

Molekulargenetische Untersuchung der Umbauvorgänge in den verschiedenen Regionen der Kaumuskulatur nach einer kieferorthopädischen Behandlung

Sprache: Deutsch

Autoren: Tomasz Gedrange, Olaf Luck, Gerald Heßke, Winfried Harzer
Poliklinik für Kieferorthopädie des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus an der TU Dresden

Datum/Veranstaltung/Ort:
30.09.99-02.10.99
DGZMK / DENTSPLY Förderpreis Bonn

Einführung

Zur Erzielung einer stabilen Bißlage nach Korrektur einer Klasse-II-Verzahnung mittels funktionskieferorthopädischer Aktivatorbehandlung ist eine Adaptation der orofazialen Muskulatur erforderlich. Der Umstellungsprozeß soll dahingehend untersucht werden, ob er einem muskulären Training entspricht. Bei diesem kommt es zu einer Verschiebung des prozentualen Anteiles der Muskelfasern vom Typ II (fast twitch, glykolytisch) zum Typ I (slow twitch, oxydativ). Strukturell unterscheiden sich die Fasertypen durch verschiedene Isoformen des Myosins (Myosin Heavy Chain I und II - MHC I und II), welche funktionell durch ihre ATPase Aktivität zu trennen sind. Ziel der tierexperimentellen Untersuchung war der Nachweis eines Trainingseffektes in der Kaumuskulatur und die Entwicklung einer minimalinvasiven, hochsensiblen Meßmethode für den Muskelfaserumbauprozeß im Tiermodell, welche auch am Menschen anwendbar ist.

Material und Methoden

In die Versuche wurden 12 Schweine einbezogen. Von diesen wurden 6 als Kontrolltiere gehalten (Abb. 1). Das Hausschwein weist sowohl muskelphysiologisch als auch funktionell große Ähnlichkeiten mit dem Menschen auf. Bei den behandelten Schweinen wurde der Unterkiefer durch Kunststoffaufbisse um ca. 8mm nach anterior geführt (Abb. 2). Die Versuchsdauer betrug 4 Wochen. Anschließend wurden aus dem M.masseter Proben entnommen und folgende Nachweismethoden für die Fasertypbestimmung angewandt:

- Histologie: ATPase-Reaktion;
- Molekulargenetik: Gesamt-RNA-Isolation, cDNA-Synthese, Polymerasekettenreaktion (PCR) mit internem Standard (GAPDH).

Zur Durchführung der PCR wurden aus DNA-Datenbanken in den Bereichen der MHC-Gensequenz Primerpaare ermittelt. Diese mußten große Sequenzunterschiede zwischen den Isoformen zeigen. (Abb. 3). Damit ist eine spezifische strukturelle Unterscheidung der MHC-Isoformen (fast twitch - Typ II- Fasern und slow twitch - Typ I-Fasern] mit Hilfe der PCR möglich.



Abb. 1:
Normale
Unterkieferlage
bei den
Kontrolltieren

Abb. 2:
Unterkiefer-
vorverlagerung
durch
Kunststoffaufbisse
im
Seitenzahnbereich
bei den
behandelten
Tieren

Abb. 3:
Verwendete
Primersequenzen
für die PCR

Ergebnisse

Histologie:

Die Unterkiefervorverlagerung und die damit verbundene Muskeladaptation führt zur Vermehrung von Typ-I-Fasern (oxydative Energiegewinnung). In den histologischen Untersuchungen wird die Verschiebung der Faseranteile zum Typ-I hin sichtbar (Abb. 4 bis 6).

Molekulargenetik:

Die Unterschiede im mRNA - Gehalt zwischen Kontroll- und behandelten Tieren wurden im M. masseter nachgewiesen. Mit der PCR konnte der qualitative und quantitative Gehalt der 2 Isoformen der MHC (I, II) gemessen werden. Als Vergleich wurde zur Kontrolle das ubiquitär vorkommende Enzym GAPDH mitgemessen. Die Ergebnisse der PCR stimmen mit den histologischen Untersuchungen überein (Abb. 7 und 8).

