

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.07.004

实验性延期再植牙大鼠模型组织学分析方法的建立 *

邸天凯 汪璐璐 陈宇江 韩欣欣 王小竞[△](军事口腔医学国家重点实验室 口腔疾病国家临床医学研究中心 陕西省口腔疾病临床医学研究中心
第四军医大学口腔医院儿童口腔科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:建立延期再植牙大鼠模型并观察牙根不同部位预后特点,比较不同组织学分析方法的合理性,为相关临床、基础研究提供参考。**方法:**6周龄雄性SD大鼠10只,右侧上颌切牙脱位后延期再植,术后30d处死,分离上颌骨;利用micro CT从不同截面分析上颌切牙及牙周组织生理结构。切片后通过HE染色、MASSON染色、TRAP染色观察比较牙根不同部位愈合情况、破骨细胞分布情况。**结果:**大鼠切牙唇侧有釉质覆盖,腭侧牙骨质覆盖,且再植牙不同部位愈合情况、破骨细胞分布有差异,其牙根唇侧未见明显吸收,腭侧根中1/3相比根尖1/3和根颈1/3吸收范围更广、深度更深,破骨细胞分布数量更多,差异具有统计学意义($P<0.001$),提出了腭侧中1/3作为牙根吸收组织学分析区域的合理性。**结论:**本实验比较了再植牙大鼠模型牙根不同部位的愈合情况,提出了一种较为合理的组织学分析方法,能客观反映再植牙愈合方式,为进一步研究再植牙愈合机理提供了较好的研究模型。

关键词:牙全脱位;再植牙;牙根吸收;破骨细胞;动物模型

中图分类号:R-33;R782.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)07-1217-07

Establishment of Histological Analysis Method of Experimental Delayed Tooth Replantation Rat Model *

DI Tian-kai, WANG Lu-lu, CHEN Yu-jiang, HAN Xin-xin, WANG Xiao-jing[△]

(State Key Laboratory of Military Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Shaanxi Clinical Research Center for Oral Diseases, Department of Pediatric dentistry, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To establish a rat model of delayed tooth replantation and observe the prognostic characteristics of different root areas, compare the rationality of different histological analysis methods, and provide references for related clinical and basic research. **Methods:** Ten 6-week-old male Sprague-Dawley rats were replanted after the right maxillary incisor was extracted. They were sacrificed 30 days after the operation, and the maxilla was separated. The physiological structures of the maxillary incisors and periodontal tissue were analyzed from different sections by micro CT. After sectioning, HE staining, MASSON staining, and TRAP staining were used to observe the healing of different parts of the root and the distribution of osteoclasts. **Results:** The labial side of the rat incisor was covered by enamel, and the palatal side was covered by cementum. The healing situation and the distribution of osteoclasts were different in different parts of the replanted tooth. Among them, 1/3 of the palatal side was suitable for the histology of root resorption. analysis. There was no obvious absorption on the labial side of the tooth root. Compared with the apical 1/3 and the cervical 1/3, the absorption range and depth of the middle part was wider and deeper, and the number of osteoclasts was more distributed, in which the difference was statistically significant ($P<0.001$), suggesting the rationality that the middle 1/3 of the palatal side is suitable for histological analysis of root resorption. **Conclusions:** This experiment compares the healing of different parts of the tooth root in the replanted rat model, and proposes a more reasonable histological analysis method, which can objectively reflect the healing mode of the replanted tooth, and provides a better research model for further study about the healing mechanism of replanted teeth.

Key words: Tooth avulsion; Tooth replantation; Root resorption; Osteoclast; Animal model

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R782.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)07-1217-07

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81670988);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2019JQ-699);

陕西省科技计划项目(2020SF-013);军事口腔医学国家重点实验室自研课题(2019ZA06)

作者简介:邸天凯(1994-),男,博士研究生,主要研究方向:牙外伤,E-mail:ditiankai@outlook.com

[△] 通讯作者:王小竞(1963-),女,博士生导师,教授,主要研究方向:儿童颌面部发育,牙外伤,咬合诱导,

E-mail:wxjingpd@hotmail.com,电话:029-776087

(收稿日期:2020-08-21 接受日期:2020-09-16)

前言

牙外伤是口腔科发病率较高的急重症之一。国际牙外伤协会(IADT, International Association of Dental Traumatology)在2020年牙外伤指南中将牙外伤分为三大类:牙齿和牙槽骨骨折、牙齿脱位性损伤、全脱位^[1]。其中,全脱位的病情最为严重,是指牙齿完全脱出牙槽窝并暴露于外界环境中。其发生率可达0.5~3%^[2],预后影响因素较多,是牙外伤研究热点之一^[3]。

牙再植术是恒牙全脱位的常规治疗方法,即分别对脱位牙和牙槽窝进行适当处理后,将患牙植回于牙槽窝内^[4]。牙根吸收是牙再植术后常见的并发症,严重者可导致患者失牙。目前越来越多的研究聚焦于牙再植术后的继发性牙根外吸收^[5-7],且大鼠作为最为常见的实验动物之一,上颌切牙再植模型被大量应用于再植牙实验研究,但目前国内外相关研究中所用的组织学分析区域、分析方法却有所不同。目前应用较多的有"四点观察法"、"八点观察法"、对比不同愈合方式的牙根长度所占比例、对比根吸收体积/面积、制定量表量化评分对比等思路^[8,9]。因此,建立一种更为合理、客观的大鼠牙再植模型组织学方法是必要的。

