

龋病与生物电 和自由基

Dental Caries and Bioelectricity or Free Radical

■ 黄力子 主编



第四军医大学出版社

中国国家自然科学基金资助课题成果

龋病与生物电和自由基

Dental Caries and Bioelectricity or Free Radical

主 编

黄力子

编 者

唐 林	王成龙	李振钢
闫 鹏	梁 燕	刘 峰
吴友农	程光宇	徐如生

第四军医大学出版社

内容提要

本书收集了黄力子教授及其研究生唐林、李振钢、王成龙、阎鹏等在国家自然科学基金资助下从事龋病机理研究的成果,汇集研究论文20余篇,并附有关单位实验证实的论文。该研究发现氧化还原电位(Eh)在龋病发病中的作用,证明龋病主要是由于生物电的腐蚀作用,并找到了产生生物电的物质基础——高浓度超氧化物自由基,首次提出并初步证实了龋病发病机理的生物电化学理论。本书适合从事龋病防治的临床工作者及科研人员阅读。

图书在版编目(CIP)数据

龋病与生物电和自由基/黄力子主编. —西安:第四军医大学出版社, 2003.1

ISBN 7-81086-031-3

I. 龋… II. 黄… III. 龋病-致病化学因素-生物电化学-文集; 龋齿-致病化学因素-自由基反应-文集 IV. R781.102-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 103394 号

第四军医大学出版社出版发行

(西安市长乐西路 17 号 邮政编码:710032)

电话:029-3376765(发行部) 029-3376763(总编室)

传真:029-3376764 E-mail:fmmap03@fmmu.edu.cn

人民日报社西安印务中心印刷

★

开本:787×1092 1/16 印张:15 字数:340 千字

2003 年 1 月第 1 版 2003 年 1 月第 1 次印刷

印数:1~1 500 册 定价:39.00 元

ISBN 7-81086-031-3/R·26

(购买本社图书,凡有缺、损、倒、脱页者,本社负责调换)

谨以此书

纪念毕生奉献给牙病预防事业的
恩师姜元川教授、好友汪一鸣教授。

感谢无为不至地关怀我、支持我的
姑母黄碧君老人、爱人徐如生教授。

黄力子

序

丁鸿才

第四军医大学口腔医学院

龋病是人类的常见病、多发病之一,在各种疾病的发病率中,龋病位居前列。但龋病的病因及发病机理至今没有明确的科学结论,因而成为口腔医学领域的世界性难题。姜元川教授和我是 1935 年起在原中央大学牙医系(第四军医大学口腔医学院前身)就读时的同学,1941 年毕业后,他即从事牙病预防的教学科研工作。1958 年他出版了我国第一本《牙病预防学》专著,在龋病病因及发病机理方面提出一种有创见的观点,认为龋病的发生不是单一的原因所致,而是由于多种复杂的因素所引起的,即“多因素论”。此后 2 年,Keyes(1960)提出了龋病病因的“三联因素论”,又过了 18 年,Newbrun(1978)在三联因素的基础上补充了时间因素,提出了“四联因素论”。由此可见,姜元川教授关于龋病研究的学术思想是前瞻的、正确的。要科学地揭示龋病的本质,不仅要分析有关发病因素,还必须搞清发病机理。姜元川教授曾树立雄心壮志,要攻克龋病的顽固堡垒,造福人类。可惜心有余而力不足,受到自然规律的辖制,年渐老而体力衰,终于 1986 年 8 月 8 日因病离世,留下了他美好的宏大愿望,宝贵的学术思想和顽强的拼搏精神。

我国改革开放以来,国家以“科教兴国”为国策。就在姜元川教授逝世 1 年后(1987 年),我校 1952 年级的同学,姜教授的学生黄力子教授获得国家自然科学基金资助专门从事龋病发病机理的研究。在校、院的领导下,在口腔预防医学教研室全体人员的协助下,黄力子带领唐林、李振钢、王成龙、闫鹏四名研究生先后发现了牙齿的氧化还原电位(Eh)在龋病发病中的作用,在实验室用模拟的氧化还原电位制造成电化学人工龋,找到了牙菌斑及龋变组织产生氧化还原电位的物质基础——高浓度超氧化物阴离子自由基,这些实验事实都是过去龋病研究中被忽略了的。在这些实验事实的基础上,黄力子提出了“龋病发病机理的生物电化学理论”,对 1890 年 Miller 提出的“化学细菌学说”进行了修正。最近,赵皿教授的博士生王成龙、李振钢用电子自旋共振法(ESR)发现致龋的主要细菌——变形链球菌的各种血清型,都能在培养中产生大量负氧自由基。遵义市口腔医院梁燕等重复了电化学人工龋的实验,并获得成功。南京师范大学生命科学学院程光宇等比较了电化学人工龋与酸蚀的区别,实验表明:酸蚀可增加牙钙溶出量,但不形成龋洞。通微电流后,钙溶出量较酸蚀增加数倍,且可形成类龋洞。