M. masseter (I) von Kontrolltieren

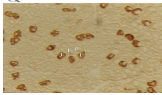


Abb. 4: Histologie, Typ-I- und Typ-II-Fasern im M. masseter der Kontrolltiere (ATPase-Färbung)

M. masseter (I) von behandelten Tieren

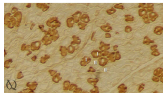


Abb. 5: Histologie, Typ-I- und Typ-II-Fasern im M. masseter der behandelten Tiere (ATPase-Färbung)

Fasertyp in M. masseter und M. temporalis von Kontrolltieren und von behandelten Tieren

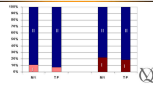


Abb. 6: Verhältnis der Fasertypen im M. masseter bei Kontroll- und behandelten Tieren

PCR von MHC I und II von M. masseter

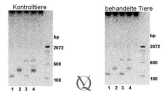


Abb. 7: Agarose-Gelelektrophorese der PCR-Produkte = MHC I; 2 = MHC II; 3 = MHC I und GAPDH; 4 = MHC II und GAPDH

m-RNA-Menge M. masseter und M. temporalis von Kontrolltieren und von behandelten Tieren



Abb. 8: Verhältnis der mRNA-Mengen für die Fasertypen

Diskussion und Schlussfolgerungen

- Sowohl im histologischen Bild als auch mit Hilfe der PCR konnte die Verschiedenheit in der Faserzusammensetzung im M. masseter unter dem Einfluß funktioneller Anpassungen bei Unterkieferverlagerung nachgewiesen werden.
- Die PCR ist mit kleinsten Gewebemengen (Nadelbiopsien) durchführbar. Damit ist diese minimalinvasive Methode auch am Menschen einsetzbar .
- Das benutzte Analyseverfahren kann sowohl für die Optimierung von Gerätetragezeit und Behandlungsintensität, als auch im individuellen Fall bei ungünstigen Voraussetzungen für die funktionskieferorthopädische Behandlung genutzt werden.

Dieses Poster wurde übertragen am 07.02.00 von [Dr. Tomasz Gedrange](#).

Korrespondenzadresse:

[Dr. Tomasz Gedrange](#)
 Universitätsklinikum Carl Gustav Carus
 Poliklinik für Kieferorthopädie
 Fetscherstr. 74
 D - 01307 Dresden

Molekulargenetische Untersuchung der Umbauvorgänge in den verschiedenen Regionen der Kaumuskulatur nach einer kieferorthopädischen Behandlung



G. Heßke, T. Gedrange, O. Luck, W. Harzer



Poliklinik für Kieferorthopädie
des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus an der TU Dresden

13. BZÄK / DGZMK / DENTSPLY Förderpreis - Wettbewerb

Ziele:

Zur Erzielung einer stabilen Billage nach Korrektur einer Klasse-II-Verzahnung mittels funktionskieferorthopädischer Aktivatorbehandlung ist eine Adaptation der einfallenden Muskulatur erforderlich. Der Umstellungsprozess soll nähergehend untersucht werden, da er einem muskulären Training entspricht. Bei diesem kommt es zu einer Verschiebung des prozentualen Anteiles der Muskelfasern vom Typ II (fast twitch, glykolytisch) zum Typ I (slow twitch, oxydativ). Strukturell unterscheiden sich die Fasertypen durch verschiedene Isoformen des Myosins (Myosin Heavy Chain I und II - MHC I und II), welche funktionsell durch ihre ATPase Aktivität zu trennen sind. Ziel der tierexperimentellen Untersuchung war der Nachweis eines Transfereffektes in der Kaumuskulatur und die Entwicklung einer minimalinvasiven, hochsensiblen Meßmethode für den Muskelersumbe-prozess im Tiermodell, welche auch am Menschen anwendbar ist.