本研究拟观察大鼠再植牙模型牙根不同部位的愈合特点,建立较为合理的组织学分析方法,为今后相关研究的开展提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性SD大鼠由空军军医大学动物实验中心提供;Vitapex糊剂购自日本森田株式会社;iRoot BP Plus根管修复材料购自美国Innovative BioCeramix公司;Micro-CT扫描仪(Y.Cheetah)购自德国YXLON公司;硬组织切磨系统购自德国EXAKT公司;1:10万肾上腺素4%阿替卡因注射液购自法国碧兰公司;戊巴比妥钠购自美国sigma公司;抗酒石酸酸性磷酸酶染液(D023-1-1)、MASSON染液(D026-1-3)购自中国南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立 建立大鼠全脱位牙延期再植模型,即以1%戊巴比妥钠溶液对大鼠施行腹腔注射麻醉,剂量为3 mg/kg,取仰卧位将大鼠四肢、上颌固定。用1%碘酊消毒口内,重复消毒实验拔除牙及周围软组织;使用75%乙醇消毒术区周围。完整拔出右上颌切牙,Vitapex行根管倒充填,iRoot BP封闭根尖孔3 mm,体外干燥保存1小时后复位回牙槽窝。不需额外固定,因为大鼠上颌切牙特有的解剖结构可以使得再植牙固定于牙槽窝内不掉落。牙再植术后为大鼠照常饲水,提供较软食物以避免早期愈合不良。所有动物均于第四军医大学实验动物中心(SPF级)统一饲养,环境温度(22±1)℃,相对湿度(60±5)%。

1.2.2 Micro-CT扫描 实验结束时,采用CO₂法将大鼠安乐死处理,取上颌骨,即刻行Micro-CT扫描,并用MINICS 21.0软件进行处理分析。观察大鼠切牙生理结构、再植牙愈合情况。

1.2.3 HE染色与牙周愈合情况 使用4%多聚甲醛固定上颌

骨样本24小时,使用10%EDTA常温下脱钙,石蜡包埋,沿右上颌切牙牙体长轴方向矢状面连续切片5 μm,切片58~60℃下烘烤,二甲苯脱蜡后再用不同梯度酒精复水,苏木素染色,水洗,盐酸酒精分化,流水冲洗返蓝,伊红染色,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。于正置显微镜下观察组织学表现并拍摄数码照片,将牙根-牙周组织分为六个区域:唇侧根颈部1/3、唇侧根中部1/3、唇侧根尖部1/3、腭侧根颈部1/3、腭侧根中部1/3、腭侧根尖部1/3,每部分取包括牙槽骨、牙体组织、牙周膜在内的边长约2 mm正方形区域进行分析,描述选框内牙周膜、牙根、牙槽骨等组织的变化。IPP软件分析图片,设定标尺,计算根周炎症性吸收与替代性吸收长度、平均深度。

1.2.4 MASSON染色 切片步骤同上,石蜡切片脱蜡,梯度酒精复水,自来水冲洗后蒸馏水反复冲洗,用苏木精染液处理5 min,充分水洗,盐酸酒精分化,蒸馏水洗,丽春红染液处理5 min,2%冰醋酸溶液浸泡2-3 min,1%磷钼酸水溶液分化3 min,甲苯胺蓝染3 min,0.2%冰醋酸水溶液浸泡2-3 min,95%酒精、无水酒精处理、二甲苯透明后使用中性树胶封片。胶原纤维呈蓝色,观察再植牙不同区域胶原纤维形成情况。

1.2.5 TRAP染色与破骨细胞计数 切片步骤同上,按照试剂盒说明书步骤使用抗酒石酸酸性磷酸酶染液进行TRAP染色,阳性细胞胞浆显色为鲜红色或深红色,按照1.2.3中描述分区方法镜下观察破骨细胞分布情况并计数。

1.3 统计学分析

采用SPSS 22.0统计软件对所得数据进行one-way ANOVA分析,两两比较采用Turkey检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 Micro-CT扫描结果

通过软件大鼠右上颌切牙进行3D建模并截取矢状面、冠状面和水平面图像,结果如图1所示。再植牙保存于牙槽窝内,未出现脱落。由冠状面、矢状面图像可见,右大鼠上颌切牙成圆心角约180°的同心圆弧形,其牙根唇侧面全场均覆盖有呈高密度影的釉质结构,釉质内侧及牙根腭侧面则由牙本质构成。与左上颌切牙相比,再植的右上颌切牙根管内充填材料完好,牙周膜间隙可见明显不规则状骨吸收与根吸收暗影。见图1。

2.2 HE染色与牙周愈合情况

大鼠上颌切牙唇侧全长覆盖牙釉质,其表面未见明显吸收陷窝;腭侧吸收明显,原有牙周膜组织被炎症细胞、新生骨组织替代较多,可见牙本质表面吸收陷窝较多,大面积炎症吸收、替代性吸收。

柱状图为HE染色分析腭侧根吸收情况对比。结果显示,根尖1/3、根中1/3、根颈1/3的吸收陷窝长度占分析区域牙本质界面总长度百分比分别为(76.75±4.51)%、(51.65±8.39)%和(73.14±7.13)%,与根中1/3相比根尖1/3和根颈1/3吸收范围更广,差异具有统计学意义($P<0.001$);根尖1/3、根中1/3、根颈1/3的吸收陷窝平均深度分别为(78.83±11.01) μm、(52.92±11.93) μm和(102.04±10.41) μm,与根中1/3相比根尖1/3和根颈1/3吸收深度更深,差异具有统计学意义($P<0.001$)。见图2。

