

程序性低温冷冻对自体移植牙牙周愈合的影响*

骆敬¹ 隆元颢² 易守银¹ 冉娟² 田鲲^{1,3}

(1. 西南医科大学口腔医学院, 四川 泸州 646000; 2. 遵义医科大学口腔医学院, 贵州 遵义 563003;

3. 四川省医学科学院·四川省人民医院口腔科, 四川 成都 610072)

【摘要】 目的 探讨通过程序性降温法低温冷冻处理移植供牙牙体, 行自体异位移植术后评价牙周组织的生长、愈合情况。**方法** 选取 1 年龄比格犬 1 只, 体重 9 kg, 拔除左侧下颌第三侧切牙置于 10% 二甲亚砜保存液 -80℃ 冻存 2 周, 程序性复苏解冻后移植于右下颌同名牙位作为冷冻牙, 左侧下颌第二侧切牙即刻移植于右下颌同名牙位作为对照牙, 喂养 3 月, 比较两牙的临床表现、X 射线检查、micro CT 及组织学染色评估牙周愈合情况。**结果** 术后 1 月冷冻移植牙和即刻移植牙牙龈缘轻微红肿、BOP(探诊出血) +, 松 I°, X 射线片示冷冻牙根尖周低密度透射影像, 无牙根内外吸收影像。术后 3 月两牙牙龈红肿, BOP +, 松 I - II°, 探及轻度牙周袋, X 射线片示两牙牙根表面出现不同程度凹陷性吸收, 冷冻牙近中根尖处牙骨质可见明显吸收, 无牙根内吸收影像。Micro CT 影像显示即刻移植牙术后 3 月牙根表面略微粗糙, 局部有微小浅表性吸收, 根尖区无透射影; 冷冻移植牙术后 3 月出现较大范围吸收, 波及牙本质, 并伴有根尖部牙槽骨吸收。组织学 HE 染色切片示冷冻牙牙根表面吸收, 牙颈部结合上皮再附着松弛, 而对照牙牙根吸收较轻, 结合上皮再附着更致密。**结论** 选用合适冷冻保护剂和冷冻方法的情况下冷冻移植牙牙周预后是可以预期的, 但是仍然需要进行更多的研究以预防牙根吸收。

【关键词】 比格犬; 自体牙移植; 低温冷冻; 牙周愈合

【中图分类号】 R782.12 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.11.004

Effect of cryopreservation on periodontal healing of autotransplantation teeth

LUO Jing¹, LONG Yuansi², YI Shouyin¹, RAN Juan², TIAN Kun^{1,3}

(1. School of Stomatology, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China;

2. School of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou, China;

3. Department of Stomatology, Sichuan Academy of Medical Sciences, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the growth and healing of periodontal tissue after autologous heterotopic transplantation. **Methods** A 1-year-old beagle dog was used in the experiment. The left mandibular third incisor was extracted and frozen in 10% dimethyl sulfoxide preservation solution -80 °C for 2 weeks. After programmed resuscitation and thawing, it was transplanted into the same tooth position of the right mandibular. The left mandibular second incisor was immediately transplanted into the same tooth position of the right mandibular as the control. It was fed for 3 months. The periodontal healing was evaluated by clinical observation, X-ray examination, micro CT and histological staining. **Results** One month after operation, the gingival margin of frozen transplanted teeth and immediate transplanted teeth was slightly red and swollen BOP (probing bleeding) + loosening I°. X-ray film showed low-density transmission image around the frozen tooth root tip, without internal and external root absorption image. 3 months after operation, the gums of both teeth were red and swollen, BOP +, loosening I - II°, probing and mild periodontal pocket. X-ray film showed concave absorption in varying degrees on the surface of both teeth root, obvious absorption of cementum near the middle root tip of frozen teeth, and no internal root absorption image. Micro CT The images showed that 3 months after immediate tooth transplantation, the root surface was slightly rough, there was slight superficial absorption in some parts, and

基金项目: 四川省青年科技创新研究团队科研资助项目(2021JDTD0005)

通信作者: 田鲲, 主任医师, E-mail: tiankun78@hotmail.com

引用本文: 骆敬, 隆元颢, 易守银, 等. 程序性低温冷冻对自体移植牙牙周愈合的影响[J]. 西部医学, 2022, 34(11): 1576-1580, 1587. DOI: 10.