现代医学是建立在科学实验的基础上的,对于任何医学难题,任何人只要有实验根据,都提出新理论,新观点,进行理论创新,这样才能促进医学难题的解决。就龋病病因及发病机理来说:就曾有过“内源性理论”、“外源性学说”、“多因素论”、“三联因素论”、“四联因素论”、“蛋白溶解学说”、“蛋白溶解—螯合学说”以及 Miller 的“化学细菌学说”,但这些理论都还不能说明龋病

的本质,例如:龋病与酸蚀的病理现象不同,龋病总是起始于牙表面,而沿着釉柱和牙本质小管的方向向牙髓发展,酸蚀则向酸接触的牙表面扩展,而不沿着釉柱和牙本质小管的方向脱矿成洞。由此可见,它们之间必然存在不同的病因和发病机理。单纯用细菌产酸致龋来说明龋病发病机理,显然不够全面。随着现代科学的飞跃进步,生物医学电子工程学、生物电化学以及生物自由基化学迅速进入医学各领域。黄力子继承了老师姜元川教授“博学好问,学得多思,坚持探索,敢于创新”的学风,1980年参加了中国生物医学工程学会成立大会,成为首批会员(现为高级会员),不断向学会理工学方面的国内外专家求教,并担任陕西省生物医学工程学会理事及口腔医学工程专业委员会主任委员,组织了多学科、边缘学科的学术交流会。他常说:“只有跳出口腔科,站在现代科学的前沿,才能解决口腔医学中的难题”。他将生物医学电子工程学、生物电化学、生物自由基化学等新学科的基本理论应用于龋病研究,并根据科学实验提出“龋病发病机理的生物电化学理论”,不能说不是一种创举。这是对姜元川教授学术思想的创新性的继承。当然,新理论肯定还有待更多的实验证实和实践检验,修正错误,不断完善。但作为应用最新科技的理论和技术来研究龋病发病机理这一方向是值得肯定的。

一种学术思想、观点和理论,要取得成功并被科学界广泛承认,往往需要几代人连续不断的努力。我欣喜地发现,我院口腔预防医学教研室,从姜元川教授开始,已经有三代人在攻克龋病堡垒的道路上前进。有这样执着的“愚公”,严重影响人类健康的龋病这座大山,一定会被挖掉。中国毕竟是“愚公”的故乡,应该对人类有所贡献。

目 录

第一篇 龋病发病机理的生物电化学理论的提出

1 龋病发病机理的生物电化学理论及其实验验证	1
2 New Theory of Caries and Its Experimental Verification	7
3 “虫牙”防治新概念,不是“抗酸”是“抗电”	16
4 “防龋抗电”的实际应用	17
5 龋病发病机理的生物电化学理论	18
6 中华医学会第二届全国龋病研讨会会议纪要	23
7 龋病发病机理的生物电化学理论(简报)	24
8 龋病机理的生物电化学理论获得证实	25
9 龋病发病机理的新假说	27
10 龋病病变中的生物电现象初探	32
11 牙冠表面电阻分布与龋病的关系	35
12 离体牙牙冠表面各部位电阻的测量	38
13 活体牙牙冠表面电阻分布与龋病的关系	41
14 龋病是发生在牙齿上的电化学腐蚀	44
15 口腔电化学疾病	47
16 科学发现的方法论在龋病病因学及发病机理研究中的体现	48

第二篇 电化学人工龋模型的建立及其意义

1 电化学人工龋模型(研究生毕业论文)	51
2 用电化学人工龋模型探讨龋病预防原则和措施的实验研究(研究生毕业论文)	83
3 防龋涂膜的应用基础和临床流行病学的研究	116
4 龋病发病机理的生物电化学理论(电化学人工龋模型的实验研究)	125
5 电化学因素对牙齿脱矿的影响	128
6 酸对电化学人工龋形成的影响	130
7 电化学人工龋模型的形成方法	134

8 电化学人工釉质龋和早期光滑面釉质龋组织病理学比较	137
9 牙的自然酸蚀与电化学人工龋的比较	140

第三篇 龋病发病机理与自由基

1 龋病发病机理的生物电化学理论与自由基(研究生毕业论文)	145
2 龋变组织和牙菌斑内自由基含量与牙面氧化还原电位(Eh)关系的实验研究 (研究生毕业论文)	164
3 龋变牙面负电位形成机理的研究	188
4 氧自由基在龋病发病中的作用	191
5 龋坏组织表面负电位及其形成机理的初步探讨	193
6 超氧化物歧化酶对龋变牙面电位影响的临床实验研究	195
7 超氧化物阴离子自由基与龋变牙面电位相关性的临床实验研究	197
8 超氧化物阴离子自由基对菌斑牙面氧化还原电位的影响	199
9 菌斑中超氧化物阴离子自由基的测定	202
10 氧自由基与龋变牙面电位关系的研究	205
11 龋变牙面出现氧化还原电位(Eh)机理的研究	208
12 超氧化物歧化酶对变链菌生长和粘附影响的实验研究	212
13 变形链球菌活性氧代谢规律的初步探讨	216

