

·论著·

SOD

CAT

陆静宇,陈世娟,王楚睿,康 静

(湖南中医药大学第一附属医院口腔科,湖南 长沙 410007)

摘要:目的 观察中药清热安胎膏对大鼠妊娠期龈炎的疗效、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性的影响。方法 从北京维通利华公司购入 24 只 9 周龄 SPF 级别的 SD 雌鼠,12 只雄鼠,采用简单随机分组的方法将雌鼠均等随机分配至四个实验组别:空白对照组、模型组、阳性药物对照组及中药组,每组包含 6 只大鼠。适应性喂养后构建实验性龈炎,7 d 后合笼受孕,受孕 3 d 后予以分组处理。并拍摄记录各组大鼠造模后和分组处理后牙龈状态。空白对照组:不做任何处理,常规受孕;模型组:构建实验性龈炎后受孕;阳性药物对照组:构建实验性龈炎,受孕后龈沟处予以碘甘油;中药组:构建实验性龈炎,受孕后龈沟处予以填塞清热安胎膏。分组处理后,切取牙龈组织,酶联免疫吸附试验(ELISA)测定实验大鼠牙龈组织中 SOD 和 CAT 的活性水平。结果 大鼠造模后,双下门齿牙龈出现明显充血,红肿等情况。妊娠期各组大鼠处理后牙龈红肿程度:模型组>中药组≥阳性药物对照组>空白对照组。与空白对照组相比,模型组、阳性药物对照组、中药组 SOD、CAT 活性降低($P<0.05$);中药组 SOD、CAT 活性高于模型组($P<0.05$)。结论 清热安胎膏可以有效提高大鼠妊娠期龈炎中 SOD、CAT 活性,改善氧化应激,减轻牙龈组织红肿及损伤,有望成为治疗妊娠期龈炎的新方法。

关键词:妊娠期龈炎;清热安胎膏;氧化应激

中图分类号:R276.8

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2025.08.013

文章编号:1006-1959(2025)08-0065-05

Effect of Qingre Antai Paste on the Improvement of Gingivitis and the Activity of SOD and CAT in Rats During Pregnancy

LU Jingyu, CHEN Shijuan, WANG Churui, KANG Jing

(Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan, China)

Abstract: Objective To observe the effect of Qingre Antai paste on the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in rats with gingivitis during pregnancy. **Methods** A total of 24 9-week-old SPF SD female rats and 12 male rats were purchased from Beijing Charles River Company. Female rats were randomly divided into four experimental groups: blank control group, model group, positive drug control group and traditional Chinese medicine group, with 6 rats in each group. After adaptive feeding, experimental gingivitis was constructed. After 7 days, they were conceived in a cage, and after 3 days of conception, they were grouped. The gingival state of rats in each group after modeling and group treatment was recorded. Blank control group: without any treatment, conventional conception; model group: pregnancy after experimental gingivitis was constructed; positive drug control group: experimental gingivitis was constructed, and iodine glycerin was given at the gingival sulcus after conception; traditional Chinese medicine group: experimental gingivitis was constructed, and Qingre Antai paste was filled in the gingival sulcus after conception. After grouping treatment, the gingival tissue was cut, and the activity levels of SOD and CAT in the gingival tissue of the experimental rats were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** After modeling, the gums of the lower incisors of the rats showed obvious congestion, redness and swelling. The degree of gingival swelling after treatment in each group of rats during pregnancy: model group>traditional Chinese medicine group≥positive drug control group>blank control group. Compared with the blank control group, the activity of SOD and CAT in the model group, the positive drug control group and the traditional Chinese medicine group decreased ($P<0.05$). The activities of SOD and CAT in the traditional Chinese medicine group were higher than those in the model group ($P<0.05$). **Conclusion** Qingre Antai paste can effectively improve the activity of SOD and CAT in rats with gingivitis during pregnancy, improve oxidative stress, and reduce the swelling and damage of gingival tissue. It is expected to become a new method for the treatment of gingivitis during pregnancy.