3969/j.issn.1672-3511.2022.11.004

there was no penetrating shadow in the apical area. A large range of absorption occurred 3 months after cryotransplantation, affecting the dentin, accompanied by apical alveolar bone absorption. Histological HE staining sections showed that the root surface of frozen teeth was absorbed, and the reattachment of cervical junction epithelium was loose. The root resorption of the control teeth was lighter, and the reattachment of the binding epithelium was more dense. **Conclusion** With the selection of appropriate cryoprotectants and freezing methods, the periodontal prognosis of frozen transplanted teeth can be expected, but more research is still needed to prevent root resorption.

【Key words】 Beagle dog; Autogenous tooth transplantation; Cryopreservation; Periodontal healing

自体牙移植,是将患者的阻生智齿、错位牙或多生牙由一个位置移植到另一个位置,以代替缺损的牙行使功能。其治疗周期短、成本低、能有效维持牙槽骨高度并且新形成的牙周膜可恢复牙齿的本体感受和温度觉,为牙齿提供有利的生物学功能^[1],受到学者关注。既往有个案移植 10 年^[2]、甚至 20 年^[3]成功存活的报道,但其成功率受多种因素影响可重复性不强。随着术前 CBCT 结合 3D 打印能大幅缩短供体牙口外离体时间^[4],提升成功率。自体移植牙拥有良好临床应用前景,但供体来源受限,常因发炎或正畸治疗拔除,口内缺牙时却又无牙可供^[5]。为扩宽适应症,有学者提出低温冷冻保存供牙的思路,通过特殊降温措施将处于冷冻保护剂(CPA)里的活体牙齿长期冻存,使其代谢停止或者减弱到最低,升温后恢复正常代谢能力并移植^[6]。低温冷冻或解冻过程中细胞因溶质毒性或冰晶形成会受到不可逆的损伤。冷冻保护剂的作用机制是增加系统中所有溶质的总浓度,减少在任何温度下的冰形成量,阻止冷冻或解冻过程中细胞损伤^[7]。还有学者探索不同速率冷冻方法对细胞的损害大小,发现与快速冷冻法相比,在 5%和 10%二甲亚砜中,控制率冷冻法产生的活细胞数量显著增加^[8]。牙周愈合是决定自体移植成功与否的重要因素,保存牙周韧带细胞是重中之重^[9]。低温冷冻牙复苏后其牙周韧带细胞活性与新鲜的相似^[10]。但目前关于冷冻牙自体移植入牙槽窝的实验鲜有报道,也没有系统性的评估和分析。本实验用比格犬作为动物实验模型,以冷冻保护剂辅助冻存,通过冷冻移植后临床表现、影像学表现与组织学表现对比,探究低温冷冻后牙移植的牙周预后,为进一步的理论研究和临床实践积累数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及护理

1.1.1 实验动物 选取 1 年龄成年比格犬 1 只,由四川省人民医院动物实验中心提供,体重 9 kg,保证室温且单笼常规喂养。实验符合实验动物伦理委员会审核标准。

1.1.2 动物护理 ①每日定时、定量喂食 2 次,每日更换充足清水,保证其饮用。②犬舍每日清扫,地面

保持干燥,地面、卧具 3%煤酚皂消毒 1 次/周。

1.2 实验试剂与器材

1.2.1 实验试剂 二甲亚砜(国药集团化学试剂有限公司),戊巴比妥钠(上海一恒实验仪器有限公司),盐酸甲哌卡因(赛特多有限公司,法国),青霉素(阳制药有限公司),氯己定(哈尔滨乐泰药业有限公司),磷酸盐缓冲液(北京中杉金桥生物技术有限公司),无水乙醇(江苏海兴化工有限公司),二甲苯(天津致远化学试剂有限公司),苏木素伊红染液(珠海贝索生物技术有限公司),组织固定液(多聚甲醛)(国药集团化学试剂有限公司),组织脱钙固定液(EDTA)(广州维格斯生物科技有限公司)。

1.2.2 实验器材 登腾配套工具箱(Dentium 公司,韩国),自动封闭式组织脱水机(常州市中威电子仪器有限公司),转轮式切片机(徕卡-2016,德国),BMJ-III 型包埋机(常州郊区中威电子仪器厂),PHY-III 型病理组织漂烘仪(常州郊区中威电子仪器厂),数码三目摄像显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)。