龋病发病机理的生物电化学理论及其实验验证

黄力子

龋病是人类最常见的疾病,全世界至少有 50%的居民即 25 亿多人患有龋病。历史证明:龋病的发病率随着社会经济文化的发展而上升,发展中国家龋病发病率约在 50%以下,而发达国家龋病发病率高达 90%以上。龋病虽是一种慢性病,不会立即致人死亡,但它能引发很多急性炎症和病灶感染性或免疫性疾病,而且严重破坏人类咀嚼器官,导致消化系统功能减退和疾病发生。据世界卫生组织(WHO)统计,因龋病而消耗的人类卫生资源是惊人的,现已将龋病列为影响人类健康的三大疾病之一^[1]。防止龋病发病率随着全球经济文化的发展而升高,争取人类摆脱龋病的危害,只能寄希望于科学技术的进步,寄希望于人类对龋病病因、机理、发生、发展等一系列客观规律的掌握和运用。

现有的龋病病因和机理的权威理论,还是 1890 年美国 Miller 提出的“化学细菌学说”^[2]。该学说将龋病的病因和机理归纳为:细菌(牙菌斑)分解牙面滞留的糖类食物而产酸(主要为乳酸),酸在牙面停留、扩散、渗透,使牙齿的矿化成份(羟基磷灰石)溶解析出而导致牙齿软化、着色,逐渐形成龋洞。经过 100 多年的发展,虽然该学说在病因方面获得了丰富的分析性资料,发现了致龋的主要细菌——变形链球菌,找到致龋的微环境——牙菌斑,也提出了龋病病因的三联因素论(微生物、宿主、食物)和四联因素论(微生物、宿主、食物、时间),然而,对于这些病因是如何致龋的,仍然只有产酸脱矿一种权威的化学解释,即“酸脱矿论”。1987 年,黄力子用牙齿表面电位测试仪发现了一个重要的临床事实:患者口腔内龋变牙面的电位低于该患牙正常牙面的电位,二者之间出现一个电化学的氧化还原电位(Eh)^[3]。据此,黄力子提出了“龋病发病机理的生物电化学理论”,认为龋病病因致龋的机理,主要是生物电及其电化学腐蚀作用^[4]。他以此为研究课题,获得了国家自然科学基金的资助(基金资助号:3870830)。至今,黄力子带领 4 名研究生对此课题已进行了 11 年的实验验证,获得了 5 个方面的肯定这一龋病新理论的实验事实,现简要综述于下:

一、龋变牙面出现负电位的重复验证

王成龙^[5]用牙齿表面电位测试仪,改进测试方法,按龋坏已成洞,洞底有软龋,但未穿通至牙髓,无牙髓炎症状的标准选择龋病共 106 例,进行测试;并随机选择 34 例健康牙齿,测试同一牙齿不同部位的表面电位差作为对比,结果如表 1-1。

表 1-1 不同牙面间的电位差比较 (单位:mV)

组别	例数	$\bar{x}\pm s$	t	p
龋坏牙面与健康牙面	106	-126.77±67.29	10.311	<0.01
健康牙面与健康牙面	34	-6.15±13.38		

实验事实证明,龋变牙面出现负电位不是一种偶然现象,而是龋变的特征之一。106 例龋变牙面无一例外均为负电位,而健康牙面之间只有或正或负的微弱的电位差,与龋变牙面的电位变化相差极显著。这一事实此后由闫鹏等^[6]的实验多次重复获得验证。

