

2 型糖尿病伴牙周病患者牙周干预后龈下菌斑中牙周致病菌的比较分析

韦 艺, 周 嫣, 刘红燕, 刘 斐, 陈 燕, 欧晓丽, 卢其芳

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:2010GXNSFA013229)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院口腔科(韦 艺, 周 嫣, 陈 燕, 欧晓丽, 卢其芳), 内分泌代谢科(刘红燕), 科研实验中心(刘 斐)

作者简介: 韦 艺(1981-), 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 牙周病学。E-mail: beckweiwei@126.com

通讯作者: 周 嫣(1960-), 女, 医学硕士, 主任医师, 研究方向: 口腔疾病与全身健康的临床研究。E-mail: zhouyan-517@yahoo.com.cn

[摘要] **目的** 观察 2 型糖尿病伴牙周病患者牙周干预后临床指标的变化和龈下菌斑中牙龈卟啉单胞菌(Pg)的检出量变化, 初步探讨龈下微生物的检出量与牙周干预疗效之间的关系。**方法** 根据随机数字表将确诊为 2 型糖尿病并伴有牙周病的患者分为实验组和对照组, 记录牙周指数。实验组进行牙周干预并取龈下菌斑检测, 对照组仅取龈下菌斑进行检测。6 个月后复查。观察临床指标和牙龈卟啉单胞菌检出量的变化。**结果** 基线时两组的临床指标和 Pg 检出量比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05), 6 个月时, 实验组临床指标值较对照组显著降低($P < 0.01$), Pg 检出量降低, 但与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。经过牙周干预治疗后, 实验组出血指数(SBI)和附着丧失(AL)值均减小, SBI 和 AL 值变化差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 而对照组基线和 6 个月的临床指标值变化差异均无统计学意义。两组 Pg 的 PCR 定量检测结果在基线和 6 个月时变化差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 牙周干预治疗对改善牙周指数有良好效果, 但是难以彻底清除牙周致病菌。

[关键词] 2 型糖尿病; 牙周病; 牙龈卟啉单胞菌; PCR

[中图分类号] R 58 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)01-0011-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.01.04

Quantitative detection of periodontal pathogens in periodontitis patients with type 2 diabetes following basal periodontal treatment WEI Yi, ZHOU Yan, LIU Hong-yan, et al. Department of Stomatology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To detect the changes of the levels of porphomonas gingivalis(Pg) and clinical index and to investigate the relationship between the bacterial load and the periodontal status. **Methods** Periodontitis patients with type 2 diabetes were randomly divided into experimental group and control group. Clinical index were examined and subgingival plaques were collected before and 6 months after basal periodontal treatment in experimental group; Clinical index were examined and subgingival plaques were collected before and 6 months without any treatment in control group. **Results** Sulcus bleeding index(SBI) and attachment loss(AL) were significantly decreased in experimental group after 6 months($P < 0.01$), but SBI and AL were no significantly differences before and 6 months in control group($P < 0.05$). The numbers of Pg were no significantly differences before and 6 months in both two groups. **Conclusion** There were good curative effect of basal periodontal treatment in improving clinical index, but it is difficult to remove periodontal pathogens thoroughly.

[Key words] Type 2 diabetes; Periodontitis; Porphyromonas gingivalis(Pg); Polymerase chain reaction (PCR)

糖尿病是与遗传、自身免疫和环境等多因素相关的全身慢性代谢性疾病。糖尿病及并发症已成为

威胁人类健康的世界性公共卫生问题, 其中 2 型糖尿病占糖尿病发病率的 90% 以上。牙周病是危害

人类口腔健康的三大口腔疾病之一,其发病率高达60%~70%。研究表明,糖尿病人群中牙周病的发病率增高,病变程度重且病情发展迅速,已经被列为糖尿病的第六大并发症^[1]。大量的研究表明,糖尿病可以加重牙周病病情,血糖增高可以增加慢性牙周炎的发病风险,血糖的良好控制有利于牙周病的控制和牙周组织修复^[2],而牙周炎的治疗,又会对糖尿病的血糖控制有潜在效果,甚至有文献报道彻底有效的牙周治疗,可以减少患者对胰岛素的需要量。本研究通过观察2型糖尿病伴牙周病患者牙周干预治疗前后牙周指数、龈下菌斑中牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, Pg)的变化,初步探讨2型糖尿病伴牙周病患者龈下细菌的检出量与牙周干预疗效之间的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择2012-04~2013-08在我院内分泌代谢科和口腔科确诊的2型糖尿病伴慢性牙周病患者106例为研究对象,其中男性52例,女性54例,年龄40~74岁,平均59岁。糖尿病按照1999年WHO制定的糖尿病诊断及分型标准进行诊断。所有研究对象均知情同意后进行研究。纳入标准:有明显的菌斑、牙石及局部刺激因素;牙龈有炎症;牙周袋深度(PD)≥4 mm,附着丧失程度(AL)≥1 mm;全口余留牙数量≥15颗。排除标准:侵袭性牙周炎;有全身系统性疾病;妊娠期妇女;近1个月内使用过抗生素或近3个月内接受过牙周治疗者。