1.3 方法

所有拔牙、种植器械、慢速涡轮机消毒待用,吸唾装置连接并每次更换吸唾管。实验动物尸体均按照《医院实验动物尸体及废弃物处理管理办法》进行包装集中处理。实验操作严格遵照 2006 年国家科学技术委员会颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》中的各条款进行。实验牙纳入标准:根尖孔发育完整且牙周条件良好的健康前牙。拔除左侧下颌第三侧切牙置于 10%二甲亚砜保存液-80℃冻存 2 周,程序性复苏解冻后移植于右下颌同名牙位作为冷冻牙,左侧下颌第二侧切牙即刻移植于右下颌同名牙位作为对照牙。

1.3.1 术前准备 术前拍摄比格犬 X 射线片,观察实验牙牙根及牙槽骨的情况。术前肌注 40 万单位/kg 青霉素,禁食 12 h。0.3 mL/kg 静脉注射 3%戊巴比妥钠对比格犬进行基础麻醉。待实验犬全身麻醉起效后,检查呼吸、心跳及体温。

1.3.2 冷冻保护剂的准备 5 mL 的离心管倒入 10%的二甲亚砜溶液备用。

1.3.3 牙齿拔除 碘伏消毒术区,铺巾,2%盐酸甲

哌卡因 1 支(1.8 mL)行口腔术区的局部浸润麻醉,探针分离作为冷冻牙的左侧下颌第三侧切牙牙龈,微创牙挺增隙、挺松供牙,用湿生理盐水纱布包裹住上颌双尖牙,牙钳钳喙钳住供牙牙颈部,颊舌向摇动,沿牙长轴方向脱位,术中注意保护牙颈部及牙周膜。棉球压迫牙槽窝止血,将供牙浸泡于离心管中待用。

1.3.4 离体牙处理 将离心管置于冰水混合物中预冷 10 min, -26°C 冷藏 10 min, 转移置 -80°C 的冰箱。

1.3.5 移植就位 上述方法拔除作为对照牙的左侧下颌第二侧切牙,将牙浸泡于生理盐水中待用。将冷冻 2 周后的离心管取出,直接 37°C 温水水浴,冰块消失后(约 5 min)取出冷冻牙,生理盐水轻柔反复冲洗去除残留二甲亚砷,供牙备好后,拔除受植侧同名牙,扩大牙槽窝,冲洗牙槽窝备用。将第二侧切牙和冷冻 2 周后的第三侧切牙,植入对应同名牙槽窝内,调整咬合后十字缝线交叉固定。术后三天连续肌肉注射青霉素 40 万单位/kg。术后 1 周拆除缝线,后期半流质喂食,减少饮食对移植牙愈合的影响。分别于术后即刻、1 月、3 月拍摄 X 射线片并对其牙周袋深度、松动度及相关临床表现进行检查记录。

1.3.6 Micro-CT 扫描 术后 3 月用过量麻醉法处死比格犬,用骨锯截取术区移植牙及牙槽骨,置于 4% 多聚甲醛溶液中固定。多聚甲醛浸泡 72 h 后生理盐水及 0.01 mol/L PBS 缓冲液($\text{pH}=7.2$)冲洗浸泡组织块 3 次,每次 5 min, 75% 的酒精溶液保存、运输。扫描前校对仪器,将标本取出放入容器中并固定,保持牙长轴与扫描床平行、与扫描平面垂直。从牙尖扫描至根尖牙槽骨,运用 Micro CT(SCANCO VivaCT 40)在 30-70KvP 及 $160\mu\text{A}$ 条件下,设置获取图层间距为 0.019 mm, micro-CT vision 6.1 软件重建后,获得样本的颊舌向切面图像,以 DICOM 格式整体输出重组后导入 Mimics17 软件,进行分析。

1.3.7 组织切片制备 将样本放置在 4% 的多聚甲醛固定液中固定 7 d, PBS 缓冲液洗净多聚甲醛。之

后置于 10% 乙二胺四乙酸(EDTA)中并以 37°C 恒温水箱孵育, 4~5 天更换一次脱钙液。1 月后取出样本,蒸馏水反复漂洗,依次以浓度 60%、70%、80%、95% 的乙醇梯度脱水。脱水后的样本置于透明剂二甲苯中,液体石蜡浸泡, 60°C 恒温箱保存 2~3 d, 石蜡包埋。标本按平行牙长轴方向做颊舌向连续组织切片,染色前,须用二甲苯脱去切片中的石蜡,重复 3 次,再经由高浓度到低浓度酒精,后入蒸馏水,最后苏木素伊红染色,二甲苯透明处理三次后中性树胶封片,显微镜下观察。见图 1。