2.3 MASSON染色与胶原纤维形成情况

MASSON染色结果可见,大鼠上颌切牙唇侧被覆牙釉质

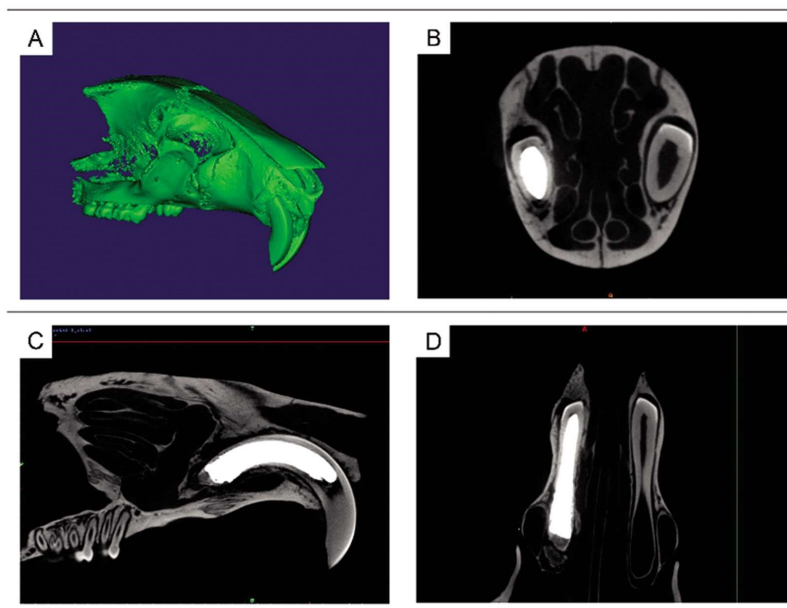


图1 大鼠上颌切牙及牙周组织形态

Fig.1 Morphology of rat right maxillary incisor and periodontal tissue

注: A 大鼠上颌骨 3D 建模图像 B 冠状面图像 C 矢状面图像 D 水平面图像

Note: A. 3D modeling image of rat maxilla B. coronal image C. sagittal image D. horizontal image

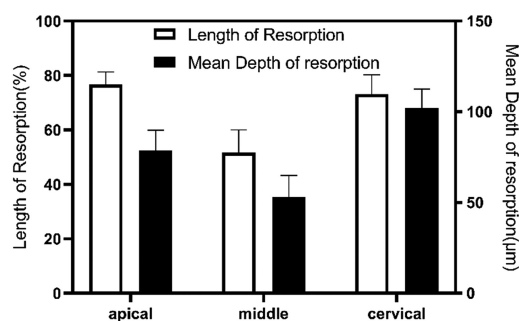
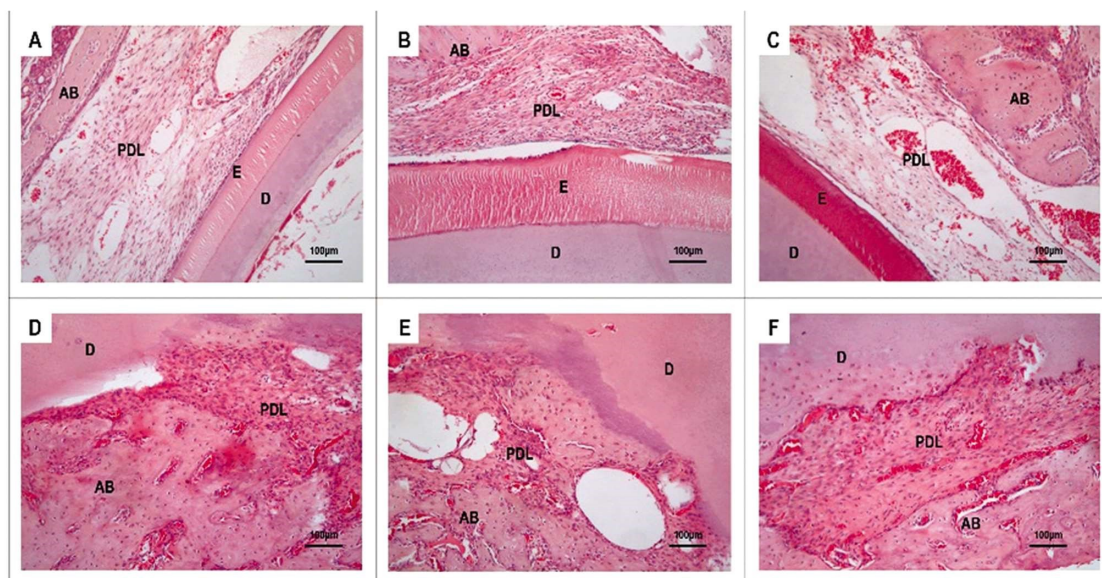


图2 HE 染色与牙根吸收情况

Fig.2 HE staining and root resorption

注: A 唇侧根尖部 B 唇侧根中部 C 唇侧根颈部 D 腭侧根尖部 E 腭侧根中部 F 腭侧根颈部

Note: A. The apical part of the labial side B. The middle part of the root part on the labial side C. The cervical part on the labial side D. The apical part of the palatal side E. The middle part of the root on the palatal side F. The cervical part on the palatal side

(E: Enamel, 牙釉质; D: Dentin, 牙本质; PDL: 牙周膜; AB: Alveolar Bone, 牙槽骨)

