

前伸青春期大鼠下颌后翼外肌细胞膜乙酰胆碱受体特性变化的研究

陈开云 罗颂椒

【摘要】 目的 研究功能矫形前伸青春期大鼠下颌后,翼外肌细胞膜乙酰胆碱受体最大结合容量和亲和性的变化,探讨功能矫形的神经肌肉调控机理。**方法** 选用 40 只 5 周龄 SD 雄性大鼠,随机分为实验组和对照组各 20 只。实验组大鼠戴自制上颌功能矫治器,引导下颌前伸,对照组不做任何处理,分别在实验第 1、3、7、14 天处死大鼠,采用放射受体分析法测定 2 组大鼠翼外肌肌细胞膜上乙酰胆碱受体的最大结合容量和亲和常数。**结果** 实验组大鼠翼外肌细胞膜上乙酰胆碱受体最大结合容量明显大于对照组,具有高度亲和力。**结论** 功能矫形可增加翼外肌细胞膜上乙酰胆碱受体与乙酰胆碱的结合量。

【关键词】 功能矫形; 翼外肌; 乙酰胆碱受体

Characteristic Changes of Acetylcholine Receptor in Rat Lateral Pterygoid Muscles after Functional Mandibule Advancement

CHEN Kaiyun^{*}, LUO Songjiao. (^{*} Department of Orthodontics, Oral Hospital of Guangdong Province, Guangzhou 510280, China)

【Abstract】 Objective The purpose of this study was to evaluate the maximum binding(Bmax) and affinity(Kd value) changes of acetylcholine receptor (n-AchR) in rat lateral pterygoid muscles after functional mandibule advancement.**Methods** 40 five-weeks-old male Sprague-Dawley rats were equally divided into experimental and control group. The mimic functional appliances were used in experiment group and the rats were killed after 1, 3, 7, 14 days. Radio-ligand binding assay (RBA) was applied to determine the maximum binding(Bmax) and Kd value of n-AchR of lateral pterygoid muscle.**Results** The Bmax of n-AchR in experimental group was higher than that in control group and the Kd value always kept in high level.**Conclusion** The functional orthopedics can increase the Bmax of n-AchR in rapid growing rat lateral pterygoid muscles.

【Key words】 functional orthopedics; lateral pterygoid; acetylcholine receptor

功能矫形治疗是口腔正畸学中早期治疗儿童骨性或功能性下颌后缩畸形的最主要方法。近年来,很多学者已对激素及生长因子在功能矫形中的调控机理进行了较深入的研究。但功能矫形的另一重要调控机制——神经肌肉变化的研究,目前研究较少。本实验通过功能矫形前伸青春期大鼠下颌后,观察翼外肌细胞膜烟碱样乙酰胆碱受体(acetylcholine receptor, n-AchR)最大结合容量和亲和性的变化,进一步研究功能矫形的神经肌肉调控机理。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选用 40 只 SD 大鼠(四川大学华西实验动物中心提供),

雄性,5 周龄,体重 90~100 g。随机分为实验组和对照组各 20 只。实验组大鼠配戴自制的上颌功能矫治器引导下颌前伸,每日白天戴用 12 h¹,对照组不做任何处理。

1.2 放射受体分析法

分别在实验后第 1、3、7、14 天,断颈法处死动物,立即切取大鼠双侧翼外肌,将肌肉组织剪成 1 mm × 1 mm × 1 mm 的组织块,用改良的 Monnier 法²,加 4 倍体积的 0.05 mol/L 的 TrisHCl 缓冲液用高速组织匀浆机制成组织匀浆。800 g 离心 15 min,去沉淀;悬液加入含 1% TritonX-100 的上述 TrisHCl 缓冲液 48 000 g 离心 20 min,弃上清,膜沉淀溶于 2ml 的 TrisHCl 缓冲液中。将所得膜蛋白按每管 300 μg 分装 7 管,依次加入¹²⁵I 标记的 银环蛇毒素(¹²⁵I Bgt, Sigma 公司)0.06、0.3、0.6、3、6、12、30 nmol/L,同时设非特异管,加入非标记的 Bgt(终浓度为 120 nmol/L)。分析缓冲液补足体积至 400 μl。25℃ 恒温水浴振荡 30 min。离心沉淀法提取沉淀,XH-6010 放射免疫计数器(西安二六二厂)测定放射强度。测定结果输入计算机,通过 Scatchard 法分析后得到受体的最大结合容量 Bmax 及亲和常数(Kd)。

1.3 统计学处理

本课题为国家自然科学基金资助项目(编号 30171024)

作者单位:510280 广东省口腔医院正畸科(陈开云),四川大学华西口腔医院正畸科(罗颂椒)

采用 SPSS 10.0 对实验组和对照组进行配对资料 t 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

