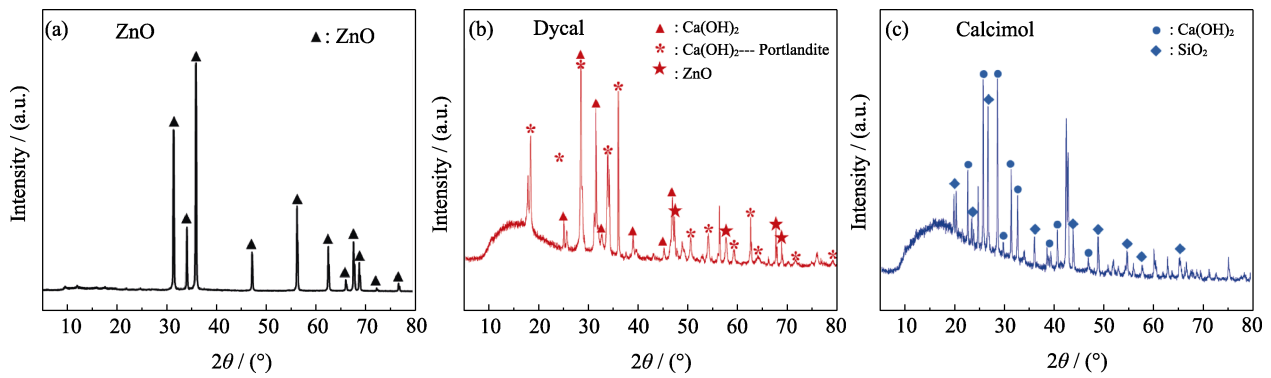


图 2 样品(a) ZnO、(b) Dycal 和(c) Calcimol 的 XRD 图谱
Fig. 2 XRD patterns of (a) ZnO, (b) Dycal and (c) Calcimol

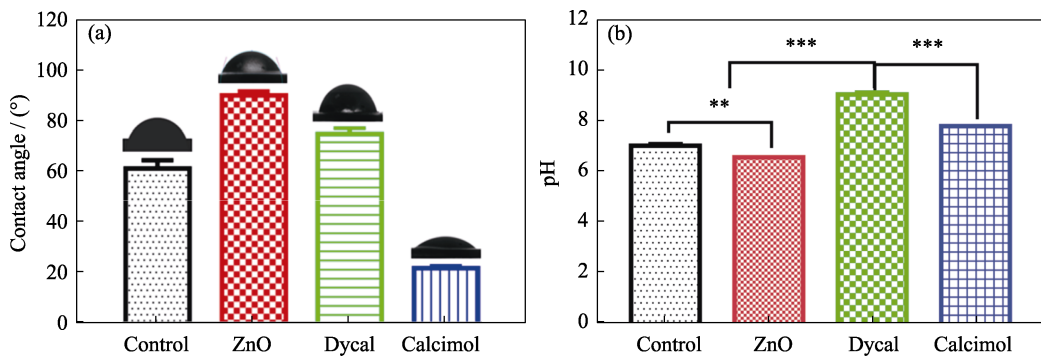


图 3 各组样品的表面接触角(a)和表面溶液的 pH(b)
Fig. 3 (a) Surface contact angles and (b) pH of surface solution of the samples

大小依次为 ZnO>Dycal>Calcimol。尽管 Dycal 和 Calcimol 组成上较为类似, 都含有 Ca(OH)₂, 但其接触角具有较大差异: Calcimol 表面亲水而 Dycal 相对疏水。浸泡于超纯水的各组盖髓剂表面溶液的 pH 如图 3(b)所示。灭菌玻璃圆片的 pH 接近于生理环境, pH ~7.4; ZnO 呈弱酸性, pH 6.66; Dycal 由于含大量的 Ca 元素及 Ca(OH)₂, 其周围呈碱性, pH 9.16; 而 Calcimol 呈弱碱性, pH7.90, 与对照组相比变化不大。