1.2 研究方法 所有纳入对象按随机数字表分为实验组和对照组,两组患者均进行全口牙周检查,并行口腔卫生知识宣教及正确刷牙指导。按照WHO制定的口腔健康调查基本方法^[3],使用Williams探针,探诊力度25 g,所有检查均由经过统一培训的医生完成。选择6个指数牙最严重的位点作为检测位点,记录临床指标,包括牙龈指数(GI)、菌斑指数(PLI)、出血指数(SBI)、AL,并采集龈下菌斑:先用无菌生理盐水含漱去除牙面软垢,棉卷隔湿以免唾液污染,用无菌刮匙刮除龈上菌斑,再使用无菌Gracey刮治器尽可能刮取全部的龈下菌斑,采集的菌斑标本立即转入含有1 ml灭菌的硫乙醇酸盐溶液的EP管中,-20℃保存待用。实验组行龈上洁治术,1周后复查行龈下刮治和根面平整术;对照组不进行牙周治疗。6个月后实验组复诊患者30例,对照组复诊患者26例,再次取龈下菌斑样本和记录临床指标。龈下菌斑中的牙龈卟啉单胞菌检测采用

TaqMan 探针荧光实时定量PCR法进行。

1.3 牙龈卟啉单胞菌的DNA提取 采用高纯度PCR模板制备试剂盒(Wizard Genomic DNA Purification Kit, Promega, USA)提取DNA,2~8℃保存DNA。

1.4 TaqMan 探针荧光实时定量PCR 由Invitrogen公司合成引物和探针[Real Master mix(Probe) kit 探针法试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司],采用TaqMan 探针荧光实时定量PCR对样品DNA进行检测。具体方法如下:引物和探针见表1。*P. gingivalis* 用以上特异性引物经常规PCR反应,得到83 bp扩增产物,将其作为目的片段,构建*P. gingivalis*的重组质粒,并将该质粒标准品连续10倍稀释至密度为每微升 $1 \times 10^2 - 1 \times 10^7$ 个拷贝,建立定量标准。实时荧光定量PCR的定量检测,反应体系为25 μl;TaqMan Master Mix 12.5 μl,上下游引物各22.5 pmol,6.25 pmol Taqman 探针,DNA模板5 μl,ddH₂O 4.625 μl。反应条件:50℃ 2 min,95℃ 10 min;95℃ 30 s,60℃ 30 s,进行45个循环。所有反应在ABI 7500型荧光定量PCR仪上进行,并在反应过程中自动绘制线性标准曲线。质粒标准品和样本均重复检测3次,取平均值计算细菌数量。以*P. gingivalis* ATCC 33277作为检测牙龈卟啉单胞菌的阳性对照,等体积双蒸水作为空白对照。

表1 TaqMan 实时定量PCR 引物和探针

引物和探针	序列(5'→3')
引物	5'-TCTA GATG ACTG ATGG TGAA AACCC-3'; 5'-ACGT CATC CCCA CCTT CCTC-3'
探针	FAM-ATGA CTGA TGGT GAAA ACCG TCTT CCCT TC-TAMRA

1.5 统计学方法 应用SPSS13.0统计软件进行统计学分析。以指数牙为统计对象,计算AL和SBI的均数,两组均数比较采用t检验。Pg的PCR定量检测结果先进行对数转换,再采用配对t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组干预前后临床指标比较 两组SBI和AL值在基线时比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。6个月时,实验组的SBI和AL值均比对照组显著降低($P < 0.01$)。实验组经牙周干预治疗后,SBI和AL值均明显降低,基线和6个月后复查时变化差异有统计学意义($P < 0.01$);对照组基线和6个月后复查时SBI和AL值变化差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表 2 两组干预前后临床指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	牙位数	SBI		AL(mm)	
		基线	6 个月	基线	6 个月
实验组	90	1.87 ± 0.13	1.19 ± 0.12 ^a	1.71 ± 0.19	1.24 ± 0.14 ^b
对照组	78	2.03 ± 0.15	2.01 ± 0.12 ^c	1.98 ± 0.21	2.12 ± 0.21 ^d
<i>t</i>	—	1.087	4.509	1.584	4.175
<i>P</i>	—	0.281	0.000	0.117	0.000

注:组内比较,^a: $t=5.419$ $P=0.000$,^b: $t=3.298$ $P=0.001$,^c: $t=0.139$ $P=0.890$,^d: $t=1.235$ $P=0.221$