各实验组和对照组大鼠翼外肌细胞膜 n-AchR 与 ^{125}I -Bgt 的特异性结合量随着 ^{125}I -Bgt 加入量的增加而逐渐上升, 并最终趋于平衡, 表明 n-AchR 与 ^{125}I -Bgt 的结合具有可饱和性。且实验组 ^{125}I -Bgt 与 n-AchR 结合的饱和曲线明显高于对照组 (图 1)。实验组和对照组 n-AchR 的最大结合容量 Bmax 见表 1, 图 2。统计学分析表明, 实验组翼外肌细胞膜上 n-AchR 的最大结合容量明显大于对照组 ($P < 0.01$)。实验组翼外肌细胞膜上 n-AchR 的亲合常数见表 2, 图 3。统计学分析表明, 实验组大鼠翼外肌细胞膜上 n-AchR 的亲合常数 (Kd) 在实验的第 3 天和 14 天组明显大于对照组 ($P < 0.01$); 第 1 天和 7 天组差别不大 ($P > 0.05$)。

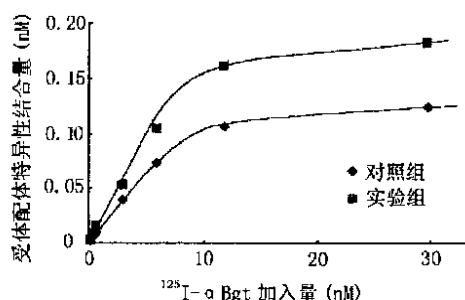


图 1 ^{125}I -Bgt 与翼外肌细胞膜 n-AchR 结合的饱和曲线

Fig 1 The combination of ^{125}I -Bgt and n-AchR of the cell membrane of the lateral pterygoid muscle

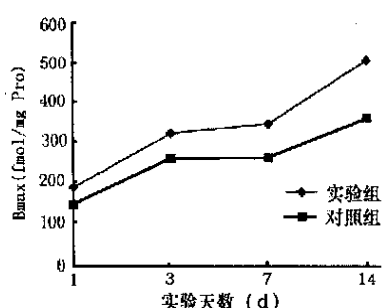


图 2 翼外肌细胞膜 n-AchR 最大结合容量

Fig 2 The Bmax of n-AchR on the cell membrane of the lateral pterygoid muscle

3 讨 论

功能矫形通过矫治器将口周肌和咀嚼肌产生的力学信号传递到牙、牙弓及颌骨等需要矫治的部位, 同时使功能过度或功能不足的肌肉恢复正常, 利用肌力引导口颌系统正常生长发育。翼外肌是面颌部主要的前伸下颌肌, 其功能的加强有利于引导下颌前伸, 改正儿童下颌后缩畸形。

表 1 实验组和对照组翼外肌细胞膜 n-AchR 最大结合容量 ($\bar{x} \pm s$, fmol/mg Pro)

Tab 1 The Bmax of n-AchR on the cell membrane of the lateral pterygoid muscle in experimental groups and control groups ($\bar{x} \pm s$, fmol/mg Pro)

时间	实验组	对照组	P
第 1 天	181.918 \pm 2.208	138.368 \pm 10.332	<0.01
第 3 天	313.782 \pm 27.115	249.636 \pm 4.692	<0.01
第 7 天	335.836 \pm 17.431	250.882 \pm 24.839	<0.01
第 14 天	494.88 \pm 10.288	348.048 \pm 15.247	<0.01

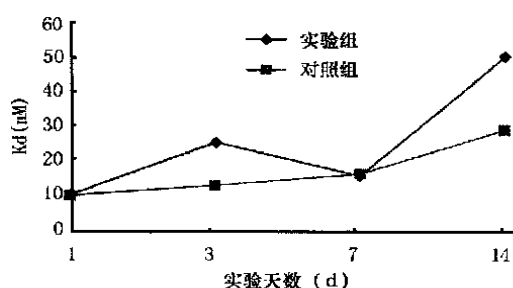


图 3 翼外肌细胞膜 n-AchR 亲和常数

Fig 3 The Kd value of n-AchR on the cell membrane of the lateral pterygoid muscle

表 2 实验组和对照组大鼠翼外肌细胞膜 n-AchR 亲和常数比较 ($\bar{x} \pm s$, nmol/L)

Tab 2 The Kd value of n-AchR on the cell membrane of the lateral pterygoid muscle in experimental groups and control groups ($\bar{x} \pm s$, nmol/L)

时间	实验组	对照组	P
第 1 天	9.472 \pm 2.208	9.161 \pm 0.571	>0.05
第 3 天	25.739 \pm 2.717	13.097 \pm 2.101	<0.01
第 7 天	16.765 \pm 1.012	17.255 \pm 1.376	>0.05
第 14 天	52.748 \pm 0.875	31.187 \pm 1.740	<0.01

三叉神经是支配翼外肌的主要脑神经, 乙酰胆碱是存在于三叉神经外周运动支中最主要的化学性神经递质。在神经肌肉接头处乙酰胆碱与肌细胞膜上的 n-AchR 结合后, 触发突触后细胞的电反应和化学反应, 引起细胞收缩, 介导三叉神经对肌肉的调控作用。n-AchR 是翼外肌细胞膜上最主要的神经递质受体。Bgt 能特异地与 n-AchR 结合。