图 4(a)所示为三组样品在超纯水中浸泡 4 h、1 d、4 d、7 d 和 14 d 后的 Ca 离子释放结果。对于 ZnO

样品, 其组分中不含 Ca 元素, 几乎不存在释放的 Ca 离子。对于 Dycal 和 Calcimol 两组样品, Ca 离子释放量随浸泡时间的延长而增加。结合 EDS 和元素含量分析结果可知, 在三个样品中, Dycal 中 Ca 的原子分数最高(9.1%), 其 Ca 离子的释放速率也最快, 特别是在浸泡初期(浸泡时间 1 d 内)Ca 离子的释放速率极快, 例如浸泡 4 h 后其释放量升高到 15 μg/mL; 浸泡时间 1~14 d 期间, 释放速率有所降低, 释放速率基本恒定(释放量随浸泡时间呈线性增长), 浸泡 14 d 后释放的 Ca 离子浓度达 110 μg/mL。另一方面, 由于 Calcimol 样品中 Ca 元素的含量较低

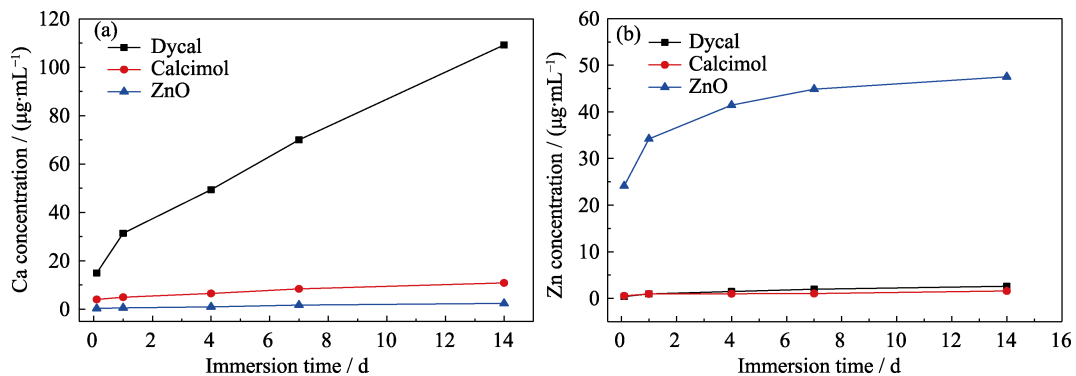


图 4 ZnO、Dycal 和 Calcimol 样品在超纯水中(a)Ca 和(b)Zn 离子释放浓度随时间变化

Fig. 4 Immersion time dependence of (a) Ca and (b) Zn ion amounts in pure water containing ZnO, Dycal and Calcimol

(原子分数仅为 1.8%), Ca 的释放速率较慢, 释放量基本上随时间呈线性增长, 14 d 后的释放总量不足 Dycal 样品的 1/10。就临床实际操作以及组成和形貌结果来说, Calcimol 作为牙髓组织保护材料, 临床操作相对简单, 并且在超纯水中可维持较稳定的状态, 不会出现大量 Ca 离子释放问题, 其生物相容性有更好的保障。另一方面, 适量的 Ca 离子和碱性微环境有利于牙髓干细胞的牙本质分化, 更有利于保存活髓, 诱导牙髓细胞分化形成修复性牙本质^[13]。因此, 三种临床常用盖髓剂中, Dycal 在 Ca 离子释放及其对牙髓的保护和形成修复性牙本质方面更有优势, 但其在临床上呈现多大程度的优势, 还需结合其引起周围酸碱变化程度作综合评价。

三组样品在超纯水中的 Zn 离子释放动力学结果如图 4(b)所示。ZnO 样品的 Zn 元素含量高达 10.7%(图 1(b)), Dycal 样品的 Zn 元素含量也有 2.2%, 两者主要以 ZnO 的形式存在。浸泡在超纯水中, ZnO 盖髓剂可快速释放 Zn 离子, 释放 Zn 离子总量随浸泡时间呈类似抛物线增长, 浸泡 4 h 后溶液中 Zn 离子浓度达到 25 $\mu\text{g/mL}$ 。随着浸泡时间延长, 其释放速率减小, Zn 离子浓度逐渐趋向最大浓度。而 Dycal 样品仅释放少量 Zn 离子, Calcimol 样品几乎没有 Zn 离子释放。文献报道, 适量浓度的 Zn 离子有助于维持较好的细胞相容性, 又可具备较好的抗菌作用, 但释放过量的 Zn 离子反而会降低细胞相容性, 甚至诱导细胞凋亡^[14]。因此, 在平衡细胞相容性和抗菌性方面, ZnO 和 Dycal 两种盖髓剂样品具有潜在优势, 但二者的优势程度和差异仍需抗菌实验来评价。

