

下颌牵张成骨术对咀嚼肌影响的组织形态学及酶组织化学的实验研究

肖文林 尚伟 李薇 纪祥瑞

摘要 目的:研究下颌牵张成骨对咀嚼肌的影响。方法:3组共6只狗的左侧下颌骨进行了时间不等的牵张后,切取咀嚼肌标本进行HE染色及酶组织化学染色,光镜观察其组织形态学改变并结合图像分析仪(VIDAS)分析酶含量变化。结果:嚼肌表现为持续萎缩,而二腹肌表现为组织形态的萎缩、肥大至正常的再构建过程。咀嚼肌酶含量的改变与其组织形态学改变相适应。结论:与牵张方向相同的二腹肌,通过组织形态改建适应牵张,酶含量由减少到增高再趋于正常;与牵张方向不同的嚼肌,出现持续萎缩,酶含量持续减少,代谢降低。

关键词 牵张成骨术 下颌骨 咀嚼肌 酶组织化学

A Histomorphologic and Enzyme Histochemical Study of Masticatory Muscles Affected by Distraction Osteogenesis of Mandible

Xiao Wenlin, Shang Wei, Li Wei, et al

The Affiliated Hospital, Medical College of Qingdao University

Abstract

Objective: The purpose of this study was to study the masticatory muscles affected by distraction osteogenesis of the mandible. **Methods:** The distraction osteogenesis (DO) was applied to distract the left mandible of 6 mongrel dogs that were divided into three experimental groups. After different distraction phase and consolidation phase, the masseter and the digastric muscle were taken out. The specimens were stained using hematoxylin/eosin and enzyme histochemistry. Afterwards, the specimens were observed with a light microscope to study the morphologic changes of the muscles. The contents of enzyme in the different groups were measured by VIDAS. **Results:** The masseter showed consequently atrophy, but the digastric muscle showed a progress of histomorphologic reconstruction, including atrophy and hypertrophy. The changes of the contents of enzyme and histomorphology were identical in the masticatory muscles. **Conclusion:** The digastric muscle parallel to the vector of mandibular distraction adapts the distraction by the way of atrophy, regeneration and hypertrophy. And the contents of enzyme appear to decrease at the beginning, increase afterwards, and return to the normal level finally. But the masseter perpendicular to the vector of mandibular distraction shows consequent atrophy, and the contents of enzyme consequently decrease, which means the metabolism decrease.

Key words: distraction osteogenesis mandible masticatory muscles enzyme histochemistry

牵张成骨技术(distraction osteogenesis, DO)是诱导骨痂在骨上生长,继而牵张远端及近端骨而使新骨形成的技术。由于有临床应用DO牵张长骨的成功经验¹,这使得DO在下颌骨的临床应用的时间大大缩短。但下颌骨有着与长骨不同的解剖形态及周围软组织具有特异性,进一步了解牵张延长下颌骨对咀嚼肌的影响将有益于提高DO的成熟

性。本文运用HE染色技术及酶组织化学技术对经过不同牵张期及牵张后固定期的实验狗的咀嚼肌进行组织形态学观察并定量研究牵张不同时期酶含量的变化。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康杂种狗6只,体重11~17kg,雌雄不拘。

1.2 动物分组及处理

将6只狗随机分为A、B、C3组,每组2只。A组:牵张左侧下颌骨3d后即处死动物。B组:牵张左侧下颌骨20d后,再经20d固定期后处死动物。C组:牵张左侧下颌骨20d后,经48d固定期后处死动物。对照组:在分别完成切取左侧下颌咀嚼肌标本的6只实验狗中,随机选两只狗的右侧下颌切取咀嚼肌标本,作为对照。

1.3 方法

采用骨皮质切开技术^{2,3}进行下颌骨截骨,安放牵张器于狗左下颌骨的骨皮质切开两侧。各实验组均术后经过1周的潜伏期后进行牵张,每次0.5mm,每天2次。牵张器采用德国Martin公司生产的口外型骨牵张延长装置,最大可延长幅度为30mm,旋转杆每旋转1周牵张延长0.5mm。

1.4 标本的处理

切取实验侧及对照侧嚼肌及二腹肌标本,每块均约2cm×1cm×1cm,将其等切为两份,1份冰冻切片后分别进行肌球蛋白ATP酶、乳酸脱氢酶染色;1份放入10%福尔马林固定后常规脱水包埋处理,HE染色。

1.5 酶组织化学定量分析

将嚼肌及二腹肌的酶组织化学切片按组别分类,应用VIDAS计算机图像分析仪在200倍镜下进行肌组织酶含量的定量分析,每组两张切片,每张切片取5个视野。由VIDAS测出每张切片所选视野的光密度值,将不同组的光密度值以SPSS软件包进行统计分析。