胶原纤维含量低因而染色呈红色,表面未见明显吸收陷窝,牙周膜组织区域未见炎症细胞与新骨形成;腭侧牙体组织吸收明显,多见炎性吸收与替代性吸收,表面可见较大面积吸收陷窝,

炎细胞浸润,牙周膜纤维结构紊乱,可见替代性吸收形成的骨样结构。见图3。

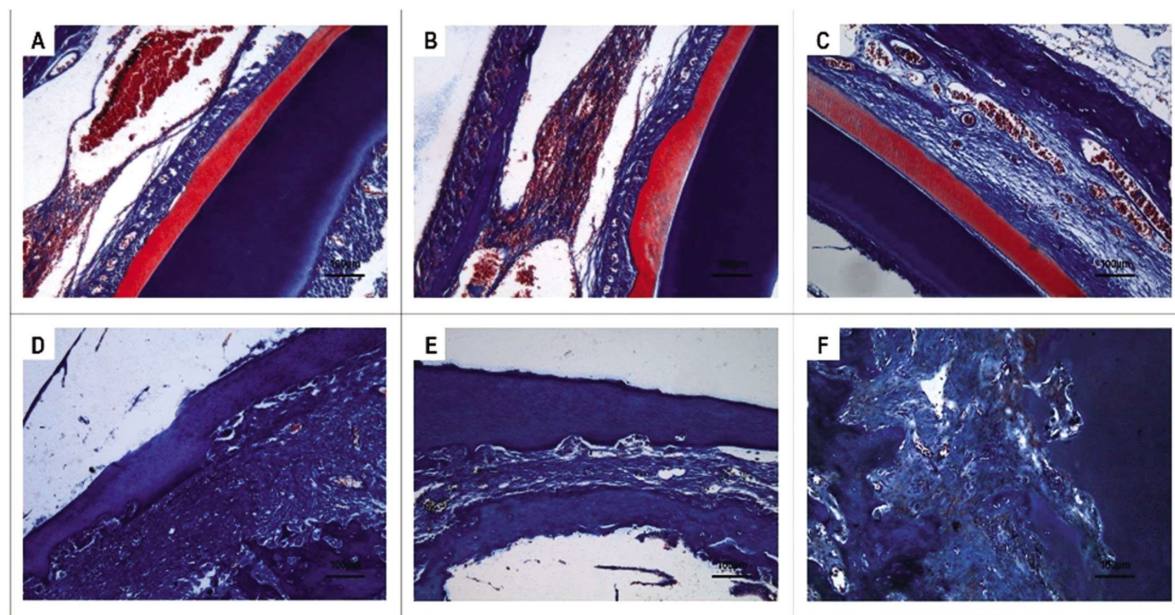


图3 再植牙牙周组织 MASSON 染色

Fig.3 MASSON staining of periodontal tissue of replanted teeth

注: A 唇侧根尖部 B 唇侧根中部 C 唇侧根颈部 D 腭侧根尖部 E 腭侧根中部 F 腭侧根颈部

Note: A. The apical part of the labial side B. The middle part of the root part on the labial side C. The cervical part on the labial side D. The apical part of the palatal side E. The middle part of the root on the palatal side F. The cervical part on the palatal side

