

姜黄素水凝胶对牙周炎大鼠的疗效研究

郝文艳^{1,2}, 张丽花^{2,3}, 郑增娟¹, 李汉高^{1*}, 杜丽娜^{2,3*} (1.潍坊医学院, 山东 潍坊 261000; 2.军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850; 3.山东中医药大学, 济南 250355)

摘要: 目的 制备姜黄素水凝胶并评价其对牙周炎大鼠的治疗效果。方法 以姜黄素为主药, 羟丙基-β-环糊精(hydroxypropyl-β-cyclodextrin, HP-β-CD)为吸收促进剂, 泊洛沙姆为凝胶基质, 制备一种新型牙周袋内注射用姜黄素水凝胶, 并评价其黏度随温度变化关系。建立大鼠牙周炎模型, 以牙龈指数、出血指数、探诊出血、探诊深度、牙槽骨吸收情况、病理切片、前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor-α, TNF-α)为指标评价姜黄素水凝胶治疗牙周炎的效果。结果 姜黄素水凝胶 37 ℃黏度适于局部给药。牙周炎大鼠经姜黄素水凝胶治疗后, 牙周组织炎症程度及牙周破坏程度比模型组和空白凝胶组减轻, 牙周附着水平显著降低($P<0.01$), 牙龈组织中 PGE2、TNF-α 水平显著降低($P<0.01$)。结论 姜黄素水凝胶治疗大鼠牙周炎疗效明显, 有望成为一种新型牙周炎治疗制剂。

关键词: 姜黄素; 牙周炎; 水凝胶; 肿瘤坏死因子; 前列腺素 E2

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)14-1773-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.14.009

引用本文: 郝文艳, 张丽花, 郑增娟, 等. 姜黄素水凝胶对牙周炎大鼠的疗效研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(14): 1773-1778.

Therapeutic Effect of Curcumin Hydrogel on Rats with Periodontitis

HAO Wenyan^{1,2}, ZHANG Lihua^{2,3}, ZHENG Zengjuan¹, LI Hangao^{1*}, DU Lina^{2,3*} (1. Weifang Medical University, Weifang 261000, China; 2. Department of Pharmaceutical Sciences, Beijing Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medicine Sciences, Beijing 100850, China; 3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare the curcumin hydrogel and evaluate its therapeutic effect on rats with periodontitis. **METHODS** The curcumin hydrogel for periodontal pocket injection were prepared with hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD) as the absorption enhancer and poloxamer as the gel matrix. The relationship between viscosity and temperature of curcumin hydrogels was evaluated. Rats with periodontitis was established. Gingival index, bleeding index, bleeding on probing, probing depth, alveolar bone resorption, pathological section, prostaglandin E2(PGE2) and tumor necrosis factor-α(TNF-α) were used as the indicators to evaluate the therapeutic effect of curcumin hydrogels. **RESULTS** The viscosity of curcumin hydrogel was suitable for topical drug delivery. Compared with the model group and the blank hydrogel group, the inflammation degree and periodontal damage of periodontal tissues in the rats of the curcumin hydrogel group was less severe. In addition, periodontal adhesion level significantly decreased ($P<0.01$), and the levels of PGE2 and TNF-α in gingival tissues also decreased significantly ($P<0.01$). **CONCLUSION** The curcumin hydrogel is effective to treat rats periodontitis, and it is expected to become a novel formulation for periodontitis treatment.

KEYWORDS: curcumin; periodontitis; hydrogels; tumor necrosis factor-α(TNF-α); prostaglandin E2(PGE2)

牙周病是最常见的口腔慢性感染性疾病, 是血液病(急性血液病、血小板减少性紫癜等)、糖尿病、心血管疾病、神经系统疾病或者其他内分泌疾病、免疫功能缺陷以及某些遗传性疾病等发病的危险因素^[1]。