2.2 两组干预前后龈下菌斑中 Pg 检出量比较 两组在基线和 6 个月时龈下菌斑中 Pg 的检出量比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。6 个月复查时,虽然实验组的 Pg PCR 定量检测结果在 6 个月时有所减少,但变化差异无统计学意义($P>0.05$);对照组的 Pg PCR 定量检测量有所增加,但与基线比较变化差异也无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 两组干预前后龈下菌斑中 Pg 检出量比较($\bar{x} \pm s$),拷贝数/ μl]

组别	例数	基线	6 个月	<i>t</i>	<i>P</i>
实验组	30	4.27 ± 0.41	4.00 ± 0.39	0.449	0.621
对照组	26	3.70 ± 0.34	4.23 ± 0.37	1.243	0.224
<i>t</i>	—	1.135	0.392	—	—
<i>P</i>	—	0.265	0.698	—	—

3 讨论

3.1 糖尿病对牙周炎的影响 多项调查研究已显示,糖尿病患者较易发生牙周炎,且牙周炎症程度较非糖尿病者重,糖尿病是牙周炎的重要危险因素之一,钱晨^[4]对 120 例伴有糖尿病的牙周病患者进行对比研究后发现,糖尿病伴牙周病患者,尤其是血糖控制不佳的患者,其牙周炎症状较重,龈缘红肿增生加剧,易并发牙周脓肿、牙槽骨破坏,导致深的牙周袋形成和牙齿松动。Safkan-Seppälä 等^[5]对一组 16 年的糖尿病患者进行横断面研究后发现血糖控制差的糖尿病患者其附着丧失和牙槽骨吸收程度较血糖控制好者更为严重。近年有研究表明,糖尿病本身并不引起牙周炎,但糖尿病导致的小血管病变、免疫反应低下、胶原分解等病理改变会使牙周组织对局部致病因子的抵抗力下降,牙周组织破坏加重、加速,且血糖控制不佳,高度糖基化作用的增强,还可导致大分子产物在组织中沉积,引起小血管壁增厚,血管腔变窄,使牙周组织供氧不足、代谢废物堆积,更加剧了厌氧菌的繁殖及其毒素的侵袭。另外,糖化末端产物(AGEs)与其细胞受体(RAGE)作用的

加强也可能是糖尿病患者牙周病加重的发病机制之一^[6]。AGE 的累积还会影响单核细胞和中性粒细胞的移出和吞噬活性,导致龈下菌群继续成熟并逐渐转换成革兰阴性菌丛。Nonnenmacher 等^[7]则认为牙周炎的发展进程中,致病菌的数量水平是影响炎症进展和牙周破坏进程的关键。糖尿病的病理改变利于牙周致病菌繁殖并降低中性粒细胞的吞噬杀菌功能,也是导致牙周致病菌数量难以控制的原因之一。本研究实验组虽然经过牙周洁治、刮治等牙周干预手段,使牙周指数 SBI 和 AL 值明显减少,口腔环境和健康状态得到很大提升,龈下菌斑中牙龈卟啉单孢菌的检出量也有所降低,但和干预前相比差异仍无统计学意义,分析认为也与糖尿病伴牙周病患者复杂的细胞、血管病理改变有关。

3.2 Pg 与牙周炎进展的关系 Pg 是牙周病特别是成人慢性牙周炎病变区或者活动部位最主要的优势致病菌,Pg 的存在与牙周炎的发病以及治疗后复发或病情加重有关。本研究通过对牙周干预前后龈下菌斑中的 Pg 的定量检测结果与临床指标变化可以初步观察 Pg 在慢性牙周炎治疗中的变化,以及对疗效的影响。由于龈下菌斑取样方法很难标准化,Pg 的定量检测结果反映的是致病菌的绝对数量,Lyons 等^[8]认为混合菌斑中致病菌的相对数量的变化更能反映牙周炎的进展和破坏程度。本研究 6 个月复诊时,虽然 Pg 的 PCR 定量检测结果与基线比较降低程度差异无统计学意义($P>0.05$),但所有研究者均明显感觉患者龈下菌斑的取样量已明显减少,说明经过口腔健康教育、正确刷牙指导及牙周洁、刮干预后,患者的口腔健康意识和口腔卫生状况已得到明显改善。

3.3 牙周基础治疗疗效与微生物数量之间的关系 牙周病的基础治疗是每位牙周病患者都适用的最基本治疗,主要包括龈上洁治、龈下刮治和根面平整,可以清除或改变龈下菌群的组成,消除牙周病致病因素。本研究中基础治疗对糖尿病伴牙周病患者的临床指标 SBI 和 AL 有改善明显,治疗前后差异有统计学意义($P<0.05$),可见口腔卫生宣教和牙周基础治疗的良好效果。严格的口腔卫生措施是消除牙龈炎症、防止牙周炎症进一步发展的基本条件。但本研究也发现个别患者的口腔健康措施实施效果较差,复诊时牙面软垢仍较多,牙龈炎症仍比较明显,说明糖尿病伴牙周病患者的口腔卫生健康宣教和牙周基础治疗需长期、持续地进行。