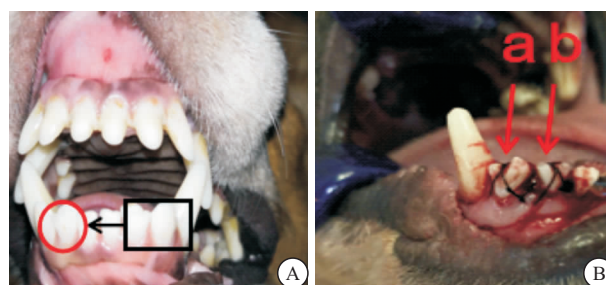


图 1 移植和受植牙位

Figure 1 Transplanted and implanted tooth position

注: A. 黑色矩形框表示要拔除的供牙, 红色圆形框表示受植牙位; B. 移植术后缝线固定。a. 实验牙; b. 对照牙

2 结果

2.1 冷冻牙和对照牙的 X 线片比较 术后即刻 X 射线片显示制备的两牙牙槽窝与移植牙贴合紧密, 未见明显牙周膜间隙。术后 1 月两牙牙龈缘轻微红肿、BOP+、松 I°, 未探及明显牙周袋, 未见瘘道, 无牙周溢脓, X 射线片示根尖周未见明显低密度透射影像, 无牙根内外吸收影像。术后 3 月两牙牙龈红肿, BOP+、松 I~II°, 探及轻度牙周袋(3~5 mm), 未见瘘道, 无牙周溢脓, X 射线片示两牙牙根表面出现不同程度凹陷性吸收, 牙槽骨吸收至根中 1/3 处, 冷冻牙近中根尖处牙骨质可见明显吸收, 根尖处可见低密度透射影, 无牙根内吸收影像。见图 2。

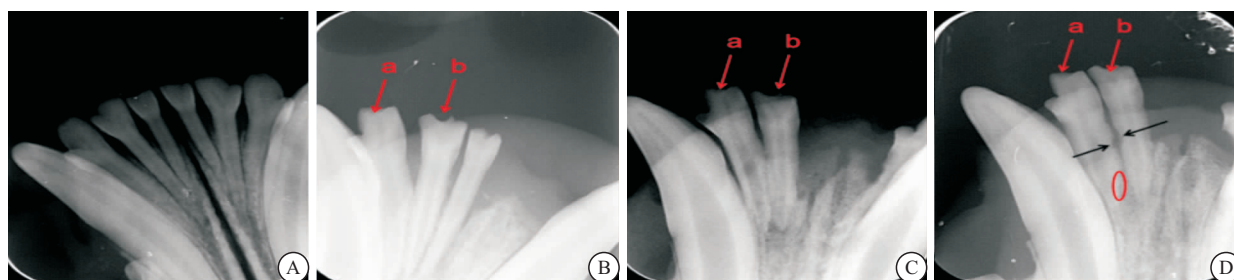


图 2 移植牙术后 1 月、3 月的 X 片

Figure 2 X-ray films of 1 month and 3 months after tooth transplantation

注: A. 术前; B. 术后即刻; C. 术后 1 月; D. 术后 3 月。a. 冷冻牙; b. 对照牙。黑色箭头示牙根吸收处, 红色圆形框示根尖吸收区

2.2 冷冻牙与对照牙 Micro-CT 扫描比较 冷冻移植牙术后 3 月牙根表面出现多处吸收影像,范围较大处波及牙本质,并伴有根尖部牙槽骨吸收,牙体与牙槽骨周围间隙明显增宽;即刻移植牙术后 3 月牙根表面略微粗糙,局部有微小浅表性吸收,牙体与牙槽骨周围未见明显间隙,根尖区无透射影。见图 3。