目前牙周炎治疗过程如下, 首先机械清除牙石和菌斑, 破坏牙菌斑生物膜^[2], 控制牙周感染^[3], 然后再局部缓释用药, 使药物作用于残余细菌, 达到彻底清除细菌的效果。局部缓释给药治疗可避免全身应用抗菌药的诸多不良反应, 药物可直接作用于病变部位, 同时作用于牙周袋内的药物

浓度相对较高, 药物作用时间延长, 减少了用药剂量、给药频率以及患者的就诊次数, 患者依从性好^[4-5]。

菌斑微生物是牙周炎的主要致病因子, 用抗菌药物控制菌斑及牙周感染是牙周炎综合治疗的重要手段^[6-7]。常用药物包括: 硝基咪唑类药物(甲硝唑、替硝唑)^[8-11], 四环素类药物(多西环素)^[12]以及盐酸林可霉素、羧甲基壳聚糖银^[13]。尽管应用抗菌药物治疗能提高牙周炎的治疗效果, 但容易产生耐药性和菌群失调等问题。寻找抗菌/抗炎效果好、不良反应小的中药有效成分治疗牙周炎

作者简介: 郝文艳, 女, 硕士生 Tel: 13146839361 E-mail: haowyzc@163.com *通信作者: 李汉高, 男, 主任药师 Tel: 13606464458 E-mail: lihangao@hotmail.com 杜丽娜, 女, 博士, 副研究员, 硕士 Tel: (010)66930216 E-mail: dulina@188.com

意义重大。

姜黄素主要来源于姜黄、莪术和郁金等传统中药材,是多酚类化合物,由 β -二酮庚二烯与2个邻甲基化的酚相连组成对称的分子结构^[14]。中医认为姜黄具有通经止痛、破血行气等功效。近年来,其抗肿瘤、抗炎、抗氧化等药理活性均已被证实^[15]。姜黄素作为抗氧化剂,可抑制金属离子介导的脂质过氧化,降低低密度脂蛋白,保护细胞内部DNA免受过氧化脂质损伤^[16]。

水凝胶是以水为分散介质的半固体凝胶。水凝胶能实现缓释功能,同时它还具有亲水性三维网络状结构,具有组织相容性好、黏膜亲和力强、局部组织内滞留时间长、制备工艺简单等优点,适于作为经皮肤、黏膜给药剂型。泊洛沙姆是一类由聚氧乙烯与聚氧丙烯醚共聚而成的三嵌段共聚物^[17],是常用的水凝胶基质^[18]。其主要类型包括泊洛沙姆188和407,二者分子量、聚氧乙烯/聚氧丙烯比例不同,具有毒性小,刺激性低,生物相容性好的优点,近年在药物递送系统研究中获得广泛关注^[19-21]。

本研究以姜黄素作为模型药物,以泊洛沙姆作为水凝胶基质,制备生物黏附性好的牙周袋内注射用姜黄素水凝胶。以牙龈指数、出血指数、探诊出血、探诊深度、牙槽骨吸收情况、病理切片、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)为指标,评价姜黄素水凝胶治疗牙周炎的效果。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂

姜黄素(国药集团化学试剂有限公司,批号:J1410104);泊洛沙姆188、407(北京凤礼精求商贸有限责任公司,批号:WPNF545C);壳聚糖(国药集团化学试剂有限公司,分子量44 kDa,脱乙酰度89%);HP- β -环糊精(石药集团中奇制药技术有限公司,批号:091101);PGE2 ELISA试剂盒(Abcam公司,批号:GR243650-1);TNF- α ELISA试剂盒(北京四正柏生物科技有限公司,批号:20151221)。

1.2 仪器

IC-R 小型麻醉机(上海玉研科学仪器有限公司);YX-280 手提式压力蒸汽灭菌器(合肥华泰医疗设备有限公司);BS1101S 万分之一天平(赛多利斯天平有限公司);New classic MS 十万分之一天

平(METTLER TOLEDO 公司);TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用有限公司);1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);S8AP0 体式显微镜(德国 LEICA);BDS200-FL 倒置荧光显微镜(重庆奥普光学仪器有限公司);MULTISKAN MK3 全自动多功能酶标仪(美国 Thermo 公司);DH4000A 电热恒温培养箱(天津泰斯特);Sceintz-48 高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司);DV-III 黏度计(Brookfield ULTRO);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