1.6 光镜下观察 HE 切片

将实验组、对照组嚼肌、二腹肌 HE 切片在光镜下观察,比较咀嚼肌组织形态学变化。

2 结 果

2.1 咀嚼肌光镜下组织形态学改变

2.1.1 嚼肌光镜下组织形态学改变 A组:肌纤维排列较整齐,肌束间有少量结缔组织。肌纤维间间距小,肌核位于肌纤维边缘,肌核分布均匀、稀疏。B组:部分肌纤维横断面积较小,肌核淡染。肌纤维间间距增大,肌束间脂肪结缔组织增多。C组:肌纤维横断面积明显较小,排列紊乱,部分肌纤维退变。肌束间结缔组织明显增多,可见肌束膜纤维变性。细胞核有圆形、椭圆形及棱角形,大小不均,部分胞核固缩。对照组:肌纤维排列整齐、紧密。肌束及肌纤维间间距小,肌核位于肌纤维边缘,染色适中,大小分布均匀。

2.1.2 二腹肌光镜下组织形态学改变 A组:肌束间间距稍增大,肌纤维排列较稀疏,肌核核形不规则,部分较大的肌核淡染。B组:肌纤维、肌束间

间距减少,肌纤维排列紧密,横截面积明显增大,胞浆淡染,肌核深染,间有小直径细胞,其可能为成肌细胞。C组:肌纤维排列规则,横截面积较B组减少,肌束与肌纤维间间距适中,肌束间有少量结缔组织,肌核分布均匀、稀疏,染色适中。对照组:肌纤维排列整齐、紧密,肌纤维与肌束间间距适中。肌核形态规则,位于肌纤维边缘,染色适中,大小、分布均匀。

2.2 咀嚼肌酶含量的变化

肌球蛋白ATP酶在咀嚼肌内染色表现为棕黑色的PbS沉淀,见图1,乳酸脱氢酶在咀嚼肌内染色表现为蓝紫色甲臆沉淀,见图2³。

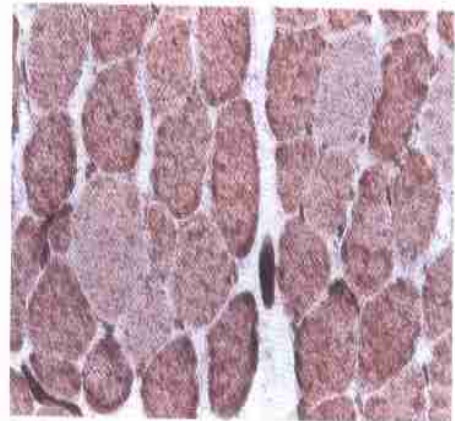


图1 咀嚼肌内棕黑色 PbS 沉淀表示 ATP 酶活性 ×200
Fig 1 The brownish black lead sulfide precipitation expressing the staining reaction of the myosin ATPase ×200

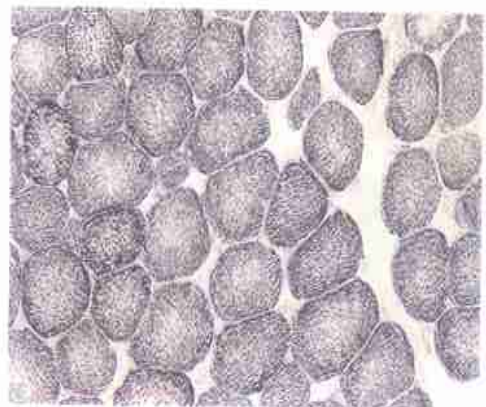


图2 咀嚼肌内蓝紫色甲臆沉淀表示 LDH 酶活性 ×200
Fig 2 The indigo blue formazan precipitation expressing the staining reaction of the lactate dehydrogenase ×200

嚼肌与二腹肌在不同实验阶段 ATP 酶及 LDH 酶含量改变的分析结果见表 1,2。

表1 嚼肌和二腹肌 ATP酶含量在不同实验阶段的光密度值($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The changes of the contents of the myosin ATPase in the masseter and the digastric muscle on the different experimental phase($\bar{x} \pm s$)

组别	研究视野数(n)	嚼肌	二腹肌
A	10	0.7125 \pm 0.0450	0.4537 \pm 0.0367 *
B	10	0.4682 \pm 0.0349 *	0.8043 \pm 0.0312 *
C	10	0.2985 \pm 0.0682 *	0.6657 \pm 0.0539
对照组	10	0.7229 \pm 0.0857	0.6810 \pm 0.4090