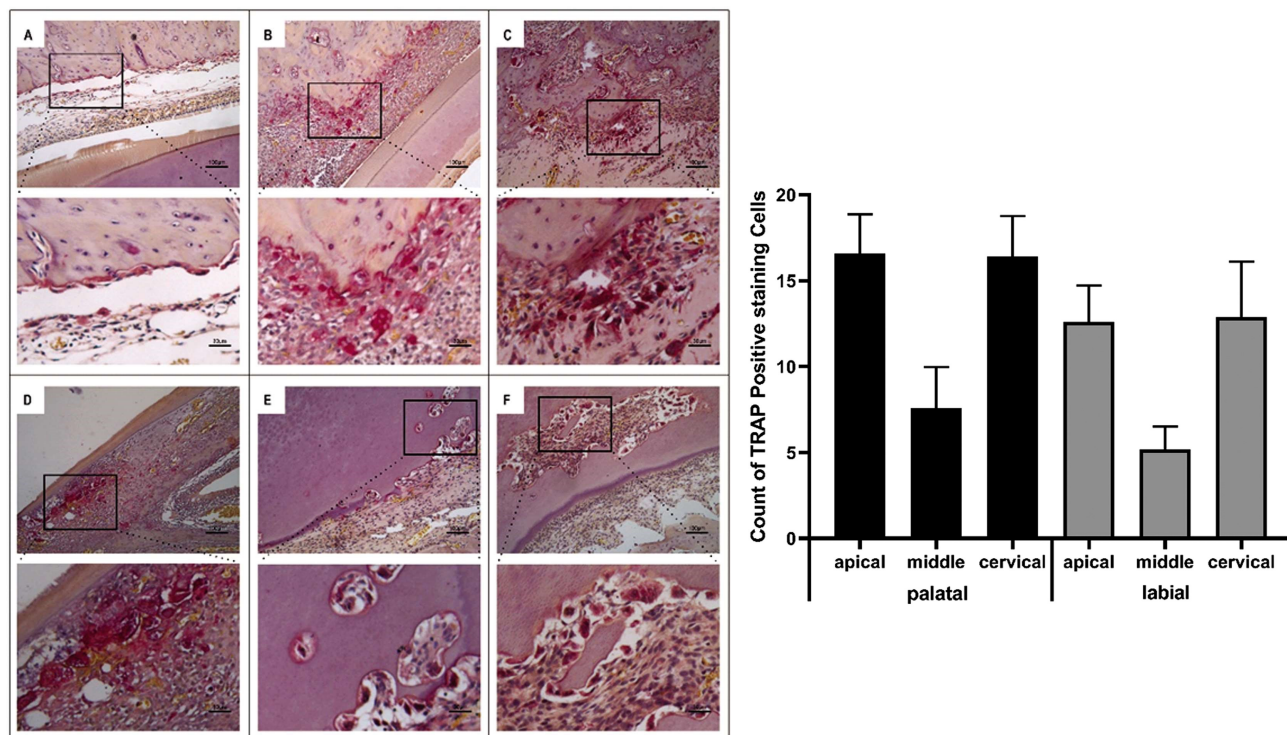


图4 TRAP 染色与破骨细胞分布情况

Fig.4 TRAP staining and osteoclast distribution

注: A 唇侧根尖部 B 唇侧根中部 C 唇侧根颈部 D 腭侧根尖部 E 腭侧根中部 F 腭侧根颈部

Note: A. The apical part of the labial side B. The middle part of the root part on the labial side C. The cervical part on the labial side D. The apical part of the palatal side E. The middle part of the root on the palatal side F. The cervical part on the palatal side

2.4 TRAP 染色与破骨细胞计数

TRAP 染色显示,大鼠上颌切牙唇侧表面未见明显吸收陷窝,但其外侧牙周膜组织、牙槽骨中可见少量胞浆显色为鲜红色的破骨细胞分布;腭侧吸收明显,其牙根表面、牙周膜、牙槽骨位置均可见破骨细胞分布。

柱状图为各区域 TRAP 阳性细胞分布数量。结果显示,唇侧根尖 1/3、根中 1/3、根颈 1/3 的 TRAP 阳性细胞计数结果(16.60 ± 2.27)、(7.60 ± 2.37)和(16.4 ± 2.36),腭侧根尖 1/3、根中 1/3、根颈 1/3 的 TRAP 阳性细胞计数结果(12.60 ± 2.12)、(5.20 ± 1.32)%和(12.9 ± 3.12)%在根中 1/3 与根尖 1/3 和根颈 1/3 区域,腭侧 TRAP 阳性细胞数量均多于唇侧,差异具有统计学意义($P<0.001$);另外,在腭侧和唇侧,根中 1/3 区域 TRAP 阳性细胞数量均多于根尖 1/3 和根颈 1/3,差异具有统计学意义($P<0.001$)。见图 4。

3 讨论

研究表明,恒牙全脱位再植后的五年生存率可达 50%^[10],再植牙牙周愈合所受影响因素较为多样,包括牙根发育状态、脱位后体外保存时间与介质、根管治疗时机选择、根管充填物成分、再植牙固定方式和时间以及咬合加载时机等等。其最为理想的愈合方式是牙周膜愈合,但较多全脱位牙再植前其牙周膜组织已出现严重损伤与坏死,再植后发生病理性吸收的可能性较大,例如表面吸收、炎性吸收和替代性吸收,影响了再植牙的存留率^[11-13]。根据相关调查,全脱位牙往往在损伤后 1~4 h 才能得到有效救治^[14],患牙离体期间若保存在干燥条件,其表面的牙周膜组织会脱水坏死^[15],成为引发牙根外吸收的始动因子^[16]。Andreasen 等研究显示^[17],即刻再植(离体 5 min 内)的脱位牙,其牙周膜愈合率可达 85%~97%,比起体外保存时间超过 30 min 的牙齿,脱位 30 min 内再植的牙齿再植治疗效果明显提高。在以往的研究中,通常认为全脱位牙在干燥条件下保持时间若大于 60 min,大部分牙周膜细胞活性会丧失,进而造成术后严重的牙根吸收^[18]。如何预防和控制牙根吸收,是改善再植牙预后的重要研究方向^[19-21]。目前国内外牙再植方面的研究均以个案报道和动物实验为主^[22],其中实验研究大多基于组织形态学与病理生理学^[23-26]。因此选择合适的动物模型和客观的组织学分析方法对于再植牙及继发牙根外吸收发生机制方面的研究具有重要意义。

Andreasen 在牙外伤动物模型方面进行了大量的研究,其认为牙外伤动物模型的建立需要满足以下几方面的要求:(1)实验牙根的发育状态、牙髓状况应统一;(2)拔牙方法要统一且拔牙时损伤要尽量小;(3)牙位的类型具有可比性,而实验动物的性别、实验牙位置不会明显影响实验结果,实验动物个体差异可以忽略不计^[6]。既往关于牙撕脱伤行再植术后牙周愈合的相关研究中,模型动物涉及鼠、兔、猫、小型猪、犬类、猴子等^[27-30]。猴在生理结构上更接近人类,颌面部及牙齿形态也与人类有着较高的相似度,常作为实验动物。但用猴做实验,其来源受到极大限制,且饲养成本较高,很难做大样本观察。常使用的大型实验动物如狗、猪等虽然牙齿形态与人类近似,但其体型较大、生长周期较长,饲养及操作有一定难度,成本等因素使实验研究也受到一定的限制。