健康♂SD大鼠,14只,220~240 g,军事医学科学院实验动物中心,动物合格证号:SCXK-(京)2016-0006。

1.4 姜黄素水凝胶的制备

称取2 g 泊洛沙姆188、12 g 泊洛沙姆407,加30 mL 蒸馏水混匀,4℃放置过夜,加水至50 mL,混匀即得空白水凝胶。精密称取0.25 g 姜黄素、2 g HP- β -CD于研钵中,加入75%乙醇成糊状后,共研30 min,置70℃烘箱干燥。精密称取495 mg 上述姜黄素/HP- β -CD和混合物加入到30 mL 泊洛沙姆水凝胶中,分散均匀,即得1.65%姜黄素水凝胶。

1.5 不同温度下姜黄素水凝胶黏度的测定

依照数显黏度计使用说明测定“1.4”项下姜黄素水凝胶在不同温度下(10, 15, 20, 25, 30, 37, 45℃)的黏度。具体操作:取3 mL 上述各浓度溶液置于5 mL EP管中,采用S1转子、250 r·min⁻¹条件下测定黏度,以黏度对温度作图。

1.6 药效学评价

1.6.1 牙周炎大鼠模型的建立 基于笔者所在实验室前期研究,建立SD大鼠牙周炎模型^[22]。造模开始前3 d,每只大鼠每天口服灌胃给予氨苄霉素20 mg。第1次造模当天,10%水合氯醛腹腔麻醉大鼠,分离双侧上颌第一磨牙牙龈,以0.2 mm 正畸结扎钢丝结扎牙颈部,从结扎当天喂养高糖饲料和高糖水。从结扎后1周开始,隔日口腔接种牙龈卟啉单胞菌1次,共接种5次。同时在全麻结扎清醒后,于后肢股二头肌中肌注醋酸泼尼松龙(5 mg·kg⁻¹),前期每2天1次,共7次;后期每3天1次,共2次,以降低大鼠免疫力,加快牙周炎形成。4周后以同样方法麻醉,重新结扎,使结扎钢丝压入牙周袋内,10周后牙周炎动物模型建

立成功。造模期间监测大鼠体质量变化。

1.6.2 动物分组及治疗方案 取 14 只造模成功的 SD 大鼠随机分为模型组和姜黄素水凝胶组。去除结扎钢丝后,用牙周探针检查牙龈指数、出血指数、探诊出血情况及牙周袋深度。用普通探针将龈上和龈下牙结石清理干净,基础牙周治疗后接受药物治疗^[23]。首先使用小型麻醉机将大鼠短暂麻醉,迅速将其固定在鼠板上,用一次性胰岛素针进行牙周袋内给药,给药前将胰岛素针头磨钝,以免对大鼠牙龈造成二次伤害,给药剂量为 1 周 1 次,1 次 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,给药 4 周后检查上述 4 项指标。摘眼球取血, $100 \times \text{g}$ 离心取上清, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待测。颈椎脱臼处死大鼠,一侧上颌取牙周组织,生理盐水清洗干净放入 10% 甲醛中保存;另一侧上颌取牙龈组织,生理盐水擦拭干净后置于冻存管中,立即于液氮中骤冷, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待测。另取牙龈组织的上颌骨于水中煮沸,去肉存骨,体式显微镜观察牙槽骨吸收情况^[24]。

1.6.3 指标观察 牙龈指数:将牙周探针放到龈缘处,沿着龈缘轻轻滑动。共分为 4 级:正常牙龈记为 0,牙龈略有水肿,探针探之不出血记为 1,若探之出血则记为 2,若有自发出血倾向或溃疡形成记为 3。