Key words: Pregnancy gingivitis; Qingre Antai paste; Oxidative stress

妊娠期龈炎是一种由细菌感染引起的炎症性疾病,主要临床表现是牙龈肿胀出血、龈沟液增多及龈

袋形成。在以往的研究中患病率高达 35%~100%^[1]。细菌诱导牙周组织产生大量活性氧,造成氧化剂和

基金项目:湖南省自然科学基金项目(编号:211142196052)

作者简介:陆静宇(1998.9-),男,湖南常德人,硕士研究生,主要从事口腔牙周病诊治研究

通讯作者:陈世娟(1979.5-),女,湖南长沙人,硕士,副主任医师,主要从事口腔牙周病诊治研究

抗氧化剂之间的失衡,引起氧化应激病理损害机理,损害牙周组织^[2],甚至可能引起早产、低出生体重儿、先兆子痫等全身性疾病^[3]。其中,早产是新生儿死亡的主要原因。因此,研究妊娠期龈炎与氧化应激之间的关系,对于防治妊娠期龈炎以及预防不良妊娠具有十分重要的意义^[4]。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等抗氧化酶可降低氧化应激反应,减少组织损伤,同时也是检测氧化应激程度的一项重要指标。相关研究显示,清热安胎膏中生地黄^[5]、黄芩^[6]、知母^[7]、菟丝子^[8]、麦冬^[9]、茯苓^[10]等中药均具有抗氧化作用的活性成分,可以有效改善氧化应激带来的组织损伤。在前期的研究中,已发现清热安胎膏对实验性龈炎大鼠龈沟液内 C 反应蛋白(CRP)、前列腺素 E₂(PGE₂)、白介素 17(IL-17)的表达有影响,其可以有效降低龈沟液内 CRP、PGE₂、IL-17 的表达水平,同时减少低出生体重儿的发生^[11,12]。本研究通过构建妊娠期龈炎大鼠模型,进一步检测清热安胎膏对妊娠期龈炎大鼠临床牙龈状态、CAT、SOD 活性的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠,雌性 24 只,雄性 18 只,日龄 63~69 d,购自广州维通利华实验动物技术有限公司[许可证号为 SCXK(粤)2022-0063,动物质量合格证号 44829700031064],于湖南中医药大学第一附属医院动物实验室适应喂养 1 周后进行实验[动物许可证号:SCXK(湘)2020-0010]。动物伦理审批号:ZYFY20220513-02。

1.2 主要试剂及仪器

1.2.1 实验用药 生石膏、生地黄、黄芩、知母、菟丝子、麦冬、茯苓(以上药品均购自湖南中医药大学第一附属医院),羊毛脂(贵州苗方生物科技有限公司,批号:XY240408)、凡士林(青岛锦麒生物科技有限公司,批号:240106)、观雅牌口腔抑菌液(碘甘油)(武汉彩芝堂生物医药有限公司,批号 20240420)。

1.2.2 实验用品 一次性使用无菌注射器(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司,医疗器械注册证:国械注准 20163141593)、3-0 非吸收性外科缝线真丝编织线(威海威高富森医用材料有限公司,医疗器械注册证:鲁械注准 20152020252,批号:20231016)、PBS pH 7.2 缓冲液(浙江吉诺生物医药技术有限公司,货号 GNM20012-5,批号:24041101)、水合氯醛溶液(10%w/v)(长沙艾碧维生

物科技有限公司,货号 AWF0032b,批号:01G240611)、3 号定性滤纸(英国 whatman,货号 1003-055)、2 ml 微量离心管(广州洁特生物过滤股份有限公司)、1 ml 螺口注射器(上海仁沃医疗科技有限公司)、大鼠过氧化氢酶(CAT)ELISA 科研试剂盒 48T(江苏酶免实业有限公司,货号:MM-20447R2)、大鼠超氧化物歧化酶(SOD)ELISA 科研试剂盒 48T(江苏酶免实业有限公司,货号:MM-0386R2)。

1.2.3 实验仪器 乐祺电子天平称(昆山优科维特电子科技有限公司,型号:LQC-10002)、水浴锅(中国泰斯特,型号:DK-98-IIA)、冷藏柜(中国海尔,型号:BC/BD-220L)、-75 °C 超低温冰箱(中国海尔,型号:DW-86L338A)、酶标仪(帝肯(上海)实验器材有限公司,型号:Infinite F50)、自动酶标洗板机(无锡华卫德朗仪器有限公司,型号:DKW-310)、微量高速离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司,型号:TG16-W)、电动离心机(常州越新仪器制造有限公司,型号:80-2)、电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司,型号:DHG-9070)。