参考文献

- 1 Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 1993, 16(1): 329-334.
- 2 Firatli E. The relationship between clinical periodontal status and insulin-dependent diabetes mellitus. Results after 5 years[J]. Periodontol, 1997, 68(2): 136-140.
- 3 曹采方, 主编. 临床牙周病学[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2006: 161-173.
- 4 钱晨. 关于牙周病与糖尿病双向关系的临床研究[J]. 中国实用医药, 2011, 27(6): 127-128.
- 5 Safkan-Seppälä B, Ainamo J. Periodontal conditions in insulin-dependent diabetes mellitus[J]. J Clin Periodontol, 1992, 19(1): 24-29.
- 6 曹采方, 主编. 牙周病学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 155-156.
- 7 Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, et al. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients[J]. J periodontol, 2005, 76(9): 1542-1549.
- 8 Lyons SR, Griffen AL, Leys EJ. Quantitative real-time PCR for Porphyromonas gingivalis and total bacteria[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(6): 2362-2365.

[收稿日期 2013-09-05][本文编辑 杨光和 韦所芬]

课题研究·论著

广西地区肺栓塞患者获得性危险因素的调查

秦志强, 蒋连强, 陈桂荣, 刘学冠, 罗维贵, 许承琼, 高枫,
曾彤华, 蓝冰, 郑立, 邓嘉宁, 梁世廉, 杨杰, 陈显源

基金项目: 广西卫生厅重点科研课题(编号: 桂卫重 200802)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院呼吸内科(秦志强, 陈桂荣); 545005 广西, 柳州市工人医院呼吸内科(蒋连强); 547000 广西, 河池市人民医院呼吸内科(刘学冠); 533000 广西, 右江民族医学院附属医院呼吸内科(罗维贵); 535000 广西, 钦州市第一人民医院呼吸内科(许承琼); 541002 广西, 桂林市人民医院呼吸内科(高枫); 536000 广西, 北海市人民医院呼吸内科(曾彤华); 545001 广西, 柳州市人民医院呼吸内科(蓝冰); 541002 桂林, 广西壮族自治区南溪山医院呼吸内科(郑立); 530031 广西, 南宁市第二人民医院呼吸内科(邓嘉宁); 543001 广西, 梧州市工人医院呼吸内科(梁世廉); 542801 广西, 贺州市人民医院呼吸内科(杨杰); 537000 广西, 玉林市第一人民医院呼吸内科(陈显源)

作者简介: 秦志强(1962-), 男, 医学博士, 主任医师, 研究方向: 肺栓塞和呼吸危重症的诊治。E-mail: qinzhiquang148@sina.com

[摘要] 目的 了解广西肺栓塞患者获得性危险因素构成。方法 在广西不同地区选择当地医疗技术较好且具有代表性的 13 所综合医院进行调查, 获得性危险因素分类参照国内外肺栓塞指南。编制印刷病例报告表, 调查 2009~2011 年肺栓塞患者获得性危险因素。结果 202 例肺栓塞患者中 21 例(10.4%)合并下肢深静脉血栓形成, 41 例(20.3%)无危险因素, 75 例(37.1%)具有 1 个高危因素, 86 例(42.6%)具有 2 个或以上危险因素。前 5 位危险因素分别为年龄 ≥ 60 岁 103 例(51.0%)、卧床 > 5 d/长时间静坐 38 例(18.8%)、外科手术 27 例(13.4%)、血小板增高 26 例(12.9%)和慢性阻塞性肺疾病 22 例(10.9%)。结论 高龄、制动、外科手术、血小板增高和慢性阻塞性肺疾病是广西地区肺栓塞患者获得性危险因素。

[关键词] 肺栓塞; 危险因素; 预防

[中图分类号] R 563.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)01-0014-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.01.05

Acquired risk factors for pulmonary embolism in Guangxi of China QIN Zhi-qiang, JIANG Lian-qiang, CHEN Gui-rong, et al. Department of Respiratory Disease, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To discover the acquired risk factors for pulmonary embolism(PE) in Guangxi of China. **Methods** Thirteen general hospitals in Guangxi were included. The risk factors for PE were chosen based on the PE guidelines of European Society of Cardiology and Chinese Medical Association. The patients with definite PE from 2009 to 2011 were recruited for the risk factors analysis, prospectively. **Results** Twenty-one(10.4%) of 202 pa-