本实验中使用 SD 大鼠为再植牙建模动物,大鼠体格相对较小,饲养难度低,经济适用,可做较大样本研究;大鼠基因与人类同源性较高,且大鼠牙槽骨骨代谢更新非常快,可缩短观察期。以往的再植牙实验中,多使用上切牙或磨牙^[31-37],但大鼠上颌第一磨牙有 5 个牙根,分叉度大,加之大鼠口腔视野较小,完整拔出后再植操作难度大。因此,拔除大鼠上颌切牙的可行性更高,更有利于实验的大规模开展。再植牙实验大鼠均选用 6 周龄、体重约 150 g 的雄性 SD 大鼠。若选择低周龄大鼠,其牙根未发育完全,根壁薄弱,此时的再植牙愈合过程可对实验结果产生一定影响,不能反映正常状态下再植牙牙根吸收的过程;若选择大龄老鼠,其牙根虽发育完全,但牙槽骨密度增高、牙根矿化程度高、质地坚硬,建模过程中易发生根折及牙槽骨骨折;6 周龄大鼠上颌切牙牙根具备一定厚度,且此时牙槽骨密度较低,利于造模。

以往使用猪、狗、猴等实验动物的研究中,由于其切牙牙根结构与人类类似,多采用提出的“四点观察法”或“八点观察法”^[8,9],牙根横截面切片行 HE 染色后四个或者八个观察位点:以根管腔中心为中心,颊侧正中、舌侧正中、近中、远中牙根表面为四观察点,当愈合状况在各组之间存在明显差别,可以满足统计学要求时此种方法即可;若观察组间差别不大,且分析结果准确性要求高,则需增加近颊、远颊、近舌、远舌四点,共计八位点进行组织学分析。但目前以再植大鼠上颌切牙作为动物模型的研究中,组织学分析方法并不一致。有研究采用垂直于切牙牙体长轴的横截面切片并使用“四点观察法”或“八点观察法”^[38,39],也有较多研究采取沿牙体长轴方向矢状面切片并计算牙根吸收长度和面积的方法。因此有必要以大鼠上颌切牙的生理结构为依据,提出一种可操作性强且能够尽量模拟人体再植牙愈合特点的组织学分析方法。

本实验一结果中,大鼠上颌切牙 Micro CT 结果表明,大鼠切牙整体呈半圆弧形,唇侧面牙根全长均有牙釉质覆盖,这一点有别于人类牙根“牙本质-牙骨质-牙周膜-牙槽骨”的生理结构。而切牙腭侧的牙周组织层次结构与人类相似,为“牙本质-牙骨质-牙周膜-牙槽骨结构”,能够较好的模拟人体再植牙愈合过程。实验二、三结果显示,牙根不同区域根吸收情况具有一定差异,结果显示再植牙腭侧的根吸收较唇侧更为严重,其原因在于大鼠上颌切牙牙根唇、腭侧生理结构的不同:其牙根唇侧组织层次为“牙本质-牙釉质-成釉细胞层-牙周膜-牙槽骨”层次结构,腭侧组织层次为“牙本质-牙骨质-牙周膜-牙槽骨”层次结构。釉质结构致密,矿化程度高,质地坚硬,破骨陷窝形成更少。根尖、根中、根颈部的吸收情况显示根中 3/1 吸收陷窝的长度和深度均小于根尖、根颈部,其原因在于造模过程中采用牙挺、牙钳拔除上颌切牙时对于牙根颈 1/3 部损伤较大,破坏了牙周膜和牙骨质结构,且牙脱位后为了防止牙根继续生长,刮除根尖牙乳头组织时不可避免的对根尖 1/3 牙周组织造成损伤,据此分析,再植牙腭侧根中 1/3 部分的愈合方式更加接近自然状态下再植牙的预后,更适合作为组织学分析的区域。

破骨细胞破骨细胞是人体中唯一一种具有吸收矿化硬组织功能的细胞,在牙再植术后的根吸收中充当着重要的角色,其趋化、活化过程伴随牙根吸收的全过程。实验四通过对再植

牙根周破骨细胞计数, 比较了牙根不同区域破骨细胞分布情况。结果显示, 再植牙腭侧破骨细胞数量高于唇侧, 根颈部、根尖部破骨细胞分布多于根中部, 总体趋势与实验二、三的结果相符。全脱位牙延期再植后, 干燥、坏死的牙周膜细胞再植前会被去除, 牙周组织完整性的破坏大大增加病理性吸收的发生率。牙根外吸收过程中包含两个重要的过程, 即牙骨质的损伤以及破骨细胞吸收^[40]。研究表明, 牙骨质细胞可以有效抵抗破骨细胞的骨吸收作用, 是牙根外吸收过程的重要屏障^[41], 牙骨质缺损往往发生在牙根外吸收之前^[42]。破骨细胞在牙骨质和牙本质表面的黏附能力存在明显差异^[43, 44], 牙本质表面的破骨细胞表现出更强的活性, 例如肌动蛋白环形成更多, 吸收陷窝出现更加迅速。也就是说, 牙本质、牙骨质对于破骨细胞吸收作用的抵抗能力有所不同, 在相同条件刺激下, 若牙骨质损伤、牙本质暴露会导致更加严重的牙根外吸收。鉴于牙骨质在牙根吸收过程中的重要作用, 为在动物实验中尽可能模拟人体内再植牙的愈合方式, 我们需要选取与人类牙周组织结构相似的动物模型进行实验以提高可信度, 且建模过程中切忌伤及牙周组织, 尽量保证牙周组织的完整性。