1.3 方法

1.3.1 清热安胎膏制备 将生石膏 20 g、生地黄 20 g、黄芩 20 g、茯苓 20 g、知母 12 g、菟丝子 12 g、麦冬 12 g 煎煮水浴浓缩至拉丝状浓缩液。与凡士林、羊毛脂按质量比 12:3:1 混合并充分搅拌制成清热安胎膏,放入冷藏柜中冷藏。

1.3.2 妊娠期龈炎模型制备、分组与给药 参照郭德玉等^[13]的方法制备实验性龈炎大鼠,10%水合氯醛腹腔注射麻醉生效后,用 3-0 缝线缝扎于大鼠双下门齿龈缘处,并在牙龈上缝合两针固定,定期检查,若缝线出现松脱断裂则重新缝扎,术后正常饲料喂养。如果出现牙龈充血、红肿、溃烂、探之易出血等情况,则表明龈炎制备成功。模型确定成功后,拍摄记录大鼠牙龈状态,分别与雄性大鼠合笼过夜,待其完成受孕。空白对照组:大鼠只进行麻醉,正常喂养拍摄记录大鼠牙龈状态;模型组:建立实验性龈炎,受孕后不做处理,拍摄记录大鼠牙龈状态;阳性药物对照组:建立实验性龈炎,受孕 3 d 后于龈沟处给予碘甘油 0.1 ml,1 次/d,连用 7 d;中药组:建立实验性龈炎,受孕 3 d 后于龈沟处填塞清热安胎膏 0.1 ml,1 次/d,连用 7 d。拍摄记录各组大鼠牙龈状态。

1.3.3 标本收集 各组大鼠给药完毕后,实行 10%水

合氯醛腹腔注射麻醉,显效后切取双下门齿牙龈组织,保存在 10%福尔马林溶液中,备用。

1.3.4 大鼠牙龈组织中 SOD、CAT 活性的检测 将标本切开后,称取 1 g 组织,加入 9 ml 的 pH 7.4 的 PBS,用手工将标本匀浆充分。4 °C 条件以 2500 r/min 的速率对样本进行约 20 min 的离心处理,随后弃去上清液,采用 pH 值约为 7.4 的 PBS 缓冲液轻柔地清洗沉淀的细胞 3 次。接着,利用相同 pH 值的 PBS 缓冲液调整细胞悬液,直至细胞密度接近 100 万个/ml。运用超声波技术裂解细胞,释放其内部成分。在 4 °C 环境下,再次以 2500 r/min 的速度离心约 20 min,细心收集上清液,若保存期间出现沉淀,需重复离心步骤。使用 ELISA 方法,按照试剂盒操作指南,利用酶标仪定量测定样本中 SOD 和 CAT 的活性水平。炎症程度与这两种酶的活性呈现负相关关系。

1.4 统计学方法 运用 SPSS 28.0 软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,在对比两组数据时,若数据符合正态分布且方差齐性条件,则运用单因素方差分析法,并通过 LSD-*t* 检验进行两两比较;若

条件不满足,则采用 Kruskal-Wallis *H* 检验进行分析。两个变量间的相关分析采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠处理前及处理后牙龈状态 大鼠造模后,双下门齿牙龈出现明显充血,红肿等情况,提示实验性龈炎构建成功。受孕后,各组大鼠处理后牙龈红肿程度:模型组>造模后,提示妊娠期大鼠实验性龈炎加重;模型组>中药组 \geq 阳性药物对照组>空白对照组,提示阳性药物对照组及中药组具备明显的疗效,见图 1~图 5。

2.2 清热安胎膏对 SD 大鼠牙龈组织中 SOD、CAT 水平的影响 本研究中每组大鼠的死亡数量各为 1 只。相较于空白对照组,模型组 SOD、CAT 水平下降($P < 0.05$),而阳性药物对照组与中药组较模型组 SOD、CAT 水平均升高($P < 0.05$),其中中药组 SOD、CAT 水平略低于阳性药物对照组($P < 0.05$),见表 1、图 6、图 7。