二、电化学人工龋模型的建立

龋变牙面出现负电位这一客观现象,必然有存在的客观原因。酸脱矿论把酸的脱矿作用当作龋病发病的唯一机理,其实验根据之一是 20 世纪 60 年代众多学者研究的化学人工龋模型。将离体牙表面用指甲油之类的保护剂涂布,防止酸的浸蚀,只留下一个小的开窗区不涂保护剂,然后将此离体牙浸泡入 $\text{pH}=4.0$ 的含乳酸的脱矿液中,7 天后,离体牙的开窗区即可出现化学人工龋。但是这种化学人工龋肉眼只能看到局部稍呈白垩色,并不能形成龋洞。只是因为它在显微镜下可观察到釉质早期龋所具有的表层及表层下脱矿的特点,很多学者判定它可以证实酸脱矿论。然而,近年有学者证明^[7]:将其它渗透性固体(天然或人工合成的磷灰石)浸入 $\text{pH}=4.0$ 的致龋液中,这些固体的表面也出现釉质早期龋所具有的表层及表层下脱矿现象。由此,人们开始怀疑化学人工龋模型能否说明龋病形成的机理。加之,自然龋的重要特点之一是在牙面形成朝向牙髓方向的龋洞,并且不断加深,直至穿通到牙髓。化学人工龋不可能形成从釉质到达牙本质的类龋洞,因此它与天然龋有本质上的区别。20 世纪 90 年代以来,已经很难找到有关化学人工龋的有价值的文献。用酸不能制造出与临床类似的龋洞,说明龋病的发病机理、龋洞的形成不能完全归结于酸的脱矿作用,必然还有其它因素的作用。生物电及其电化学腐蚀作用,很可能在龋病发生和龋洞形成过程中起重要作用,人们可能用电化学的方法在实验室制造出更加类似临床龋病的电化学人工龋模型。唐林用电解池在离体牙上制造成了电化学人工龋模型,证实了这一设想^[8,9]。

唐林将离体牙用指甲油涂布,只在牙面的颊侧和舌侧中央各留一个开窗区,然后将此实验牙固定于电解池的中隔上,中隔将电解池等分为左右两室互不交通,实验牙的两个开窗区分别在左右两室。对两根细铂金丝周围作绝缘处理,只留两尖端导电,分别插入左室和右室紧密接触实验牙的开窗区。两根铂电极的外端随机分别接直流稳压电源的正、负极。接外电源正极的一室成为电解池的阳极室;接外电源负极的一室成为电解池的阴极室。在两室内加入相同的电解液。如此装置完成后,接通外电源,保持 6V 稳压,电解池内即有电流通过,根据牙齿电阻值大小不同,电流从数十到数百微安不等。实验 7 天后阳极室的开窗区牙面即形成肉眼可见的深达牙本质的类龋沟,与临床所见龋洞一样。显微镜及电镜观察病理改变也与自然龋相似。与此相反,阴极室的开窗区牙面没有显著变化,更不形成类龋洞。这一实验结果并不随着电解液的变化而出现明显变化。最初使用 $\text{pH}=4.0$ 的化学人工龋脱矿液作为电解液,以后改用 $\text{pH}=7.0$ 的 0.1M 氯化钾溶液作为电解液,都在阳极牙面形成了类龋洞。稍有不同的是用 $\text{pH}=4.0$ 的脱矿液作电解液时,阴极牙面出现轻微脱矿的白垩色,但不形成类龋洞;而用氯化钾溶液作电解液时,阴极牙面无任何肉眼可见的变化^[10]。

李振钢用以上同样方法,以生理盐水作电解液进行了电化学人工龋模型的实验,获得了相同的结果。他在实验中还定时测量通过电解池的电量和阳极室电解液内的 Ca 、 P 含量,发现从阳极牙面析出的 Ca 、 P 量与通过电解池的电量呈正相关,相关系数分别为 0.842 和 0.767。由此可以看出,电化学人工龋模型的实验,基本符合电化学的法拉第定律^[11]。

以上实验结果至少可以提醒人们:酸脱矿不一定是龋病形成的唯一机理,生物电及其电化学腐蚀作用可能在龋病发病机理中起重要作用。

三、龋变牙面出现氧化还原电位的组织病理学基础

王成龙^[12]对临床上出现负电位的 24 例龋洞,按龋病充填术治疗的要求去龋处理,然后再用

相同方法测量其电位。他发现去除龋变组织后,局部的负电位极显著地减小,基本达到健康牙面的电位水平,结果见表 1-2。

表 1-2 龋变组织去除前后的氧化还原电位变化 (单位:mV)

组别	例数	$\bar{x}\pm s$	t	p
去除前	24	-138.70±63.83	10.471	<0.01
去除后	24	-4.98±15.87		

实验说明:龋变组织的存在是龋变牙面出现氧化还原负电位的组织病理学基础。

四、龋变牙面出现氧化还原电位的物质基础。

王成龙用化学发光法间接检测了氧化还原电位为负的 19 例龋变组织及患者唾液。化学发光是利用化学发光剂 Luminol 与超氧化物阴离子自由基反应,使之激活,当它返回基态时就向外发光,利用发光光度计可进行计数。超氧化物歧化酶(SOD)能特异地抑制超氧化物阴离子自由基,故能抑制 Luminol 的发光。对检测样品先加 Luminol 测定其发光值,然后加 SOD+Luminol 再次测定其发光值,两个发光值的差值表明检测样品内超氧化物阴离子自由基的含量。检测结果证明:龋坏组织含有比唾液高出近 100 倍的超氧化物阴离子自由基,相差显著^[9]。见表 1-3、表 1-4