Material und Methoden:

In die Versuche wurden 12 Schweine einbezogen. Von diesen wurden 6 als Kontrolltiere gehalten (Abb. 1). Das Hauschwein weist sowohl muskelphyziologisch als auch funktionell große Ähnlichkeiten mit dem Menschen auf. Bei den behandelten Schweinen wurde der Unterkiefer durch Kunststoffaufsätze um ca. 8mm nach anterior geführt (Abb. 2). Die Versuchsdauer betrug 4 Wochen. Anschließend wurden aus dem M. masseter Proben entnommen und folgende Nachweismethoden für die Fasertypbestimmung angewandt:

- Histologie, ATPase Reaktion
 - Molekulargenetik: Gesamt-RNA-Isolation, cDNA-Synthese, Polymerasekettenreaktion (PCR) mit internem Standard (GAPDH)
- Zur Durchführung der PCR wurden aus DNA-Datenbanken in den Bereichen der MHC-Gensequenz Primärpaare ermittelt. Diese mußten große Sequenzunterschiede zwischen den Isoformen zeigen (Abb. 3). Damit ist eine spezifische strukturelle Unterscheidung der MHC-Isoformen (fast twitch - Typ II - Fasern und slow twitch - Typ I-Fasern) mit Hilfe der PCR möglich.



Abb. 1: Normaler Unterkieferlage bei der Kontrolltiere



Abb. 2: Unterkieferverlagerung durch Kunststoffaufsätze im Seitenröntgenbild bei der behandelten Tiere



Abb. 3: Verschiedene Primärpaare für die PCR

Ergebnisse:

Histologie:

Die Unterkieferverlagerung und die damit verbundene Muskeladaptation führt zur Vermehrung von Typ-I-Fasern (oxydative Energiegewinnung). In den histologischen Untersuchungen wird die Verschiebung der Faseranteile zum Typ-I hin sichtbar (Abb. 4 bis 6).



Abb. 4: Histologie: Typ I (oxydative Fasern) im M. masseter der Kontrolltiere (ATPase-Färbung)



Abb. 5: Histologie: Typ I und Typ II Fasern im M. masseter der behandelten Tiere (ATPase-Färbung)



Abb. 6: Verhältnis der Fasertypen im M. masseter bei Kontroll- und behandelten Tieren

Molekulargenetik:

Die Unterschiede im mRNA - Gehalt zwischen Kontroll- und behandelten Tieren wurden im M. masseter nachgewiesen. Mit der PCR konnte der qualitative und quantitative Gehalt der 2 Isoformen der MHC (I, II) gemessen werden. Als Vergleich wurde zur Kontrolle das ubiquitär vorkommende Enzym GAPDH mitgemessen. Die Ergebnisse der PCR stimmen mit den histologischen Untersuchungen überein (Abb. 7 und 8)

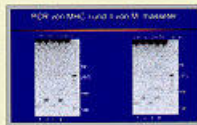


Abb. 7: Agarose-Gelelektrophorese der PCR Produkte (1 = MHC I, 2 = MHC II, 3 = MHC und GAPDH, 4 = MHC 2 und GAPDH)



Abb. 8: Verhältnis der mRNA-Mengen für die Fasertypen

Schlußfolgerung:

- Sowohl im histologischen Bild als auch mit Hilfe der PCR konnte die Verschiebung in der Faserzusammensetzung im M. masseter unter dem Einfluß funktionaler Anpassungen bei Unterkieferverlagerung nachgewiesen werden.
- Die PCR ist mit klassischen Gewebemengen (Nadelbiopsien) durchführbar. Damit ist diese minimalinvasive Methode auch am Menschen einsetzbar.
- Das benutzte Analyseverfahren kann sowohl für die Optimierung von Gerätetragezeit und Behandlungsintensität, als auch im individuellen Fall bei ungünstigen Voraussetzungen für die funktionskieferorthopädische Behandlung genutzt werden.