图 1 造模后

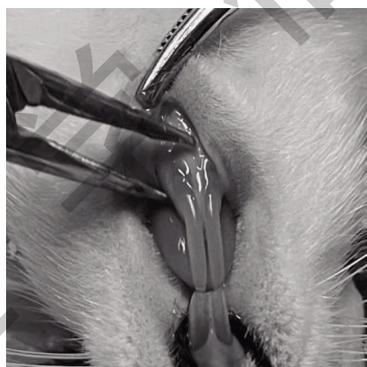


图 2 空白对照组

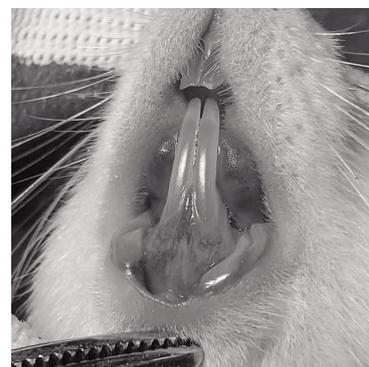


图 3 模型组



图 4 阳性药物对照组

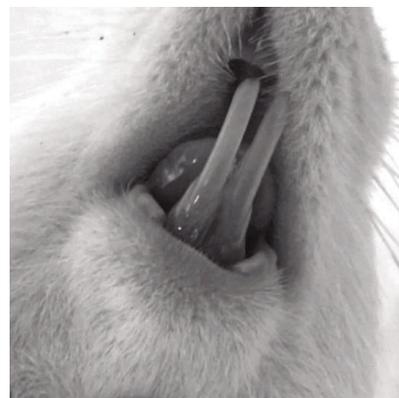


图 5 中药组

表 1 各组 SD 大鼠牙龈组织中 SOD、CAT 水平比较($\bar{x}\pm s, U/L$)

组别	n	SOD	CAT
空白对照组	5	573.85±14.18	3855.76±188.17
模型组	5	406.85±22.63 ^a	2520.28±196.97 ^a
阳性药物对照组	5	526.47±25.46 ^b	3498.59±163.35 ^b
中药组	5	469.53±22.09 ^{bc}	3054.22±119.09 ^{bc}

注:与空白对照组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$,与阳性药物对照组相比,^c $P<0.05$ 。