2.2 抗菌性能

图 5(a)为在各组样品上培养细菌后的细菌活性统计结果。以灭菌玻片上的细菌活性作为基准, 定义为 100%活性, 三种样品上的细菌活性与 100%的差值定义为抗菌效率(Antibacterial effect), 实验获得的抗菌效率平均值列于表 2。AlamarBlueTM 试剂盒测试结果显示, 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的增殖在三组样品中均受到显著抑制, 三组样品均展现出优异的抗菌性能, 具有一定的杀菌作用。其中 ZnO 盖髓剂的抗菌性能最为突出, 这可能与其含有大量 ZnO 而能快速释放大量的 Zn 离子有关。

由图 5(b)可知, 对照组琼脂板上可见大量的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌细菌菌落。然而, ZnO 和 Dycal 样品对应的琼脂板上均未观察到大肠杆菌菌落, Calcimol 样品仅出现极少量菌落。同样, ZnO 和 Dycal 样品对应的琼脂板上未观察到金黄色葡萄球菌菌落, 而 Calcimol 样品对应的琼脂板上则出现

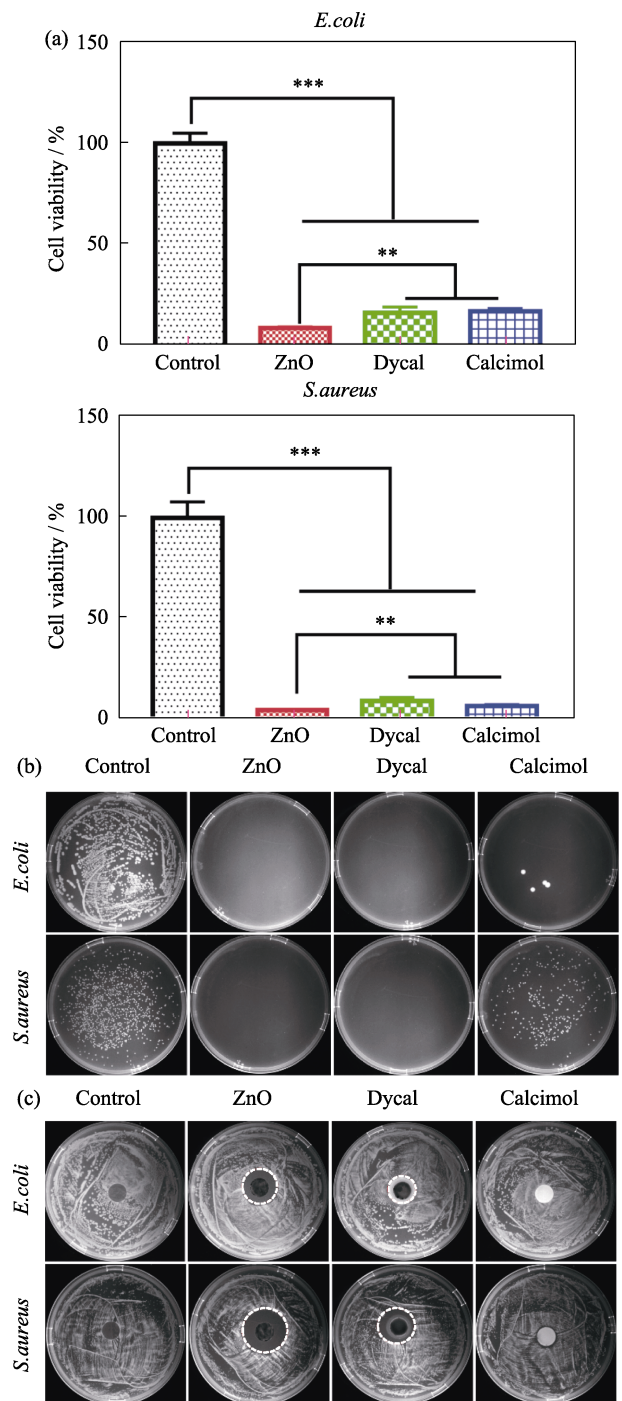


图 5 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌在样品表面培养后的抗菌性能

Fig. 5 Antibacterial ability of all samples on *E. coli* and *S. aureus*

(a) Cell viability; (b) Photos of bacterial colony; (c) Photos of antibacterial ring

