Экспериментальное моделирование остеоартроза височно-нижнечелюстного сустава

К.м.н., доц. И.Н. КОСТИНА[1]*, к.м.н., доц. И.Е. ВАЛАМИНА[2]

[1]Кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии (зав. — В.П. Журавлев) стоматологического факультета, [2]гистологическая лаборатория ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

The experimental modelling of osteoarthrosis of the temporomandibular joint

I.N. KOSTINA[1], I.E. VALAMINA[2]

[1]Department of Surgical Stomatology and Maxillofacial Surgery (Head — V. P. Zhuravlev), [2]Central Research Histological Laboratory, State budgetary educational institution of higher professional education «Ural State Medical University», Russian Ministry of Health, Ekaterinburg, Russia

Механическая перегрузка рассматривается как один из факторов риска остеоартроза (ОА) височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС). **Цель исследования** — изучение морфологии хряща ВНЧС при моделировании ОА с применением механической нагрузки. **Материал и методы.** В эксперименте на кроликах использовано чрезмерное открывание рта по 3 ч в день в течение 5 дней под общим обезболиванием. **Результаты и обсуждение.** Гистологическое исследование хряща ВНЧС показало характерные для ОА изменения.

Ключевые слова: экспериментальный остеоартроз, височно-нижнечелюстной сустав.

Mechanical overloading is considered to be one of the risk factors for osteoarthrosis (OA) of the temporomandibular joint (TMJ). **The objective** of the present work was to study the morphological features of TMJ cartilage using the experimental model of osteoarthrosis subjected to mechanical loading. **Material and methods.** The experimental animals (rabbits) were forced to excessively open mouth for 3 hours daily during 5 days under general anesthesia. **Results and discussion.** The histological study of TMJ cartilage has demonstrated the changes characteristic of osteoarthrosis.

Key words: experimental osteoarthrosis, temporomandibular joint.

Механическая перегрузка имеет первостепенное значение в развитии остеоартроза (ОА) любого сустава. В 1974 г. J. Barbenel [2] описал структурную и функциональную приспособленность височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) к механической нагрузке. Выполнение человеком в течение суток около 2600 стереотипных движений нижней челюсти при жевании, глотании и разговоре ассоциируется с риском ОА ВНЧС [6].

L. Gallo [7] в эксперименте показал, что в ВНЧС жевательное напряжение усиливается при приеме грубой пищи, при закрывании рта, на балансирующей стороне нижней челюсти. Увеличивающееся трение между суставными поверхностями при сжатии и напряжении в ВНЧС могут проявляться компенсаторной или патологической реакцией хряща, связок, синовиальной оболочки, субхондральной кости [12]. K. Yamada и соавт. [15] объясняют изменения конфигурации суставного бугорка адаптацией к увеличению механической нагрузки в ВНЧС при смещении диска, наличии остеофитов.

Предложены различные экспериментальные модели ОА ВНЧС, в которых использованы хирургические манипуляции [1, 3, 8—10, 13, 14]. Однако хирургические операции вызывают не только механические изменения в ВНЧС, но и искусственное хирургическое повреждение структур сустава. В связи с этим описанные модели хирургически индуцированного ОА не могут рассматриваться как реальная механическая перегрузка ВНЧС.

Последнее время в научной литературе представлены способы моделирования ОА ВНЧС при создании механической нагрузки, например, с помощью устройства для максимального разведения челюстей в течение 5 дней [6], ручной гипермобильности сустава в течение 10 дней [4, 5], максимального отведения нижней челюсти в течение 7 дней [11]. Эти модели демонстрируют, что повышенная на-

© И.Н. Костина, И.Е. Валамина, 2014

*e-mail: kostinastom@yandex.ru

грузка на сустав без хирургического вмешательства может вызвать ОА-подобные патологические изменения естественным путем.

Цель исследования — изучение патоморфологии хряща ВНЧС при моделировании ОА с применением механической перегрузки.

Материал и методы

Эксперимент выполнен на 18 кроликах-самцах в возрасте 6 мес, массой 3330—4200 г в виварии ЦНИЛ Уральского государственного медицинского университета. Кролики содержались в условиях 12/12-часового светового режима и получали стандартный корм и питьевую воду. Эксперимент на животных проведен в соответствии с приказом Министерства здравоохранения СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и после получения одобрения Локального этического комитета (протокол №8 от 16.12.2008).

Экспериментальные животные были разделены на две группы: 1-ю группу (контрольная) составили 9 здоровых кроликов, 2-ю группу — 9 кроликов с моделированным ОА ВНЧС. В течение 5 дней ежедневно по 3 ч создавали нагрузку на ВНЧС силой 200 Н (патент РФ на изобретение №2445711 от 20.03.2012). Кролики обеих групп выведены из эксперимента через 7 дней (n=6), 14 дней (n=6), 30 дней (n=6).

Каждый экспериментальный день использовали комбинированный наркоз: введение 2% раствора ксила (XylaVet) и золетил 100 (Zoletil 100) в дозе по 0,1 мг на кг массы животного внутримышечно. Выведение животных из эксперимента включало проведение вводного комбинированного наркоза, затем животным внутривенно вводили золетил 100 из расчета 20 мг на кг массы тела до остановки дыхания.