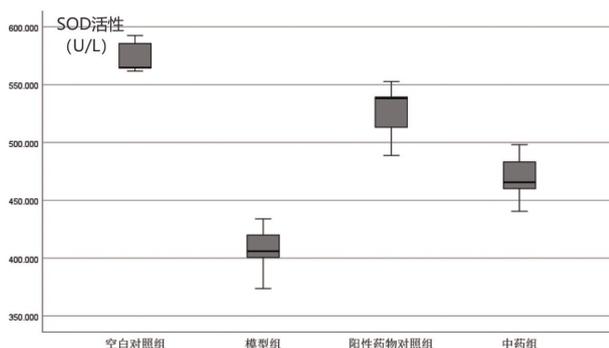


图 6 各组 SD 大鼠牙龈组织中 SOD 水平比较

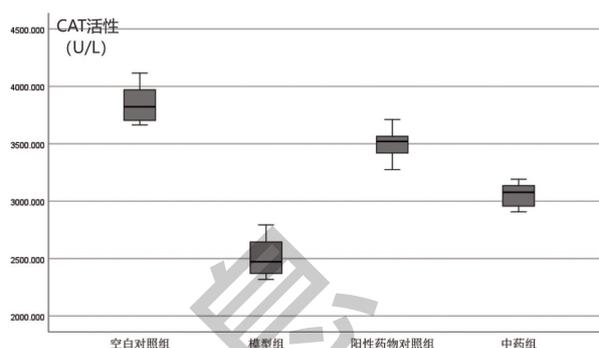


图 7 各组 SD 大鼠牙龈组织中 CAT 水平比较

3 讨论

由于妊娠期雌激素和孕激素水平的改变,使牙龈局部微血管扭曲和扩张,增加了口腔血管的通透性,使宿主免疫力下降,最终导致宿主更容易受到口腔感染或原有的牙龈感染加重^[14, 15]。在妊娠期龈炎的病理发展中,牙菌斑刺激牙龈组织募集和激活多形核中性粒细胞(polymorphonuclear neutrophils, PMN)和巨噬细胞。被激活的 PMN 产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)以及大量炎症介质,包括白细胞介素、趋化因子、粘附分子等。当 ROS 过量产生,超过细胞的抗氧化能力时,就会发生氧化应激,通过氧化脂质、蛋白质和 DNA 导致细胞损伤,在严重的氧化损伤下,细胞死亡是最终的结果^[16]。如 SOD、CAT 等抗氧化酶能有效保护组织免受各种代谢过程中产生的自由基的氧化损伤,SOD 通过催化两个 O_2 分解为 H_2O_2 ,从细胞环境中去除有害的 ROS;CAT 酶能够催化 H_2O_2 分解成氧气和水,有效移除体内的过氧化氢,保护细胞不受 H_2O_2 的毒性影响。

相关研究表明,妊娠期龈炎与不良妊娠关系密切,可能造成新生低体重儿,妊娠期龈炎对妊娠期妇女的生活产生严重影响。在牙龈炎的临床治疗中,最常见的治疗方法是超声洁治去除牙石后,双氧水冲洗,局部应用碘甘油消炎、收敛、防腐。但鉴于孕妇群体的特殊性,超声洁治过程中产生的噪音和震

动可能引发孕妇疼痛及显著的不适感,以及过量含碘类药物的使用会对胎儿的甲状腺功能、智力发育造成影响,甚至增加某些肿瘤的发病风险^[17],这对于早产低出生体重儿危害更大^[18]。使得常规妊娠期龈炎在治疗和用药上存在着诸多局限性,导致其治疗效果不理想。

中医药具有两千多年的历史,作为我国的宝贵药物资源在人类多种疾病的治疗中发挥着重要作用。以中药不良反应发生率低为根本,辅以局部用药,在治疗妊娠期龈炎方面开辟了新的临床思路。基于中医理论解析妊娠期龈炎发病机制:孕妇脾胃蕴热,热邪循经上犯齿龈,形成局部熏灼之势。热毒积聚致使龈络受损,病理表现为龈肉腐溃伴脓血渗出,迁延不愈则引发牙龈萎缩、牙根暴露及牙齿松动等器质性改变^[19]。因此,本病治疗以清泄泻火、滋阴安胎为原则。本研究以经典方剂玉女煎为基础,结合妊娠期龈炎的中医病因病机特点进行药物化裁,创制了清热安胎方。该方剂由生石膏、生地黄、黄芩、盐知母、菟丝子、麦冬及茯苓七味中药配伍而成。本方以生石膏、黄芩为君药,旨在清热燥湿、泻火安胎;以生地黄、菟丝子为臣药,发挥滋阴清热、凉血补血、滋补肝肾之效;以知母、麦冬为佐药,清热泻火、滋阴润燥、滋养胃阴、固护根本;以茯苓为使药,利水渗湿、健脾安神^[12, 20]。全方清热泻火,滋阴安胎,对妊娠期

龈炎具有良好的治疗作用。

本研究结果显示,模型组受孕后牙龈红肿程度较造模后增加,表明大鼠妊娠期由于激素水平的改变,导致原有的龈炎加重。中药组牙龈红肿程度较模型组减轻,提示清热安胎膏可以改善妊娠期龈炎的临床症状,这与其具备清热泻火的功能有关。模型组 SOD、CAT 水平低于空白对照组,提示妊娠期龈炎造模成功;中药组 SOD、CAT 水平高于模型组,提示清热安胎膏具有较强的抗炎、抗氧化活性,可阻止氧化应激及炎症反应的发生及进展,对于妊娠期龈炎大鼠治疗效果显著;中药组 SOD、CAT 水平低于阳性药物对照组,提示清热安胎膏抗氧化应激效果略低于碘甘油,但含碘类药物使用具有诸多局限性,清热安胎膏优势在于安全性。

综上所述,妊娠期龈炎发生发展与局部氧化应激密切相关,清热安胎膏可以提高妊娠期龈炎大鼠牙龈组织中 SOD、CAT 活性,通过降低局部氧化应激水平,有效减轻牙龈组织损伤,为妊娠期龈炎的中医药治疗开辟新途径。然而,清热安胎膏的具体作用机制尚需深入研究,建议通过扩大动物实验规模、优化实验方案,改善给药制剂,并结合细胞实验加以验证。