出血指数:用钝头牙周探针轻探入龈沟或袋内,取出探针 30 s 后,观察有无出血及出血程度。共分为 5 级:0 为牙龈健康,无炎症及出血;1 为牙龈颜色有炎症性改变,探诊不出血;2 为探诊后有点状出血;3 为探诊出血沿牙龈缘扩散;4 为出血流满并溢出龈沟;5 为自动出血。

探诊出血:探诊出血被公认为牙龈有无炎症的客观指标。根据探诊后有无出血,记为阳性或者阴性,阳性用 1 表示,阴性用 0 表示。

牙周袋深度:牙周袋是指龈缘至袋底的距离,测量牙周袋时,牙周探针尖始终紧贴牙面,探针应与牙的长轴平行,支点要稳,探诊压力掌握在 20~25 g,依次进行颊、腭侧的近、中、远 6 个位点的测量。

牙槽骨吸收情况:慢性牙周炎 4 大临床表现之一是牙槽骨吸收,药物治疗后能延缓其吸收。体式显微镜下观察牙槽骨吸收情况,并用 Image Pro Plus 图像分析软件(Media Cybernetics, America)测量釉牙骨质界到牙槽嵴顶的距离,计算牙槽骨吸收值。每颗牙分别测量颊、腭侧的近、中、远 6

个位点,取 6 个位点测量值的均值作为该牙骨丧失值,即牙槽骨吸收值。

病理观察:取甲醛固定的牙周组织进行乙二胺四乙酸脱钙,2 天换 1 次脱钙液,50 d 后取材,修剪成 $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ 左右大小的组织块,无水乙醇梯度脱水,将组织块浸入液体石蜡中过夜,石蜡完全浸入组织块后行颊舌向组织包埋,包埋好的蜡块凝固变硬后,在组织切片机上行 $5 \mu\text{m}$ 连续切片,常规 HE 染色,中性树胶封片,倒置荧光显微镜下观察治疗后牙周组织的病理变化。

本研究分别测定了血清和组织中的 TNF- α 和 PGE2 水平。血清样品直接按照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行检测。牙龈组织样品主要检测步骤:取 10 mg 组织加入 100 μL 生理盐水充分匀浆, $226 \times \text{g}$ 离心 10 min,取上清,按 ELISA 检测试剂盒说明书操作。

2 结果

2.1 姜黄素水凝胶黏度随温度的变化

姜黄素水凝胶黏度随温度升高呈明显上升趋势, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 以上趋势更显著。 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 时黏度为 $21.97 \text{ Pa} \cdot \text{s}$,说明具备较好的牙周袋内局部滞留能力,能持续释药,有利于牙周炎的治疗,结果见图 1。

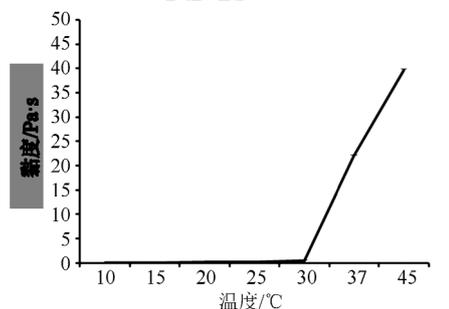


图 1 不同温度下姜黄素黏度的变化

Fig. 1 Viscosity changes at different temperature

2.2 牙周炎模型的建立

在模型建立过程中,由于激素干预前 4 周大鼠体质量明显下降;第 6 周开始由于再次接种激素,导致大鼠体质量再次下降,结果见图 2。第 10 周时病理切片显示慢性牙周炎动物模型建立成功。

2.3 牙龈指数、出血指数、探诊出血、牙周袋深度治疗后的缓解情况

与模型组相比,姜黄素水凝胶组大鼠经治疗后牙周袋深度明显降低,牙龈指数、出血指数及探诊出血情况好转($P < 0.01$)。说明姜黄素水凝胶能明显改变牙周炎临床表现,结果见图 3。