少量金黄色葡萄球菌菌落。可见, AlamarBlueTM 试剂盒测试结果与细菌涂板计数结果基本一致。图 5(c)为使用各组样品培养细菌后的抑菌环照片。对照组无抑菌环出现, 而 ZnO 组呈现较大的抑菌环, 进一步证实 ZnO 盖髓剂的抗菌能力, 鉴于 ZnO 样品不显示碱性, 因此该结果也揭示了其抗菌性源自其释放

表 2 三种盖髓剂理化性能及生物学性能比较

Table 2 Comparisons on physicochemical and biological properties of clinical three common pulp capping agents

Property	ZnO	Dycal	Calcimol
Morphology	Smooth surface	Smooth surface	Porous
Element	C, O, Zn	C, O, Ca, Zn	C, O, Ca
Water contact angle	90°	75°	22°
pH	6.66	9.16	7.90
Antibacteria effect/%	92.6	84.5	82.7
HDPSCs activity/%	6.82	44.54	137.87
Hemolysis ratio/%	8.14	0.99	1.42

的 Zn 离子。Dycal 组具有明显的抑菌环, 结合其碱性性能即释放少量 Zn 离子的能力, 说明 Dycal 产生的碱性微环境和释放的少量 Zn 离子共同抑制了细菌的增殖。Calcimol 组未出现抑菌环, 表明其抗菌性能并非来源于离子释放, 可能与其孔洞结构或其他特异性组分有关。

2.3 生物相容性

采用 HDPSCs 和人血液红细胞评价 Dycal、ZnO 和 Calcimol 的细胞相容性。HDPSCs 在对照组和三种临床常用盖髓剂的表面培养 3 d 后的细胞活性检测结果如图 6(a)所示。与对照组相比, ZnO 样品大量释放 Zn 离子导致细胞难以存活, Dycal 对细胞增殖有约 50% 的抑制作用, 这可能与大量释放

Ca 离子而形成较强的碱性微环境有关^[15]。而 Calcimol 可以在一定程度上促进 HDPSCs 的增殖, 这可能与其 Ca 离子释放量少、只引起弱碱性和基本不释放 Zn 离子有关^[16]。

样品的溶血率如图 6(b)所示。以溶血率可以忽略不计的玻片作为对照, ZnO 样品溶血率为 8.14%, 超出临床要求的 5%。Dycal 和 Calcimol 样品的溶血率仅分别为 0.99% 和 1.42%, 较好地满足了临床需求。

3 结论

本研究对三种临床常用盖髓剂 ZnO、Dycal 和 Calcimol 的表面形貌及成份作了分析, 对其体外理化性能作了表征, 并进一步对其体外生物相容性和抗菌性能作了探讨。综合对比本研究获实验数据, 可得出如下结论:

1) 以 ZnO 为主要有效成分的齿科氧化锌丁香酚, 通过持续不断释放 Zn 离子, 表现出优异的抗菌特性, 但释放大量 Zn 离子导致相容性下降而产生细胞毒性;

2) Dycal 和 Calcimol 具有相同的有效成分 Ca(OH)₂ 和相似的表面形貌, 但 Dycal 的 Ca(OH)₂ 含量更高, 释放更多的 Ca 离子, 显示较强的碱性, 同时还释放少量的 Zn 离子; 而 Calcimol 仅表现出较弱的碱性, 导致 Dycal 具有较强的抗菌性, 而 Calcimol 具有较好的细胞相容性。本研究揭示的三种盖髓剂的离子释放、抗菌性、细胞和血液相容性特点, 在龋病和牙髓意外暴露等疾病的临床治疗中对盖髓剂的初步选择具有重要的参考意义。同时, 本研究结果为更精确的临床筛选提供了临床对比实验的依据。

参考文献:

- [1] BJØRNDAL L, SIMON S, TOMSON P L, *et al.* Management of deep caries and the exposed pulp. *International Endodontic Journal*, **52**(7): 949.
- [2] 周学东, 黄定明, 刘建国, 等. 牙髓损伤的活髓保存治疗. *华西口腔医学杂志*, 2017, **35**(4): 339.
- [3] RANLY D M, GARCIA-GODOY F. Current and potential pulp therapies for primary and young permanent teeth. *Journal of Dentistry*, 2000, **28**(3): 153.
- [4] KOMABAYASHI T, COLMENAR D, CVACH N, *et al.* Comprehensive review of current endodontic sealers. *Dental Materials Journal*, 2020, **39**(5): 703.
- [5] SONMEZ D, DURUTURK L. Success rate of calcium hydroxide pulpotomy in primary molars restored with amalgam and stainless steel crowns. *British Dental Journal*, 2010, **208**(9): E18.
- [6] 王子扬, 左恩俊. 生物材料在活髓保存中的应用. *中国组织工程研究*, 2022, **27**(3): 427.