Лабораторное исследование в 1-й день эксперимента и в день выведения животных из эксперимента проведено в отделе общей патологии (рук. — д.м.н., проф. В.В. Базарный) ЦНИЛ и включало стандартные унифицированные тесты общеклинического исследования сыворотки крови.

Материал для гистологического исследования брали в день выведения животного из эксперимента. Образцы тканей ВНЧС фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, проводили по спиртам возрастающей концентрации, заливали в парафин и микротомировали. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, ставили ШИК-реакцию и окраску по Хейлу.

Гистологическое исследование выполнено в патоморфологической лаборатории (зав. — к.м.н., доц. И.Е. Валамина) ЦНИЛ. Визуальную оценку окрашенных срезов тканей проводили под световым микроскопом Axiosnar с использованием объектива ×40, ×200, ×400. При изучении микропрепаратов измеряли общую толщину суставного хряща, толщину волокнистой и клеточной частей хряща ВНЧС с помощью окуляр-микрометра М06-х при увеличении 10×15.

Статистическая обработка включала вычисление средней арифметической величины (M), среднего стандартного отклонения (m) для количественных признаков. Количественные показатели в таблице представлены в виде средних значений и средних стандартных отклонений m ($M\pm m$). Полученные количественные данные обрабатывали с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel для Office XP, Statistica for Windows, ver.6.1. Статистическую значимость различий между средними величинами вариационного ряда оценивали по t-критерию Стьюдента для независимых выборок ($p\leqslant 0{,}05$).

Результаты и обсуждение

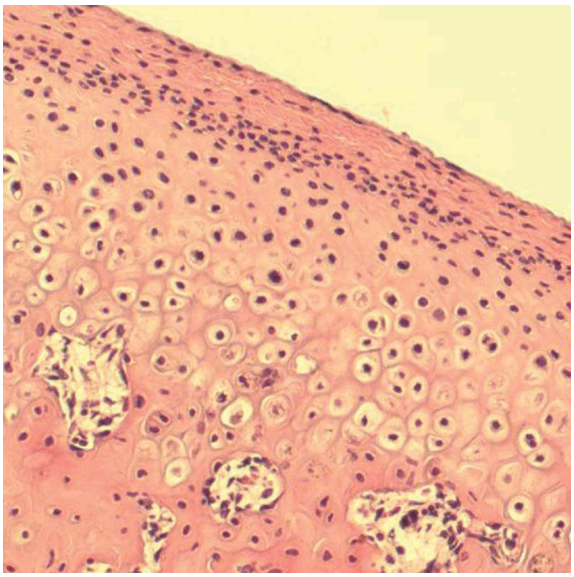
При обследовании кроликов 1-й группы в начале эксперимента получены средние значения количества лейкоцитов $4{,}6\cdot10^9$/л, лимфоцитов — 20,7%, моноцитов — 4,8%, гранулоцитов — 71,1%, тромбоцитов — $163{,}5\cdot10^9$/л. При обследовании кроликов 2-й группы в начале эксперимента получены средние значения количества лейкоцитов $7{,}0\cdot10^9$/л, лимфоцитов — 30,6%, моноцитов — 10,0%, гранулоцитов — 57,3%. Эти показатели не превышают показатели нормы. Количество тромбоцитов в среднем составило $497{,}3\cdot10^9$/л, что несколько больше нормы. Различия количества лейкоцитов (p=0,050), тромбоцитов (p=0,001) в 1-й и во 2-й группе статистически значимые.

При обследовании кроликов 1-й группы в конце эксперимента лейкоциты в среднем составили $5{,}4\cdot10^9$/л, лимфоциты — 17,6%, моноциты — 7,2%, гранулоциты — 71,4%, тромбоциты — $388{,}4\cdot10^9$/л, что не отличалось от показателей нормы. При обследовании кроликов 2-й группы в конце эксперимента лейкоциты в среднем составили $6{,}4\cdot10^9$/л, лимфоциты — 56%, моноциты — 6,1%, гранулоциты — 41,1%, тромбоциты — $361{,}3\cdot10^9$/л и не превышали показатели нормы.

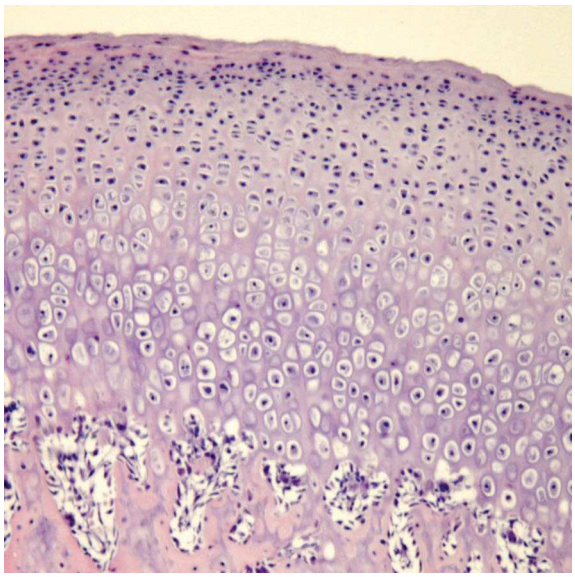
Морфологическое изучение хряща ВНЧС здоровых кроликов 1-й группы

В суставном хряще определяются три зоны: поверхностная, промежуточная, базальная **(рис. 1, а)**.