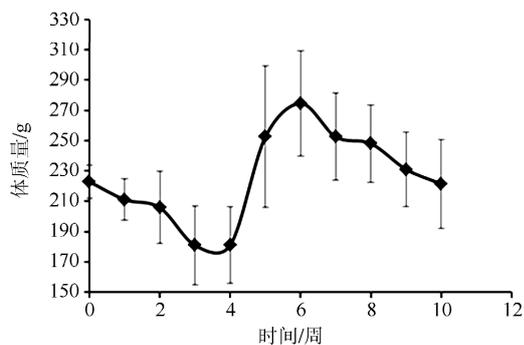


图2 造模期间各组大鼠体质量变化情况
Fig. 2 Weight changes of rats during modeling period

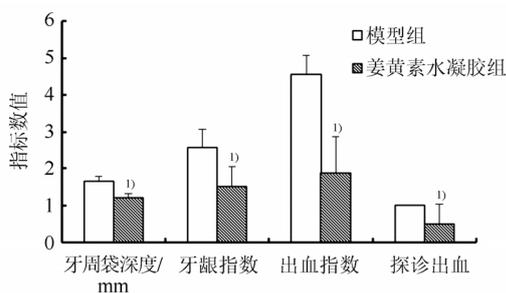


图3 牙周炎大鼠治疗后各项指标观察
与模型组相比, $^{1)}P<0.01$ 。
Fig. 3 Observation on the indexes of rats after periodontitis treatment
Compared with the model group, $^{1)}P<0.01$.

2.4 牙槽骨吸收情况

姜黄素水凝胶组大鼠治疗后牙槽骨吸收延缓,与模型组相比,姜黄素组3颗磨牙牙槽骨吸收值明显降低($P<0.01$),每颗磨牙的骨丧失情况都有所减慢。证明姜黄素水凝胶能延缓牙槽骨吸收,改善牙周炎症状,结果见图4。

2.5 病理观察

模型组大鼠牙龈的结合上皮向根方增值,形成深牙周袋,袋内可见大量炎性渗出物,沟内上皮出现糜烂,有大量炎性细胞浸润,牙槽嵴顶骨吸收明显,出现活跃的破骨细胞性骨吸收陷窝,深牙周袋致使根面的牙骨质暴露。与模型组相比,姜黄素水凝胶组牙周袋深度明显降低,牙周袋内炎症细胞减少,牙根面被吸收的牙骨质出现新生现象,并且可观察到牙槽嵴顶影像以及成骨细胞,同时可见粗大的胶原纤维,偶尔可见新生的毛细血管,见图5。说明姜黄素水凝胶能延缓牙槽嵴顶的吸收,改善牙周炎症状。

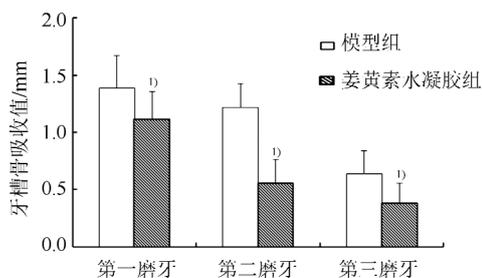


图4 磨牙牙槽骨吸收值
与模型组相比, $^{1)}P<0.01$ 。
Fig. 4 Absorption of alveolar bone in three molars
Compared with the model group, $^{1)}P<0.01$.

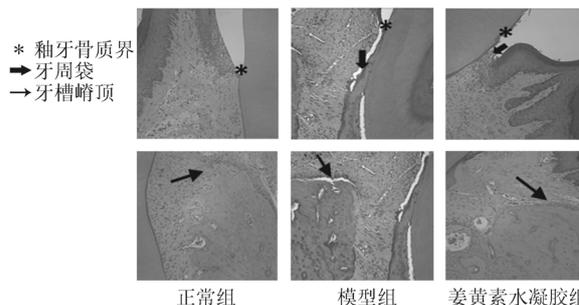


图5 观察姜黄素水凝胶治疗后大鼠牙周袋及牙槽嵴顶病理变化(HE, 100×)
Fig. 5 Pathological changes in the periodontal pockets and alveolar crest of rats after treatment(HE, 100×)