表 1-3 19 例龋变组织和唾液的发光值 (单位:发光值/s.mg)

组别	龋变组织			唾液		
	$\bar{x}\pm s$	t	p	$\bar{x}\pm s$	t	p
加 Lumenol	17.40±28.26	2.47	<0.05	0.26±0.16	2.75	<0.01
加 SOD+Lumenol	1.77±1.91			0.13±0.04		

表 1-4 SOD 抑制发光值的比较 (单位:发光值/s.mg)

组别	$\bar{x}\pm s$	t	p
龋变组织	15.64±26.85 ^①	2.09	<0.05
唾 液	0.17±0.17		

①由表 1-3 中 $\Sigma[L \text{ 组}-(SOD+L \text{ 组})]/19$ 演算而得

闫鹏^[6,13]为了确证龋变组织内的超氧化物阴离子自由基与氧化还原负电位的关系,进行了有意义的临床实验。选择 40 例患者,每例选 1 个龋洞。先用牙齿表面电位测试仪测定记录其电位作为对照,不间断测量,在龋洞内滴入 0.05 ml 生理盐水,测定记录电位变化。此后,再在龋洞内滴入 0.05ml SOD 生理盐水稀释液,测定记录电位变化。对 3 组电位值进行统计分析如表 1-5。

表 1-5 生理盐水及 SOD 对龋变牙面氧化还原电位的影响

(单位:mV)

组别	例数	$\bar{x} \pm s$	相差情况
对照组	40	-177.64 \pm 50.19	*
加生理盐水组	40	-170.33 \pm 49.17	**
加 SOD 组	40	-88.87 \pm 40.81	***

* 对照组与生理盐水组之间相差不显著, $P>0.05$ ** 生理盐水组与 SOD 组之间相差极显著, $P<0.01$ *** 对照组与 SOD 组之间相差极显著, $P<0.01$

以上两个实验,不仅证实了龋变组织内含有高浓度超氧化物阴离子自由基,而且证实了用 SOD 去除部分自由基,即可使龋变牙面负电位极显著减小。由此得出的初步结论是:超氧化物阴离子自由基是龋变牙面出现氧化还原负电位的主要物质基础。

五、龋变组织含有高浓度自由基,龋变牙面出现氧化还原电位,这些是龋病发展的结果?还是龋病发生的原因?

牙菌斑是发生龋病的微环境,也是各种致龋因素(微生物、宿主、食物、时间)综合作用的集中表现。没有牙菌斑就不会发生龋病。国外学者在研究牙菌斑时,早已发现随着牙菌斑的生长、发育和成熟,原来是正电位的牙面会逐渐变负,4 天后牙面电位可达 -100mV,7 天后接近 -150mV^[12]。但是他们只是把这种电位变化当作牙菌斑发育和成熟的一个观察指标,并未深究牙菌斑引起牙面电位变化的机理,更未把它与龋病的发病机理联系起来。

龋病发病机理的生物电化学理论的提出,以及上述一系列实验验证,很自然地使我们设想主要由致龋菌组成的牙菌斑,不仅能产酸,而且在氧化酵解糖产酸的生化过程中也能产生大量自由基,引起菌斑牙面的氧化还原电位降低,在口腔内形成原电池,产生通过牙齿的生物电子流,并随着这种生物电子流沿着菌斑牙面朝向牙髓的流动而沿途发生电化学腐蚀作用。这个过程可能就是龋病发生的主要机理。

为了证实这一设想,闫鹏^[13]对 114 名志愿者的牙菌斑进行了研究。他首先应用化学发光法检测了 31 名志愿者牙菌斑内和该志愿者唾液内的超氧化物阴离子自由基的浓度,获得表 1-6、1-7 的结果。

表 1-6 31 名志愿者牙菌斑和唾液的发光值

(单位:发光值/s.mg)

组别	牙菌斑			唾液		
	$\bar{x} \pm s$	t	p	$\bar{x} \pm s$	t	p
加 Lumenol	34.29 \pm 31.76	5.651	<0.001	3.85 \pm 1.18	2.421	<0.05
加 SOD+Lumenol	5.04 \pm 5.40			3.24 \pm 0.88		

表 1-7 SOD 抑制发光值的比较

(单位:发光值/s.mg)

组别	$\bar{x} \pm s$ ②	t	p
牙菌斑	29.01 \pm 2.73	5.625	<0.001
唾 液	0.36 \pm 0.08		

②由表 1-6 中 $\Sigma[L \text{ 组}-(SOD+L \text{ 组})]/31$ 演算而得

表 1-6、1-7 显示的结果与表 1-3、表 1-4 的结果十分相似,说明早在龋病发生之前,作为致龋因素综合作用集中表现或龋病前期症状的牙菌斑中,已经有了高浓度自由基堆集的现象。因此,高浓度自由基不是龋病发展的结果,而很可能是龋病发生的原因。