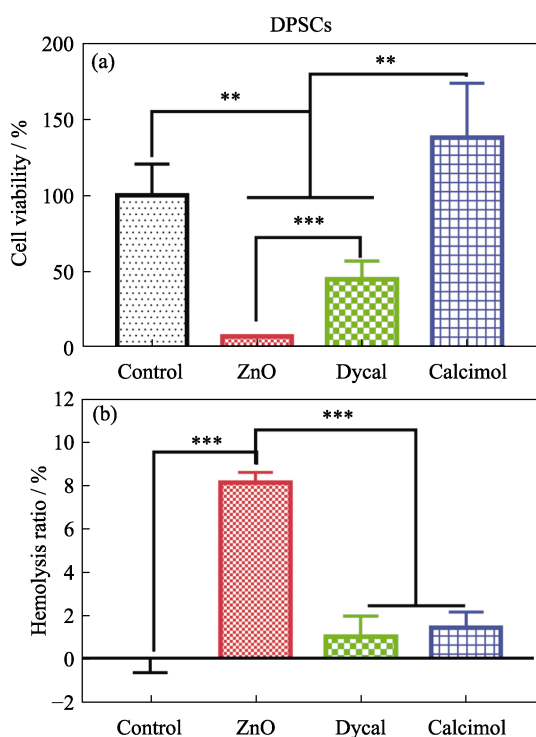


图 6 ZnO, Dycal 和 Calcimol samples 样品的生物相容性
Fig. 6 Biocompatibility of ZnO, Dycal and Calcimol samples
(a) HDPSCs viability; (b) Hemolysis ratio

- [7] LEYE BENOIST F, GAYE NDIAYE F, KANE AW, *et al.* Evaluation of mineral trioxide aggregate (MTA) versus calcium hydroxide cement (Dycal®) in the formation of a dentine bridge: a randomised controlled trial. *International Endodontic Journal*, 2012, **62(1)**: 33.
- [8] APPLEROT G, LIPOVSKY A, DROR R, *et al.* Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline ZnO due to increased ROS-mediated cell injury. *Advanced Functional Materials*, 2009, **19(6)**: 842.
- [9] FISHER F J. The effect of a calcium hydroxide-water paste on micro-organisms in carious dentine. *British Dental Journal*, 1972, **133(1)**: 19.
- [10] GEROSA R, BORIN M, MENEGAZZI G, *et al.* *In vitro* evaluation of the cytotoxicity of pure eugenol. *Journal of Endodontics*, 1996, **22(10)**: 532.
- [11] JENG J H, HAHN L J, LU F J, *et al.* Eugenol triggers different pathobiological effects on human oral mucosal fibroblasts. *Journal of Dental Research*, 1994, **73(5)**: 1050.
- [12] JUN S K, KIM H W, LEE H H, *et al.* Zirconia-incorporated zinc oxide eugenol has improved mechanical properties and cytocompatibility with human dental pulp stem cells. *Dental Materials*, 2018, **34(1)**: 132.
- [13] TAN J, WANG D H, CAO H L, *et al.* Effect of local alkaline microenvironment on the behaviors of bacteria and osteogenic cells. *ACS Applied Materials Interfaces*, 2018, **10(49)**: 42018.
- [14] WANG N, MA Y T, SHI H X, *et al.* Mg-, Zn-, and Fe-based alloys with antibacterial properties as orthopedic implant materials. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, **10**: 888084.
- [15] MIYASHITA H, WORTHINGTON H V, QUALTROUGH A, *et al.* Pulp management for caries in adults: maintaining pulp vitality. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2007, **18(2)**: CD004484.
- [16] BEEGUM M S F, GEORGE S, ANANDARAJ S, *et al.* Comparative evaluation of diffused calcium and hydroxyl ion release from three different indirect pulp capping agents in permanent teeth-an *in vitro* study. *Saudi Dental Journal*, 2021, **33(8)**: 1149.