* 与对照组相比 $P < 0.05$, 以下表同

表2 嚼肌和二腹肌乳酸脱氢酶含量在不同实验阶段的光密度值($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The changes of the contents of the lactate dehydrogenase in the masseter and the digastric muscle on the different experimental phase($\bar{x} \pm s$)

组别	研究视野数(n)	嚼肌	二腹肌
A	10	0.6241 \pm 0.0445	0.4699 \pm 0.0330 *
B	10	0.5288 \pm 0.4995 *	0.6690 \pm 0.0534 *
C	10	0.3557 \pm 0.0664 *	0.5935 \pm 0.0374
对照组	10	0.6411 \pm 0.0516	0.5897 \pm 0.0478

3 讨 论

3.1 下颌牵张成骨对咀嚼肌组织形态的影响

在下颌骨牵张延长后,嚼肌与二腹肌均出现了组织形态学改变,此改变随牵张时间及固定时间的不同而变化。在牵张过程中,二腹肌表现为萎缩、再生与肥大,最终组织学形态恢复至大致正常的过程;而嚼肌表现为持续性萎缩的过程。

3.2 下颌牵张成骨对咀嚼肌酶含量变化的影响

咀嚼肌的生化代谢可以受到很多因素的影响,特别当受到功能变化的刺激时,肌细胞内各种酶促反应也会发生改变⁴。牵张成骨正是使咀嚼肌负荷状态缓慢发生改变,从而导致肌酶活性的改变⁵。因此咀嚼肌的功能的变化可由咀嚼肌酶含量的变化所反映,镜下直观表现为酶染色颗粒(沉淀)的变化(增多或减少)。VIDAS 通过对染色切片的透光性的多少所测的光密度值与切片中酶含量的多少成正比,因此可由光密度值的大小代表酶含量的多少进行统计学分析。本研究结果发现,嚼肌

中的酶含量持续性减少,说明嚼肌的生化代谢降低,功能下降,B、C 实验组与对照组比较有显著性差异($P < 0.05$);实验早期二腹肌酶含量变化与嚼肌一致,亦表现为酶含量的轻微减少。中期二腹肌则出现酶含量的显著增加,且高于对照组的正常酶含量($P < 0.05$),表明了二腹肌代谢在早期下降后开始升高。实验后期二腹肌酶含量恢复至大致正常水平,表明肌代谢恢复。

3.3 牵张成骨对咀嚼肌影响的机理

在对狗的下颌骨的牵张延长实验中,在牵张延长的不同阶段,嚼肌和二腹肌表现出不同形态及酶含量的改变,作者认为上述改变和咀嚼肌纤维走行方向即功能方向与下颌骨的牵张延长方向是否一致关系密切。二腹肌肌纤维走行即功能方向与下颌骨牵张的方向平行,虽然在牵张初期表现为暂时性的萎缩及代谢下降,但由于受到与肌纤维功能方向一致的功能性刺激,在连续的实验过程中,二腹肌通过组织改建(如再生、肥大等)与牵张相适应,肌肉的代谢水平上升且高于正常,随实验的进行,二腹肌逐渐恢复至正常的组织形态及代谢水平。嚼肌肌纤维走行方向即功能方向与下颌骨牵张方向为垂直关系,在牵张延长的初期,嚼肌表现为轻度的萎缩,随实验继续,嚼肌受到持续的非功能性的牵张刺激,加重了嚼肌的萎缩并导致肌代谢水平的持续下降。

参考文献

- 1 Tavakoli K, Stewart KJ, Pool MD. Distraction osteogenesis in craniofacial surgery: A review. *Ann Plast Surg*, 1998, 40(1): 88 ~ 90
- 2 Kwan MK, Wall EJ, Massie JB, et al. Strain stress and stretch of peripheral nerve. *Acta Orthop Scand*, 1992, 63(4): 267 ~ 268
- 3 凌启波主编. 实用病理特殊染色的组化技术. 广东: 广东高等教育出版社, 1989: 262 ~ 289
- 4 Mayo KH, Ellis E, Carlson DS. Histochemical analysis of the masseter and temporalis muscle in Macaca Mulatta after mandibular advancement using rigid or nonrigid fixation. *J Oral Maxillofac Surg*, 1990, 48(3): 381 ~ 384
- 5 Edman KAP, Reggiani C, Te Kionnie G. Differences in maximum velocity of shorting along single muscle fibres of the frog. *J Physiol*, 1985, 365(6): 147 ~ 153

(2000-10-30 收稿, 2002-04-28 修回)

(本文编辑 王 晴)