闫鹏为了研究牙菌斑、自由基和氧化还原电位的关系还进行了两个临床实验。

临床实验 1 选用 53 名志愿者,选择经过洁治确认无菌斑的健康牙唇颊侧光滑面作为实验牙面。嘱正常饮食,但不刷牙,待牙菌斑自然生长 7 天后,测定记录菌斑牙面的电位。然后机械刮除菌斑,使菌斑牙面成为去菌斑牙面,再测定记录原测试点的电位,结果如表 1-8。

表 1-8 菌斑牙面与去菌斑牙面氧化还原电位的比较

(单位:mV)

组别	例数	$\bar{x} \pm s$	t	P
菌斑牙面	53	-111.08 \pm 78.19	11.92	<0.001
去菌斑牙面	53	-43.25 \pm 37.91		

本实验说明,同一牙面随着菌斑的机械刮除,其负电位即极显著地减小。证明负电位与菌斑密切相关。

临床实验 2 选用 30 名志愿者,处理如临床实验 1。7 天后测定记录菌斑牙面电位后,不间断测量,先后在菌斑牙面上滴 0.05 ml 生理盐水和同体积 SOD 生理盐水液,分别测定记录这两个时段的电位,进行统计分析。结果如表 1-9。

表 1-9 生理盐水及 SOD 对菌斑牙面氧化还原电位的影响

(单位:mV)

组别	例数	$\bar{x} \pm s$	相差情况
对照组	30	-141.97 \pm 62.97	*
加生理盐水组	30	-122.87 \pm 56.03	**
加 SOD 组	30	-54.87 \pm 30.82	***

* 对照组与生理盐水组之间相差显著, $P > 0.05$ ** 生理盐水组与 SOD 组之间相差极显著, $P < 0.01$ *** 对照组与 SOD 组之间相差极显著, $P < 0.01$

本实验说明,和龋病组织一样,用 SOD 去除菌斑内部分自由基,即可使菌斑牙面的负电位显著减小。由此可得出的初步结论是:超氧化物阴离子自由基不仅是龋变牙面出现氧化还原负电位的主要物质基础,而且也是菌斑牙面出现氧化还原负电位的主要物质基础。

综合闫鹏的实验研究结果,可以看出:在早于龋病出现的牙菌斑中,已经有了高浓度自由基堆集,这种自由基堆集可以引起牙面出现氧化还原负电位。众所周知,出现氧化还原负电位表明该局部已成为口腔原电池的氧化极或阳极,它有极强的氧化腐蚀作用,即电化学腐蚀作用^[14]。这

种腐蚀作用的特点是能释放电子,形成电子流,腐蚀作用随着电子流流动的方向进行。菌斑牙面作为原电池的阳极,可以产生起始于菌斑牙面的电子流,朝向电位较高的牙髓及身体其它部位流动,如是出现了起始于牙齿表面、朝向牙髓的、进行性、局限性的脱矿破坏,逐渐形成龋洞。现有的事实说明:高浓度自由基和氧化还原负电位是龋病发生和继续发展的原因,龋病只是这一原因造成的结果。

结 语 龋病发病机理的生物电化学理论的提出和实验验证工作已有 12 年历史,虽然已取得了比较完整的系列实验验证,但还有不少理论问题等待深入研究,新理论在防治方面的实际应用则有更广泛的课题和前景。现在可以说,人类在攻克龋病这个堡垒的战斗中有了一个新的突破口,应该有更多的同行参加到这个新突破口扩大战果的战斗中来,有不少发现和发明正在等待着我们。在结束本文时,再向大家报告一个好消息,博士生王成龙、李振钢已经用电子自旋共振法(ESR)发现了致龋的主要细菌—变形链球菌的各血清型,都能在培养生长过程中产生大量自由基。希望同行们不要囿于“酸脱矿”的习惯性思维,无论如何,我们是生活在科学技术已经有了极大提高的 20 世纪末,即将进入 21 世纪,要将更多的现代科学技术应用到龋病研究领域来,要有当代人的创新精神。