参考文献:

[1]Clement C,Bourgeois D,Vitiello F,et al.Efficacy of Sonic-Powered and Manual Toothbrushes on Plaque-Induced Gingivitis in Pregnant Women: A Randomized Controlled Trial[J].Methods Protoc,2023,6(5):99.
[2]El Hassan NKB,Ramadan AM.Interleukin 1 beta and its association with the periodontal health of pregnant women [J].J Taibah Univ Med Sci,2023,18(6):1376-1383.
[3]Saadaoui M,Singh P,Al Khodor S.Oral microbiome and pregnancy: A bidirectional relationship [J].J Reprod Immunol, 2021,145:103293.
[4]Shang J,Liu H,Zheng Y,et al.Role of oxidative stress in the relationship between periodontitis and systemic diseases [J].Front Physiol,2023,14:1210449.
[5]Grosso C,Santos M,Barroso MF.From Plants to Psycho-Neurology: Unravelling the Therapeutic Benefits of Bioactive Compounds in Brain Disorders [J].Antioxidants (Basel),2023,12(8):1603.
[6]Liu B,Li L,Liu G,et al.Baicalein attenuates cardiac hypertrophy in mice via suppressing oxidative stress and activating au-

tophagy in cardiomyocytes [J].Acta Pharmacol Sin,2021,42(5):701-714.

[7]宋楠楠,刘超,姚锐,等.清热药知母及其配伍防治糖尿病肾病的效应机制分析[J].中华中医药学刊,2023,41(1):69-73.

[8]Zhao Q,Liu Y,Wang X,et al.Cuscuta chinensis flavonoids reducing oxidative stress of the improve sperm damage in bisphenol A exposed mice offspring [J].Ecotoxicol Environ Saf, 2023,255:114831.

[9]Chen Y,Ma L,Yan Y,et al.Ophiopogon japonicus polysaccharide reduces doxorubicin-induced myocardial ferroptosis injury by activating Nrf2/GPX4 signaling and alleviating iron accumulation[J].Mol Med Rep,2025,31(2):36.

[10]Jiang Y,Wang L,Chen W,et al.Poria cocos polysaccharide prevents alcohol-induced hepatic injury and inflammation by repressing oxidative stress and gut leakiness[J].Front Nutr,2022,9:963598.

[11]阳亚男.清热安胎膏治疗实验性大鼠妊娠期龈炎的疗效及对 C 反应蛋白的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2023.

[12]王楚睿,陈世娟,阳亚男,等.妊娠期龈炎前列腺素 E2 的表达及清热安胎膏干预作用初探[J].中医药临床杂志,2024,36(7):1340-1344.

[13]郭德玉,叶翠飞,梁秀敏,等.大鼠实验性牙龈炎模型的制作及客观评定方法[J].实验动物科学,2011,28(4):63-65.

[14]Ye C,You M,Huang P,et al.Clinical study showing a lower abundance of Neisseria in the oral microbiome aligns with low birth weight pregnancy outcomes [J].Clin Oral Investig,2022,26(3):2465-2478.

[15]袁梦.妊娠期牙龈炎出现的原因及预防[J].造纸装备及材料,2020,49(1):254-255.

[16]Ramji N,Xie S,Bunger A,et al.Effects of stannous fluoride dentifrice on gingival health and oxidative stress markers: a prospective clinical trial[J].BMC Oral Health,2024,24(1):1019.

[17]郑如辉.碘甘油治疗孕妇急性智齿冠周炎的疗效观察[J].口腔材料器械杂志,2011,20(3):164.

[18]LaFranchi SH.Thyroid Function in Preterm/Low Birth Weight Infants: Impact on Diagnosis and Management of Thyroid Dysfunction[J].Front Endocrinol (Lausanne),2021,12:666207.

[19]王楚睿,陈世娟,阳亚男,等.妊娠期龈炎临床治疗方案研究概况[J].中医药临床杂志,2024,36(12):2431-2436.

[20]李梦佳,王宏,董臣林,等.基于网络药理学探讨玉女煎治疗牙周炎的作用机制[J].中国医院用药评价与分析,2022,22(8):904-909.

收稿日期:2025-02-20;修回日期:2025-03-04

编辑/成森