2.6 TNF- α 和 PGE2 的表达水平

与正常组相比,模型组血清、牙龈组织中TNF- α 、PGE2水平明显增高($P<0.01$)。与模型组相比,姜黄素水凝胶组血清和牙龈组织中TNF- α 、PGE2水平均显著降低($P<0.01$),与正常组相当,见图6。说明姜黄素水凝胶能降低TNF- α 和PGE2水平,有利于牙周炎治疗,为未来牙周炎临床治疗提供一种新制剂。

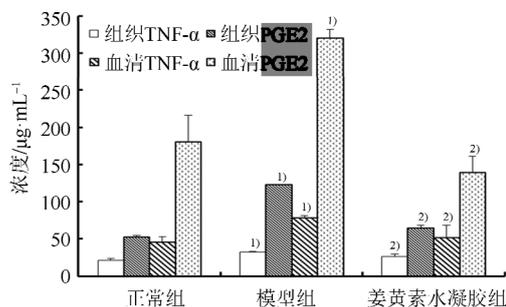


图6 不同组大鼠组织、血清中TNF- α 、PGE2水平
与正常组相比, $^{1)}P<0.01$; 与模型组相比, $^{2)}P<0.01$ 。
Fig. 6 TNF- α and PGE2 levels in rats gingiva and serum of different groups
Compared with the normal group, $^{1)}P<0.01$; compared with the model group, $^{2)}P<0.01$.

3 讨论

牙周病是一种慢性进行性疾病, 逐渐破坏牙龈支持组织, 导致牙齿松动、脱落, 使咀嚼困难, 甚至不能咀嚼^[25]。临床常用机械疗法如龈下刮治、龈上洁治等方法, 牙周基础治疗是控制牙周炎症的有效方法, 但随着牙周袋加深, 单纯的机械疗法往往不能取得满意的效果^[26]。需结合牙周袋内抗菌治疗。牙周袋内注射姜黄素水凝胶克服了全身用药剂量大、易产生不良反应的缺点, 药物直接作用于牙周袋病灶, 能保持较长时间维持有效药物浓度。

目前在研的牙周病缓释给药系统有纤维剂、膜剂^[27]、微球、口腔黏膜黏附片^[28]、水凝胶等, 且已有部分产品上市。其中微球和水凝胶生物相容性好, 可实现缓释。但微球存在药物突释、有机溶剂残留、规模化生产困难等缺点, 相比较而言, 水凝胶作为一种新型缓控释给药载体, 能够以液体状态加载药物, 达到组织兼容、缓控释放的独特优势, 且其工艺简单易行, 适合于工业大生产^[29]。

本研究选择大鼠作为牙周病模型动物。建立牙周炎动物模型的方法有很多, 比如高糖黏性饮食、口腔接种特异细菌^[30]、棉线或正畸结扎丝结扎牙颈部配以口腔接菌和搭配牙周炎食谱建立牙周炎模型^[31]。本实验采用局部刺激加全身刺激因素建立大鼠牙周炎动物模型, 在第 10 周时, 大鼠已形成中重度牙周炎, 肉眼观察牙龈与牙面不贴合, 出现较深的牙周袋, 且牙周袋内有大量食物残渣堆积, 牙龈红肿, 探之易出血, 证明模型建立成功。

TNF- α 在牙周炎进展和骨吸收中起重要作用, 主要由巨噬细胞对脂多糖反应而产生, 在牙周炎中能启动组织破坏和骨吸收^[32]。牙周炎患者的牙龈组织中 TNF- α 水平较高, 治疗后 TNF- α 水平下降^[33]。

PGE2 是导致牙周骨吸收的重要因素, 它由宿主细胞分泌, 具有广泛的致炎效应, 如诱导血管扩张、增加毛细血管的通透性等^[34]。PGE2 是强力促进骨吸收的介质, 主要存在于牙周炎症组织中, 在牙周炎活动期明显增高, 治疗后 PGE2 水平可明显降低^[35]。