——本文发表于《科学中国人》1999 年 1 期 38 页,摘要发表于《现代口腔医学杂志》,1999;13:207

参考文献

- 1 孙宝凤. 我国口腔预防医学发展的一个里程碑. 现代口腔预防医学研究. 西安: 陕西科技出版社, 1996: 9~12
- 2 Hillam C. The roots of dentistry. The Historical Society of the British Dental Association London. 1990: 2~4
- 3 黄力子. 龋病病变中的生物电现象初探. 中华口腔医学杂志, 1993; 28(5): 297~299
- 4 黄力子、徐如生. 龋病是发生在牙齿上的电化学腐蚀. 《科学》(Scientific American, Chinese Edition), 1995; (7): 52~54
- 5 王成龙. 龋病发病机理的生物电化学理论与自由基. 西安: 第四军医大学学位论文, 1997; 23~35
- 6 闫鹏, 黄力子, 王成龙等. 超氧化物阴离子自由基对龋变牙面电位影响的临床实验. 华西口腔医学杂志, 1998; 16(3): 284~285
- 7 Anderson P. & Elliott JC. Subsurface demineralization in dentel enamel and other permeable solids during acid dissolution. J Dent Res, 1992; 71(8): 1473~1481
- 8 黄力子, 唐林, 徐如生等. 龋病发病机理的生物电化学理论(电化学人工龋模型的实验研究). 中华口腔医学杂志, 1997; 32(1): 34~36
- 9 唐林, 黄力子, 江友福等. 电化学人工龋模型的形成方法. 现代口腔医学杂志, 1998; 12(4): 254~256
- 10 唐林, 黄力子, 江友福等. 酸对电化学人工龋形成的影响. 现代口腔医学杂志, 1998; 12(3): 173~175
- 11 李振钢. 用电化学人工龋模型探讨龋病预防原则和措施的实验研究. 西安: 第四军医大学学位论文, 1997; 39~42
- 12 张举之主编. 口腔内科学. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 17~19
- 13 闫鹏. 龋变组织和牙菌斑内自由基含量与牙面氧化还原电位(Eh)关系的实验研究. 西安: 第四军医大学学位论文, 1998: 27~41
- 14 李获主编. 电化学原理. 北京: 北京航空航天大学出版社, 1989: 105~107

New Theory of Caries and Its Experimental Verification

Lizi Huang Chenglong Wang

Dental caries is one of the most common human diseases. At least 50% of the population of whole the world, that is, 25 hundred million, are suffering from caries. The morbidity of caries increases with the development of the economy and culture of society. The prevalence rate of caries in developing countries is less than 50%; but that in developed countries is more than 90%. Although caries is a kind of chronic disease and cannot cause death immediately, it can give rise to acute inflammation and focal infections or immunological disease. In the meantime, it seriously destroys the masticator, decreases the function of the digestive system and causes the disease of the system. According to the statistics of WHO, the depletion of human hygienic resources due to caries is astonishing. Caries is listed as one of the top three diseases which influence the human health^[1]. To prevent the rise of caries incidence along with the development of economy and culture of the whole world, and to strive for protecting human from the harm of caries, we only hope to develop scientific technology, investigate the systematic objective mechanisms of the caries, and make good use of mechanisms.

The authoritative theory available for the pathogenesis and other mechanisms of caries is still the "chemico-bacteria theory" ^[2] developed by Miller, an American, in 1890. That theory summarized the pathogenesis and mechanisms of caries as follows: bacteria (plaque) dissolve carbohydrate, which was held up on the tooth surface; acid (mainly lactose) forms; the detainment, diffuseness and osmosis of the acid on the tooth surface dissolve the mineralized elements (hydroxyapatite) to soften and stain the tooth; gradually the carious hole forms. More than 100 years has passed, although this theory has had plenty of materials to support, discovery of the main cariogenic bacteria—streptococcus mutans and the cariogenic microenvironment—plaque has suggested the theory of three related factors about the pathogenesis of caries (bacteria, host, food) and the theory of four related factors (bacteria, host, food, time). But, how these factors causing caries was explained only by "Acid demineralization theory". In 1987, Dr. Huang LZ used a tooth surface electrical potential detector and discovered an important clinical fact. The electrical potential at the tooth surface with caries was lower than that at the normal tooth surface. These was an oxidation-reduction potential (Eh) of electrochemistry between the potentials of these two tooth surfaces^[3]. From this, Huang LZ advanced "Bio-electrochemical theory of pathogenic mechanism of caries", which meant that the pathogenic mechanism of caries mainly involved the bio-electricity and the effect of its electrochemical corrosion^[4]. His study about the topic of this theory got the support from Chinese National Natural Science Foundation. From that time, he led 4 graduates spending 11 years to verify this theory, and obtained 5 experimental facts to support and verify it. They were briefly as follows.

1 Repeatedly verifying the appearance of negative electrical potential (NEP) at the tooth surface with carious changes.

Wang CL^[5] used the tooth surface electrical potential detector and promoted its examining method. There were 106 patients with caries, soft carious tissue at the bottom of the carious hole, but with no penetration to the pulp and no evidence of pulpitis. With 34 subjects (no caries) as control. The purpose was to examine the electrical potential difference at the different parts of the same tooth. The results are shown in Table 1-10.