2.3 冷冻牙和对照牙的 HE 染色比较 术后 3 月冷冻牙可见牙根表面牙骨质吸收严重,吸收窝内肉芽组织长入,破骨细胞活跃,吸收处表面可见有新骨形成并埋入再生牙周膜纤维形成上皮再附着,但其上皮再附着松弛,周围纤维走行不规则。术后 3 月对照牙牙根表面吸收相对较轻,且牙颈部结合上皮再附着宽度相较实验牙更宽、更致密,牙周膜纤维走行也较冷冻牙更规则。见图 4。

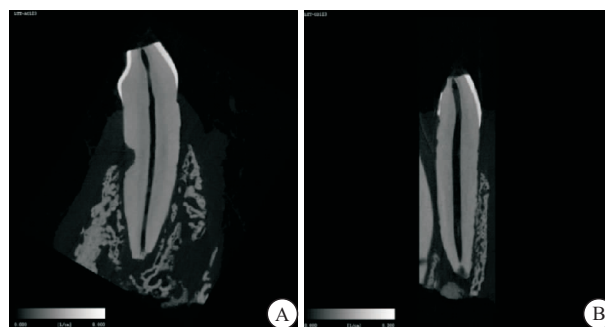


图 3 移植牙术后 3 月 Micro-CT 切面

Figure 3 Micro CT section 3 months after tooth transplantation

注:A. 术后 3 月冷冻牙 Micro-CT 切面;B. 术后 3 月对照牙 Micro-CT 切面

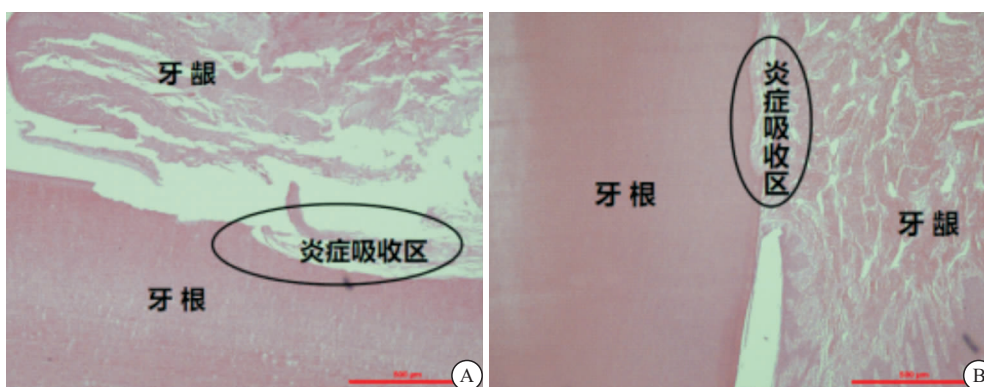


图 4 移植牙术后 3 月组织学 HE 染色切片

Figure 4 Histological HE staining section 3 months after tooth transplantation

注:A. 冷冻牙术后 3 月组织学 HE 染色切片;B. 对照牙术后 3 月组织学 HE 染色切片

3 讨论

据报道,自体移植牙的存活率为 90%~95% 不等,20~40 年后与正常牙的存活率基本相同,功能与正常牙齿相当^[11]。然而作为供牙的第三磨牙常被提前拔除,限制了牙移植的临床应用,Politis 等^[11]提出牙库的概念,通过低温冷冻的方法保存供牙,Kaku 等^[12]证明从解冻后的牙齿中分离出来的牙髓细胞保留了 73% 的生存能力,解冻后的牙周韧带细胞的增殖能力与新鲜的相似。为冷冻移植提供了组织学依据。研究发现细胞损伤与冷冻保护剂有关,文献表明 5%~10% 二甲基亚砜效果作为冷冻保护剂的效果较好^[8]。然而,也有一些文献表示加入冷冻保护剂复温后的牙易出现二甲亚砜效应,对其细胞毒性和相关副作用的担忧^[13],但对于移植牙来说,该效应大部分是可耐受,也是可逆的^[14]。可通过再植前 PBS 缓冲液反复多次冲洗残留的保护剂来减少毒性^[15]。降温速率也是影响冷冻损伤大小的重要因素。采用过快的速度降温时,细胞膜的通透性限制了胞内水分子流向