本次实验所建立的大鼠延期再植牙动物模型客观反映了再植牙自然状态下的愈合方式及牙根吸收过程, 再植牙根周组织变化符合根吸收组织学变化特征。实验结果证明了大鼠再植上颌切牙腭侧根中部 1/3 能够较好的模拟人体再植牙愈合过程, 适合作为组织学分析的目标区域, 为进一步研究再植牙愈合方式及牙根吸收机理奠定了良好的基础。

参考文献(References)

- [1] Fouad A F, Abbott P V, Tsilingaridis G, et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth [J]. Dent Traumatol, 2020, 36(4): 331-342
- [2] Andersson L, Andreasen J O, Day P, et al. Guidelines for the Management of Traumatic Dental Injuries: 2. Avulsion of Permanent Teeth[J]. Pediatr Dent, 2017, 39(6): 412-419
- [3] Moran I, James M, Cook W, et al. Tooth avulsion [J]. Bmj, 2016, 353: i1394
- [4] Spinaz E, Generali L, Mameli A, et al. Delayed tooth replantation and inflammatory root resorption in childhood and adolescence [J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2019, 33(2): 623-627
- [5] Hasanuddin S, Reddy J S. Sequelae of delayed replantation of maxillary permanent incisors after avulsion: A case series with 24-month follow-up and clinical review [J]. J Indian Soc Pedod Prev Dent, 2018, 36(4): 410-416
- [6] Ionta F Q, Gonçalves P S P, Honório H M, et al. Delayed tooth reimplantation with 4-year follow-up: the management of ankylosis during facial growth[J]. Gen Dent, 2018, 66(3): 53-57
- [7] Luo Y, Ma Z, Tian Z, et al. Replantation of two avulsed teeth after 1 h of storage in adverse extraoral dry conditions: A thought-provoking outcome after a 15-month follow-up[J]. Ann Anat, 2020, 231: 151514
- [8] Andreasen J O. Experimental dental traumatology: development of a model for external root resorption[J]. Endod Dent Traumatol, 1987, 3 (6): 269-287
- [9] Andersson L, Jonsson B G, Hammarström L, et al. Evaluation of statistics and desirable experimental design of a histomorphometrical method for studies of root resorption [J]. Endod Dent Traumatol, 1987, 3(6): 288-295
- [10] Coste S C, Silva E F E, Santos L C M, et al. Survival of Replanted Permanent Teeth after Traumatic Avulsion [J]. J Endod, 2020, 46(3): 370-375
- [11] Robertson A, Norén J G. Knowledge-based system for structured examination, diagnosis and therapy in treatment of traumatised teeth [J]. Dental Traumatology, 2001, 17(1): 5-9
- [12] Krug R, Kreimeier K, Krastl G. Long-term retention of avulsed maxillary permanent incisors replanted after prolonged non-physiological storage[J]. Dent Traumatol, 2019, 35(2): 147-152
- [13] Lauridsen E, Andreasen J O, Bouaziz O, et al. Risk of ankylosis of 400 avulsed and replanted human teeth in relation to length of dry storage: A re-evaluation of a long-term clinical study [J]. Dent Traumatol, 2020, 36(2): 108-116
- [14] Panzarini S R, Gulinelli J L, Poi W R, et al. Treatment of root surface in delayed tooth replantation: a review of literature [J]. Dental Traumatology, 2008, 24(3): 277-282
- [15] Pohl Y, Filippi A, Kirschner H. Results after replantation of avulsed permanent teeth. II. Periodontal healing and the role of physiologic storage and antiresorptive-regenerative therapy [J]. Dent Traumatol, 2005, 21(2): 93-101
- [16] Pettiette M T, Hupp J G, Mesaros S V, et al. Periodontal healing of extracted dogs' teeth air-dried for extended periods and soaked in various media[J]. Dental Traumatology, 1997, 13(3): 113-118
- [17] Andreasen J O, Borum M K, Jacobsen H, et al. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 4. Factors related to periodontal ligament healing[J]. Dental Traumatology, 1995, 11(2): 76-89
- [18] Maslamani M, Joseph B, Gabato S, et al. Effect of periodontal ligament removal with gauze prior to delayed replantation in rabbit incisors on rate of replacement resorption [J]. Dent Traumatol, 2018, 34(3): 182-187
- [19] Lou Q, Zhu Y, Wang X. Fourteen Years After Delayed Replantation of an Avulsed Permanent Tooth: Clinical Features and Outcomes[J]. J Craniofac Surg, 2019, 30(8): e692-e694
- [20] Ruizhen F, Siyi L, Lei G, et al. Decoronation management of the replacement resorption after delayed replantation of avulsed teeth-case report with 4-year follow-up[J]. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi, 2017, 35(6): 665-669
- [21] Demir P, Guler C, Kizilci E, et al. Survival of avulsed permanent incisors in children following delayed replantation [J]. Niger J Clin Pract, 2020, 23(5): 631-637
- [22] Kırzioğlu Z, Erken Güngör, Erdoğan Y. 16-Year follow-up of an avulsed maxillary central incisor after replantation following 10-h storage: An unusual case[J]. Spec Care Dentist, 2017, 37(4): 199-203
- [23] Biagi R, Maccagnola V. Survival of a Maxillary Incisor in an Adolescent Male 16 Years after Its Delayed Replantation [J]. Dent J (Basel), 2019, 7(4): 101[Epub ahead of print]
- [24] Da Silva L A B, Longo D L, Stuardi M B S, et al. Effect of root surface treatment with denosumab after delayed tooth replantation [J]. Clin Oral Investig, 2020
- [25] Esteves J C, Marão H F, Silva P I, et al. Delayed tooth replantation