牙周炎大鼠经姜黄素水凝胶治疗后, 牙周组织炎症程度及牙周破坏程度比模型组和空白凝胶组减轻, 牙周附着水平显著降低($P < 0.01$), 牙龈组织中 PGE2、TNF- α 水平显著降低($P < 0.01$)。姜黄素水凝胶治疗大鼠牙周炎疗效明显, 有望成为一种新型牙周炎治疗制剂。

REFERENCES

- [1] ZHANG D F, HUANG S B, ZHANG Y T, et al. Clinical effect and safety of minocycline combined with tinidazole on chronic periodontitis [J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2015, 31(8): 590-591, 594.
- [2] 王耀生, 李洁婷. 不同治疗方法在牙周炎治疗中的疗效分析[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(4): 22-23.
- [3] WANG Y, LIANG R, WANG A J. A clinical analysis about periocline on periodontitis [J]. Chin J Conserv Dent(牙体牙髓牙周病学杂志), 2004, 14(6): 342-343.
- [4] ZHANG J X. Comparative analysis of therapeutic effect of topical application of minocycline ointment and metronidazole gel in treating parodontitis [J]. Sichuan Med J(四川医学), 2016, 37(6): 668-671.
- [5] 柯研, 曾晓勤. 局部应用替硝唑含片治疗牙周炎和冠周炎的临床疗效[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(13): 114-115.
- [6] 周村, 杨小民. 牙周炎诊治进展[J]. 现代临床医学, 2008, 34(2): 143-144.
- [7] 耿晓飞. 浅析牙周炎治疗中如何改变牙周微生态环境[J]. 中国医药指南, 2011, 9(7): 42-43.
- [8] 李隆. 替硝唑治疗牙周炎冠周炎临床疗效观察[J]. 现代医药卫生, 2011, 27(9): 1340-1341.
- [9] CHEN S, ZHANG H D, ZENG J H, et al. Clinical study on secnidazole in patients with periodontitis [J]. China Pharm(中国药房), 2009, 20(2): 131-133.
- [10] LI T. Clinical study of treatment effect of tinidazole buccal tablet to the patients with periodontitis [J]. China Pract Med(中国实用医药), 2009, 4(14): 30-31.
- [11] HAN X, LIU J H. Clinical trial of secnidazole in treatment of periodontitis [J]. Stomatology(口腔医学), 2009, 29(8): 427-429.
- [12] RAMAMURTHY N S, RIFKIN B R, GREENWALD R A, et al. Inhibition of matrix metalloproteinase-mediated periodontal bone loss in rats: a comparison of 6 chemically modified tetracyclines [J]. J Periodontol, 2002, 73(7): 726-734.
- [13] FU J Q, FEI R, ZHANG G R, et al. Therapeutic effect of silver carboxymethyl chitosan on experimental periodontitis in rats [J]. J Jilin Univ Med Ed(吉林大学学报: 医学版), 2009, 35(4): 669-672.
- [14] 王彬辉, 高晓宇, 章文红, 等. 姜黄素抗肿瘤作用新剂型及其衍生物研究新进展[J]. 中国中医药科技, 2015, 22(2): 232-235.
- [15] ZHOU H Y, BEEVERS C S, HUANG S L. The targets of curcumin [J]. Curr Drug Targets, 2011, 12(3): 332-347.
- [16] BORRA S K, MAHENDRA J, GURUMURTHY P, et al. Effect of curcumin against oxidation of biomolecules by hydroxyl radicals [J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(10): CC01-CC05.
- [17] ALEXANDER V K, ELENA V, VALERY Y. Pluronicblock copolymers for overcoming drug resistance in cancer [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2002, 54(5): 759-779.
- [18] VENNE A, LI S, MANDEVILLE R, et al. Hypersensitizing effect of pluronic L61 on cytotoxic activity, transport, and subcellular distribution of doxorubicin in multiple drug-resistant cells [J]. Cancer Res, 1996, 56(16): 3626-3629.
- [19] EL-SETOUHY D A, AHMED S, BADAWI A A, et al. Preclinical evaluation of dual action intranasal formulation intended for postoperative/cancer associated therapies [J]. Eur J Pharm Sci, 2015(76): 48-56.
- [20] LIU Y, LU W L, WANG J C, et al. Controlled delivery of