胞外,最终胞内形成冰晶撑破细胞结构;相反,冷冻速度过慢,细胞内水分子有足够时间流出导致细胞脱水发生收缩,高渗透压、高离子浓度的有害环境促使细胞受到渗透性损伤^[16]。细胞的皱缩极限是自身体积的 55%,进一步的皱缩会使细胞逐步丧失功能,最终细胞死亡。在常用低温冷冻的程序性降温、快速降温、玻璃化冷冻三种程序中,程序性降温和玻璃化冷冻效果优于快速降温,复苏后活细胞数量较多^[8,17],但操作烦琐、费时,需专门的程序控制冷冻仪,成本高。Davies 等^[18]提出一种更简单、更便宜的替代方法:将组织或细胞样本首先预冷到 4℃,随后直接沉积在 -80℃ 的冰箱或液氮中。目前研究表明,此种无控制速率的冷冻方法能有效长期冻存牙髓干细胞,解冻细胞活力、多能性、增殖和分化均无影响^[19],本研究采用上述简易冷冻方法并稍加调整,中途增加一冷冻阶段(4℃到 -80℃ 中间增加 -26℃ 冷藏 10 min),使其更接近慢速冷冻。目前关于最佳解冻方式或解冻温度的研究文献很少,在复温过程中存在两个问题:①反晶

化即复温过程中冰晶形成和生长的过程。②裂纹形成即由于缓慢且不均匀的升温速率,产生差异应力所致。对于冻存组织的解冻,大量的研究证明,快速均匀复温是最为有效的^[20]。其中使用最广泛的便是 37℃ 水浴复苏,可以有效地去除冰晶,将细胞潜在损伤能降到最小^[21]。

本研究两牙术后出现的牙周症状多考虑为移植后比格犬口腔卫生控制较差,没有良好的自洁手段,术后缝线增加食物残渣堆积,牙菌斑形成,造成早期牙龈炎,牙龈红肿,随时间进展菌斑未得到有效去除,使得炎症未得到一定控制后进展为牙周炎,引起牙槽骨吸收,牙周组织破坏,牙周袋形成。因此后续实验在比格犬移植术后,加强对移植牙牙周维护(如牙周冲洗、上药、牙周刮治等)。组织切片及影像学表现的牙根吸收多由于拔牙(牙钳钳喙用力过度致牙周膜细胞损害、牙骨质破裂)、移植(试窝时间过长、试窝过程中对牙周膜细胞产生的机械损伤)过程中牙周膜受到损伤或炎症刺激,引起巨噬细胞趋化因子、破骨细胞激活因子和前列腺素释放增加。造成牙周膜和骨髓来源的循环单核造血前体细胞在上述因子刺激下向破牙/破骨细胞分化,从而引起牙根吸收^[22]。加上实验牙冷冻和解冻过程中对牙周膜细胞造成的不可逆损伤,使得冷冻牙牙根吸收更加严重。移植牙体外操作时间过长也是影响牙根外吸收的重要原因,研究表明应尽量将操作时间控制在 10 min 以内,也有少许报道体外操作时间超过 15 min 移植牙依然存活并且得到良好牙周膜愈合的病例^[23]。为了防止拔牙的损伤,在拔牙时应轻柔用力,同时可以在钳喙上包裹湿生理盐水纱布。预备移植窝前可结合 3D 打印技术,打印移植牙试窝从而提前预备出合适大小形状的移植窝,避免试窝时产生的机械损伤及减少移植牙离体操作时间。组织切片表现的牙根吸收处新骨形成则表明了移植后冷冻牙牙周膜和对照牙一样具有活性能诱导牙周再生,成牙骨质细胞诱导新骨形成并埋入再生牙周膜纤维形成上皮再附着,但由于低温冷冻对牙周膜细胞造成不可复性损伤使得其牙周愈合较对照牙稍差。以上结果表明-80℃ 冷冻保存后的牙齿移植后在短期内牙周愈合效果是可以预期的,但随着观察时间延长其牙周预后较对照牙差,但本实验研究样本小且观察时间短,存在偶然性,观察指标单一,因此后续实验需加大样本量、延长观察时间并增加检测手段检测移植牙牙周膜活性,对可能影响因素分别进行评估。虽然目前冷冻牙移植研究进展缓慢,但仍具有很广阔的研究前景,目前鲜有关于-80℃ 保存冷冻牙的相关报道,本研究结果为后续相关实验的开展打下基