- following root canal filling with calcium hydroxide and MTA: Histomorphometric study in rats[J]. Arch Oral Biol, 2015, 60(9): 1254-1262
- [26] Priya M H, Tambakad P B, Naidu J. Pulp and Periodontal Regeneration of an Avulsed Permanent Mature Incisor Using Platelet-rich Plasma after Delayed Replantation: A 12-month Clinical Case Study[J]. J Endod, 2016, 42(1): 66-71
- [27] Gomes W D, Silva C A, Melo M E, et al. Delayed tooth replantation in rats: effect of systemic antibiotic therapy with amoxicillin and tetracycline[J]. Dent Traumatol, 2015, 31(6): 448-456
- [28] Kwon Y, Ko H, Kim S, et al. The effect of cathepsin K inhibitor surface treatment on delayed tooth replantation in dogs [J]. Dent Traumatol, 2018, 34(3): 201-207
- [29] Maslamani M, Almusawi A, Joseph B, et al. An experimental model for studies on delayed tooth replantation and ankylosis in rabbits[J]. Dent Traumatol, 2016, 32(6): 443-449
- [30] Zhu W, Zhang Q, Zhang Y, et al. PDL regeneration via cell homing in delayed replantation of avulsed teeth [J]. J Transl Med, 2015, 13: 357
- [31] Vogt B F, Souza C E, Silva D N, et al. Evaluation of two formulations containing mineral trioxide aggregate on delayed tooth replantation: relevance of RANKL/RANK/OPG system[J]. Odontology, 2016, 104(2): 211-219
- [32] Pigatto Mitihiro D, De Paula Ramos S, Corazza Montero J, et al. Effects of near-infrared LED therapy on experimental tooth replantation in rats[J]. Dent Traumatol, 2017, 33(1): 32-37
- [33] Machado N, Banci H A, Da Silva L D, et al. Influence of anti-allergic drugs used systemically on the process of root resorption during delayed tooth replantation: A study in rats [J]. Dent Traumatol, 2020, 36(3): 264-271
- [34] Nam O H, Cheon K, Kim M S, et al. Evaluation of the periodontal and pulpal healing of replanted rat molars with doxycycline root conditioning[J]. J Periodontal Implant Sci, 2019, 49(3): 148-157
- [35] Matos F S, Do Prado R F, Khoury R D, et al. Anti-inflammatory and anti-resorptive efficacy of adrenergic blockers on late replanted rat incisors[J]. Dent Traumatol, 2020, 36(3): 253-263
- [36] Poi W R, Sonoda C K, Amaral M F, et al. Histological evaluation of the repair process of replanted rat teeth after storage in resveratrol dissolved in dimethyl sulphoxide [J]. Dent Traumatol, 2018, [Epub ahead of print]
- [37] C  vre L M, Caliente E A, Sonoda C K, et al. The effect of soy and whole milk as a means to store avulsed teeth: A histometric study[J]. Dent Traumatol, 2020
- [38] 赵莹, 程百祥, 张旻. 咬合力与力生长因子对撕脱再植牙牙周膜再生修复的影响[J]. 医用生物力学, 2019, 34(S1): 169
- [39] 胡通, 苑迎娇, 李文静, 等. BMP-2 对大鼠延迟再植牙牙周膜愈合影响的实验研究[J]. 河北医科大学学报, 2018, 39(12): 1411-1414
- [40] Fuss Z, Tsesis I, Lin S. Root resorption - diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors [J]. Dental Traumatology Official Publication of International Association for Dental Traumatology, 2003, 19(4): 175-182
- [41] Zhao N, Nociti F H, Duan P, et al. Isolation and Functional Analysis of an Immortalized Murine Cementocyte Cell Line, IDG-CM6 [J]. Journal of Bone & Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone & Mineral Research, 2016, 31(2): 430-442
- [42] 吴佳益, 李鑫, 汪成林, 等. 炎症性牙根外吸收致病机制的研究进展[J]. 华西口腔医学杂志, 2019, 37(06): 656-659
- [43] Rumpel M, W  rger T, Roschger P, et al. Osteoclasts on bone and dentin in vitro: mechanism of trail formation and comparison of resorption behavior[J]. Calcif Tissue Int, 2013, 93(6): 526-539
- [44] Geblinger D, Addadi L, Geiger B. Nano-topography sensing by osteoclasts[J]. J Cell Sci, 2010, 123(Pt 9): 1503-1510

• 重要信息 •

《现代生物医学进展》2021 年封面设计说明

2019 年底爆发的新冠肺炎疫情肆虐全球, 对全球政治、经济、贸易和社会各层次造成了巨大冲击, 到目前为止, 全球新冠病毒感染人数累计达 81715247 人, 死亡人数达 1778294 人。因此, 本年度封面形象的以新冠病毒肆虐地球, 人类重拳出击抵抗新冠疫情为主题设计了封面, 旨在倡导生物医学工作者思考和研究更有效的预防和治疗措施以应对新冠病毒。当前, 隔离仍然是遏制新冠病毒快速传播的有效手段, 新冠疫苗研发与接种是克制新冠疫情的内生动力, 而环境消杀是彻底消灭新冠病毒的有力保障。相信通过人类共同努力, 各国携手合作, 众志成城, 一定能够消灭新冠疫情, 开创人类命运共同体的美好明天。

《现代生物医学进展》编辑部