- recombinant hirudin based on thermo-sensitive Pluronic F127 hydrogel for subcutaneous administration: *In vitro* and *in vivo* characterization [J]. *J Control Release*, 2007, 117(3): 387-395.
- [21] SU S S, CHEN F, FANG H, et al. Formula optimization of echinacoside-loaded PLGA nanoparticles by Box-Behnken design and response surface method [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2016, 25(9): 1069-1074.
- [22] WANG S S, CHEN X, DU L N, et al. Preparation of minocycline hydrochloride-loaded *in situ* hydrogels and effect on the periodontitis of rats [J]. *J Int Pharm Res*(国际药学研究杂志), 2017, 44(4): 353-358.
- [23] 徐洋. 基础治疗联合牙周维护治疗慢性牙周炎的效果分析 [J]. *中国现代药物应用*, 2018, 12(5): 73-74.
- [24] WANG X Y, ZHAO Y J, ZHANG L P, et al. Detection of Th17/Treg in peripheral blood and gingival tissues of experimental rats with periodontitis [J]. *Chin J Stomatol Res Electron Version*[中华口腔医学研究杂志(电子版)], 2015, 9(5): 11-16.
- [25] 盛春生, 蒋荣红, 余祖红. 老年人常见牙周病的调查分析及健康指导[J]. *实用全科医学*, 2006, 4(2): 233.
- [26] ZHOU T, XIE P, XU Y, et al. Levels changes of 5 subgingival putative periodontal pathogens and the promotion of clinical parameters following periodontal initial therapy [J]. *J Oral Sci Res*(口腔医学研究), 2012, 28(1): 39-42.
- [27] BARAT R, SRINATHA A, PANDIT J K, et al. Chitosan inserts for periodontitis: influence of drug loading, plasticizer and crosslinking on *in vitro* metronidazole release [J]. *Acta Pharm*, 2007, 57(4): 469-477.
- [28] PERIOLI L, AMBROGI V, RUBINI D, et al. Novel mucoadhesive buccal formulation containing metronidazole for the treatment of periodontal disease [J]. *J Control Release*, 2004, 95(3): 521-533.
- [29] HUANG X Y, YUAN J M, YANG Q L, et al. Research progress of nasal *in situ* gel [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2018, 35(3): 448-453.
- [30] ZHANG Y X, XIONG Y, CHEN X W, et al. Therapeutic effect of bone marrow mesenchymal stem cells pretreated with acetylsalicylic acid on experimental periodontitis in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018(54): 320-328.
- [31] FISCHER R G, KLINGE B. Clinical and histological evaluation of ligature-induced periodontitis in the domestic ferret [J]. *J Clin Periodontol*, 1994, 21(4): 230-239.
- [32] SANCHAVANAKIT N, SAENGTONG W, MANOKAWINCHOKE J, et al. TNF- α stimulates MMP-3 production via PGE2 signalling through the NF- κ B and p38 MAPK pathway in a murine cementoblast cell line [J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(7): 1066-1074.
- [33] CAI Y, CHEN Z B, LIU H, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate alleviates porphyromonas gingivalis-induced periodontitis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29(2): 839-845.
- [34] CHEN F, SHI J X, JIAO P, et al. Detection of levels of serum visfatin and PGE2 in patients with periodontitis and their relationships with activity of periodontitis [J]. *J Jilin Univ Med Ed*[吉林大学学报(医学版)], 2018, 44(3): 563-567.
- [35] LIAO C H, FEI W, SHEN Z H, et al. Expression and distribution of TNF- α and PGE2 of periodontal tissues in rat periodontitis model [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2014, 7(5): 412-416.

收稿日期: 2018-09-04

(本文责编: 沈倩)