础,这对于治疗牙列缺损这一常见疾病有着重要的意义。

4 结论

低温冷冻保存后的移植牙在短期内具有一定的牙周愈合潜力,但是在长期的观察中出现牙根、牙槽骨吸收,这可能与冷冻解冻方法、冷冻保护剂选择、术中机械损伤、离体操作时间等有关,后续研究需要进一步加大样本量,控制可能影响因素。冷冻牙移植具有很广阔的研究前景,关于最适合它的冷冻方法、选用哪些种类的冷冻保护剂以及冷冻保护剂的不同浓度需要更多的研究,以期移植后能长期存活。

【参考文献】

- [1] ONG D, ITS KOVICH Y, DANCE G. Autotransplantation: a viable treatment option for adolescent patients with significantly compromised teeth[J]. Aust Dent J, 2016, 61(4): 396-407.
- [2] MACHADO L A, DO NASCIMENTO R R, FERREIRA D M, et al. Long-term prognosis of tooth autotransplantation: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2016, 45(5): 610-617.
- [3] 侯锐. 自体牙移植术简介[J]. 中国实用口腔科杂志, 2013, 6(8): 449-452.
- [4] 吴文婧, 郭雨晴, 李颂. 自体牙移植的临床研究进展[J]. 临床口腔医学杂志, 2019, 35(8): 506-508.
- [5] OSATHANON T. Transplantation of cryopreserved teeth: a systematic review[J]. Int J Oral Sci, 2010, 2(2): 59-65.
- [6] ARUTYUNYAN I, FATKHUDDINOV T, SUKHIKH G. Umbilical cord tissue cryopreservation: a short review[J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1): 236.
- [7] 赵佐舜, 刘宝林. 低温保存技术在生物样本库中的应用[J]. 制冷技术, 2020, 40(1): 66-71.
- [8] HUYNH N C, LE S H, DOAN V N, et al. Simplified conditions for storing and cryopreservation of dental pulp stem cells[J]. Arch Oral Biol, 2017, 84: 74-81.
- [9] 张川, 张鹏, 唐渝, 等. 比格犬自体牙移植的牙周重建研究[J]. 实用医院临床杂志, 2019, 16(2): 4-7.
- [10] LEE S Y, SUN C H, KUO T F, et al. Determination of cryoprotectant for magnetic cryopreservation of dental pulp tissue[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2012, 18(6): 397-407.
- [11] POLITIS C, VRIELINCK L, SCHEPERS S, LAMBRICHTS I. Cryopreservation of teeth. Organizational aspects of a tissue bank for tooth tissues[J]. Acta Stomatol Belg, 1995, 92(4): 149-154.
- [12] KAKU M, KAMADA H, KAWATA T, et al. Cryopreservation of periodontal ligament cells with magnetic field for tooth banking[J]. Cryobiology, 2010, 61(1): 73-78.
- [13] 代晓娟, 梅予锋. 离体牙低温保存技术的研究进展[J]. 口腔生物医学 2016, 7(1): 50-53.
- [14] 邵群乐, 朱双林. 低温保存技术在牙齿自体移植中的应用研究[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2009, 3(1): 96-100.

(下转第 1587 页)