国内外学者研究发现, 运动疲劳后, 大鼠腓肠肌中乙酰胆碱的含量增加; 野生鼠过度活动时, 神经肌肉接头处 n-AchR 的 Y 亚单位基因呈多形性改变^{3,4}。王昕等⁵ 研究发现功能矫形下颌前伸后, 实验 2 周大鼠翼外肌肌电活动明显高于对照组, 线粒体数量增多, 体积代偿性增大, 翼外肌结构和功能均发生了相

应变化。

放射受体分析法评价是否是真正的受体结合反应标准有:集合必须具有可饱和性;结合具有适度的亲和力。亲和常数 K_d 是反映受体结合亲和力的重要参数,其值越低,表明亲和力越高, K_d 值在 $10^{-10} \sim 10^{-9}$ mol/L 为高亲和力,在 10^{-5} mol/L 时为低亲和力。本研究结果表明,n-AChR 与 125 I-Bgt 的结合具有可饱和性。虽然在第 3、14 天实验组和对照组 K_d 值差异具有统计学意义,但是其值仍在 $10^{-9} \sim 10^{-8}$ mol/L 之间,具有高度亲和性。

功能矫形前伸下颌后青春期大鼠翼外肌细胞膜上 n-AChR 最大结合容量明显增加。这说明功能矫形力作用在青春期大鼠翼外肌细胞膜上,使细胞膜 n-AChR 的结合位点增加。更多的乙酰胆碱与细胞膜上 n-AChR 结合后将触发更强的突触后细胞电反应和化学反应。这也从功能矫形的神经肌肉调控机理上解释了以往学者研究发现的^[1]功能矫形可以改变翼外

肌结构和增强翼外肌功能的结论。

参考文献

- 1 罗颂椒,饶跃,王大章,等. 功能矫形前伸下颌对幼年大鼠颌面颌生长发育影响的研究. 华西口腔医学杂志,1992,10(3):205-209
- 2 Monnier VM, Fulpius BW. A radioimmunoassay for the quantitative evaluation of anti-human acetylcholine receptor antibodies in myasthenia gravis. Clin Exp Immunol, 1977,29(1):16-22
- 3 殷劲. 疲劳时肌肉中的 Ach 量变. 中国运动医学杂志,1987,6(1):11-15
- 4 Degli EMA. Neuromuscular function and polymorphism of the acetylcholine receptor gamma gene. Muscle Nerve, 1992,15(5):543-549
- 5 王昕,罗颂椒,周秀坤,等. 功能矫形前伸下颌后幼年大鼠颌前伸肌的组织化学研究. 华西口腔医学杂志,1992,10(3):220-223

(2002-09-18 收稿,2003-04-15 修回)

(本文编辑 刘怡)

法国赛特力 VELA 系列高温高压灭菌器

随着医院及患者对口腔设备消毒的要求逐步提高,高温高压蒸汽灭菌器已成为口腔科及口腔诊所的必备设备。法国赛特力公司最新推出两款高温高压灭菌器 Vela 170™ Pulse 及 Vela 165A 以满足牙科器械消毒的需要。此两款高温高压蒸汽灭菌器是由法国赛特力公司位于毕尔巴鄂的工厂研制生产的。

Vela 170™ Pulse 灭菌器是目前最先进的一款灭菌器。它是完全按照最新欧洲灭菌器标准 prEN13060-2 设计生产的 B 级灭菌器,并且可随着未来新标准的实施而进行升级。170 Pulse 的主要特点是:装备双重加热泵和脉冲真空泵保证 5 层所盛器械都达到完美的灭菌效果;内置一个独立的蒸汽发生器,保证快速灭菌及灭菌仓内的清洁,并使蒸馏水的消耗降到最低点;13 个消毒程序(9 个消毒及灭菌程序,2 个自定义程序和 2 个测试程序)可满足用户各种环境下的应用;1 个内置打印机和用于追溯的 Vela Vision 软件。除了优异的性能,它还有美丽的外观,16 种不同的外观设计可供选择。

Vela 165 A 是一款高效实用的灭菌器。它的全自动微处理器可以控制空气的抽取、加热、消毒、干燥及减压。消毒过程中的相关状态信息会显示在液晶显示屏上,便于操作人员实时了解控制消毒进程。提供 5 种消毒程序供客户选择,121 时(有包裹和无包裹)和 134 时(有包裹和无包裹)包括真空干燥。一种快速消毒程序是在 134 时,不包括真空干燥只需 4 min。

以上两款灭菌器均已通过国家药监局的检测并获得进口医疗器械注册证:SDA(I) 20022571237。欲了解更详尽的产品信息请致电 010-64657011/2/3/4 或发电子邮件给我们:Email:info@cn.acteongroup.com 网址:www.cn.acteongroup.com

(法国赛特力公司北京办事处)