Table 1-10 Comparison of electrical potential difference
between different teeth surfaces

Group	no. of cases	$\bar{x} \pm s$	(mV)	
			t	p
Difference between tooth surface of caries and of normal	106	-126.77±67.29	10.311	<0.01
Difference between normal tooth surfaces	34	-6.15±13.38		

This experiment verified that the appearance of NEP at the carious tooth surface was not an accidental phenomenon, but was one of the characteristics of caries. In the 106 cases of carious changes, their tooth surfaces were, no exception, NEP; in the opposite, at the tooth surfaces of normal, there was no markable difference between the positive and the negative electrical potential. But there was a statistically significant difference of electrical potential between carious tooth surface and normal one. Later on, experiments performed by Yan P et al. repeatedly verified this fact several times^[6].

2 Establishing the electrochemical artificial caries model.

Appearance of NEP at the tooth surface with carious changes was an objective phenomenon, having its objective causes. Acid demineralization theory considered the demineralization by acid was the only pathogenic mechanism of caries. One of its experimental bases was the chemical artificial caries (CAR) model studied by many scientists in the 1960. The protector was the smeared finger-nail oil on the tooth surface except for a small window area in vitro. The extracted teeth were dipped in demineralization solution containing lactose, pH=4.0, 7 days later. CAR appeared at that window area, but only local chalk-like layer could be seen by the naked eye, no carious holes. Only because of the demineralization at the superficial layer and its underneath, the characteristics of the early stage enamel caries could be seen microscopically. Many scientists judged that this phenomenon could verify the acid demineralization theory. But recently many scientists, like Anderson P et al^[7], verified that other osmotic solids (natural or artificial combined apatite), when soaked into a pH=4.0 cariogenic solution, also developed such a chalk phenomenon on the surface of the solids. So the public began to doubt about whether the CAR model could explain the pathogenic mechanism of caries. Moreover, one of the important characteristics of natural caries, was the formation of carious holes on the tooth surface, which faced the pulp, gradually deepening until penetrating

into the pulp. CAR could not produce such an analogous carious hole from the enamel to dentin, therefore there was an essential difference between CAR and a natural one. From the 1990's, it was very difficult to search out worthwhile references about CAR. The acid could not produce a hole similar to the clinical carious hole. Which indicated that the pathogenic mechanism of caries and the formation of carious holes could not be wholly summarized as the demineralization by the acid. There were inevitably some effects of other factors. The involved bio-electricity and the effect of its electrochemical corrosion most probably played an important role in the pathogenesis of caries and in the formation of carious holes. The public could possibly use an electrochemical method in the laboratory to make an electrochemical artificial caries model (ECACM), which was more similar to the clinical caries. Tang L performed the ECACM on the tooth in vitro by the use of electrolytic cell, and verified this hypothesis of the public^[8,9].

Tang L smeared the tooth in vitro with the finger-nail oil except for each window area on the ental buccal and lingual surfaces and then fixed this experimental tooth on the septum of the electrolytic cell. This septum separated the electrolytic cell into two separated rooms, left and right. These two window areas, respectively, were in two rooms. The two thin platinum wires were insulated except for the two ends that still conducted. These two ends of the wires were inserted into two different rooms respectively, and were close to the windows of the experimental tooth. These two ends of the wires were randomly connected to the anode or cathode of the power with a stable voltage of the direct electric current. The room having the end of the wire connect to the anode was the positive electrode (anode) room of the electrolytic cell, the other was the cathode room. These two rooms were filled with the same electrolyte. The stable voltage at 6V was maintained with an electric current passing through the electrolytic cell, according to the different amount of resistance of the different tooth. At first, a CAR demineralization solution, pH=4.0, was used as an electrolyte, and later on 0.1M KCl solution, pH=7.0, was used as electrolyte. All had the results as the same that obtained on 7th day. There was only difference of chalk appearing on the tooth surface of the window area at the cathode room but no hole at pH=4.0 electrolyte. No naked-eye-seen changes were present in the KCl solution^[10].

Lee ZG used the same method, and only used normal solution as electrolyte, the same results were obtained. In his experiment, at the different regular times, the value of the electric current passing through the electrolytic cell and the amount of Ca, P in the electrolyte of the anode room were detected.

In cathode room, no hole was formed (Fig.2). There was a positive correlation between the electrical potential and the amount of ions. Correlation coefficients were 0.842 and 0.767 respectively. It indicated that experiments of ECACM accorded basically with Faraday's Law of electrochemistry^[11].

All the above experimental results, at least, told us that demineralization by the acid perhaps was not the only mechanism in the formation of caries. The bio-electricity and the