- 学, 2021, 33(10): 1017-1021.
- [4] 白瑞娜, 郝瑞席, 冯志博. 巨噬细胞与动脉粥样硬化—亚型及功能[J]. 中国循环杂志, 2014, 29(5): 393-395.
- [5] SHOENFELT J, MITKUS R J, ZEISLER R, *et al.* Involvement of TLR2 and TLR4 in inflammatory immune responses induced by fine and coarse ambient air particulate matter[J]. J Leukoc Biol, 2009, 86(2): 303-312.
- [6] ZHU J, ZHAO Y, GAO Y, *et al.* Effects of different components of PM_{2.5} on the expression levels of nf- κ b family gene mRNA and inflammatory molecules in human macrophage[J]. Int J Environ Res Public Health, 2019, 16(8): 1408.
- [7] FU H, LIU X, LI W, *et al.* PM_{2.5} Exposure Induces Inflammatory Response in macrophages via the TLR4/COX-2/NF- κ B Pathway[J]. Inflammation, 2020, 43(5): 1948-1958.
- [8] RATHINAM V A, FITZGERALD K A. Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions[J]. Cell, 2016, 165(4): 792-800.
- [9] 董凤鸣, 莫运政, 李国星, 等. 大气颗粒物(PM₁₀/PM_{2.5})与人群循环系统疾病死亡关系的病例交叉研究[J]. 北京大学学报(医学版), 2013, 45(3): 398-404.
- [10] 齐铁雄, 石琳, 郑彤, 等. 四种污染源气态颗粒物对大鼠血清肌红蛋白和脑钠肽的影响[J]. 西部医学, 2018, 30(9): 1252-1256.
- [11] GENG J, LIU H, GE P, *et al.* PM_{2.5} promotes plaque vulnerability at different stages of atherosclerosis and the formation of foam cells via TLR4/MyD88/NF κ B pathway[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, 176: 76-84.
- [12] 严小甜, 丁志山. PM_{2.5} 暴露致机体损伤及其机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(2): 71-80.
- [13] 赵培, 刘晶, 于芳, 等. PM_{2.5} 对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化的影响及机制[J]. 西部医学, 2021, 33(3): 326-329, 335.
- [14] 张丽, 王江, 王秀艳, 等. 动脉粥样硬化大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 以及冠状动脉巨噬细胞 CD68 的变化[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(21): 5391-5393.
- [15] DU X, JIANG S, ZENG X, *et al.* Fine particulate matter-induced cardiovascular injury is associated with NLRP3 inflammasome activation in Apo E^{-/-} mice[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, 174: 92-99.
- [16] WEICHENTHAL S A, GODRI-POLLITT K, VILLENEUVE P J. PM_{2.5}, oxidant defence and cardiorespiratory health: a review[J]. Environ Health, 2013, 12: 40.
- [17] TABAS I. Consequences and therapeutic implications of macrophage apoptosis in atherosclerosis: the importance of lesion stage and phagocytic efficiency[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(11): 2255-2264.
- [18] XU Y J, ZHENG L, HU Y W, *et al.* Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2018, 476: 28-37.
- [19] CROBEDDU B, ARAGAO-SANTIAGO L, BUI L C, *et al.* Oxidative potential of particulate matter 2.5 as predictive indicator of cellular stress[J]. Environ Pollut, 2017, 230: 125-133.
- [20] WOLF D, LEY K. Immunity and Inflammation in Atherosclerosis[J]. Circ Res, 2019, 124(2): 315-327.

(收稿日期: 2021-12-05; 修回日期: 2022-06-20; 编辑: 刘灵敏)

(上接第 1580 页)

- [15] KÜHL S, DEYHLE H, ZIMMERLI M, *et al.* Cracks in dentin and enamel after cryopreservation[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2012, 113(2): e5-e10.
- [16] 刘威, 郭明伟, 郭治宇, 等. 胞内冰形成机理研究进展[J]. 制冷学报, 2018, 39(3): 126-134.
- [17] LI T, MAI Q, GAO J, *et al.* Cryopreservation of human embryonic stem cells with a new bulk vitrification method[J]. Biol Reprod, 2010, 82(5): 848-853.
- [18] DAVIES O G, SMITH A J, COOPER P R, *et al.* The effects of cryopreservation on cells isolated from adipose, bone marrow and dental pulp tissues [J]. Cryobiology, 2014, 69(2): 342-347.
- [19] KUMAR A, BHATTACHARYYA S, RATTAN V. Effect of uncontrolled freezing on biological characteristics of human dental pulp stem cells[J]. Cell Tissue Bank, 2015, 16(4): 513-522.
- [20] FINGER E B, BISCHOF J C. Cryopreservation by vitrification: a promising approach for transplant organ banking[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2018, 23(3): 353-360.
- [21] PERRY B C, ZHOU D, WU X, *et al.* Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2008, 14(2): 149-156.
- [22] 黄晓君, 方杨, 李润意, 等. 无托槽隐形矫治与固定矫治术对辅助正畸患者牙周健康的影响[J]. 西部医学, 2019, 31(10): 1577-1581.
- [23] CHAŁAS R, WÓJCIK-CHEĆINSKA I, WOŹNIAK M J, *et al.* Płytką bakteryjną jako biofilm-zagrozenia w jamie ustnej oraz sposoby zapobiegania [Dental plaque as a biofilm - a risk in oral cavity and methods to prevent][J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2015, 69: 1140-1148.

(收稿日期: 2021-12-28; 修回日期: 2022-09-13; 编辑: 刘灵敏)