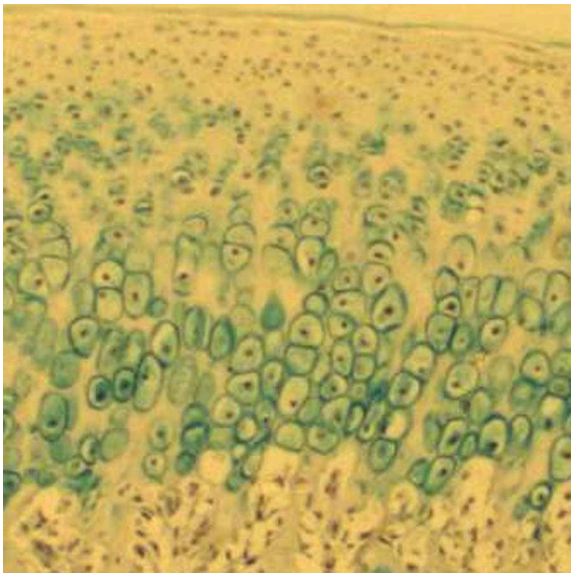
Поверхностная зона представлена волокнистым слоем, состоящим из пучков коллагеновых волокон, ориентированных параллельно поверхности хряща, плотно прилежащих друг к другу. Хондроциты этой



а



б



в

Рис. 1. **Микропрепараты хряща ВНЧС кроликов 1-й группы (контроль).**
Здесь и на рис. 2: объяснение в тексте; окрашивание гематоксилином и эозином (а), ШИК-реакция (б), по Хейлу (в). ×200.

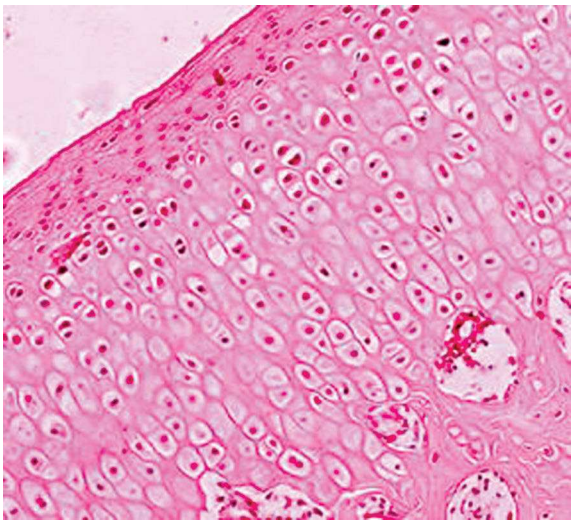
зоны мелкие, уплощенные, расположены одиночно среди волокон. Хрящевой матрикс не выражен, бледно окрашен **(см. рис. 1, б, в)**.

Промежуточная зона представлена типичными хондроцитами. Хрящевой матрикс хорошо выражен, окрашен ярче, чем в поверхностной зоне. Среди межтерриториального матрикса располагаются первичные лакуны, содержащие изогенные группы из 2—3 хондроцитов.

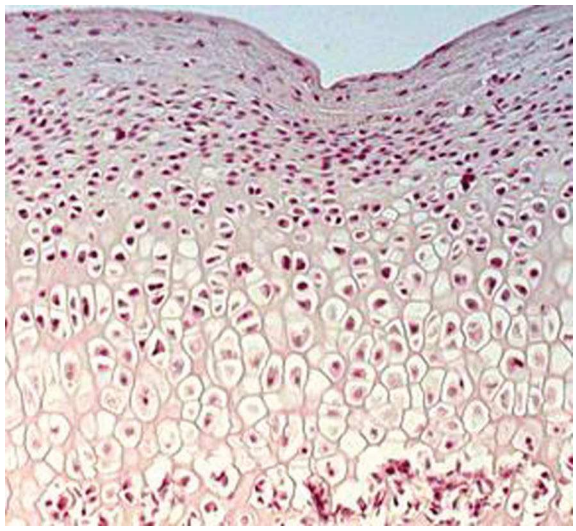
Промежуточная зона без четких границ переходит в базальную зону, которая прилежит к субхондральной кости. В базальной зоне хондроциты крупные, гипертрофированные, образуют колонки по 5—10 клеток **(см. рис. 1, а)**. Единичные хондроциты проникают в субхондральную кость. Хрящевой матрикс ярко окрашен **(см. рис. 1, б, в)**. Базальная линия контурируется. Общая толщина хряща в среднем 1,02±0,02 мм, при этом толщина волокнистой части (0,14±0,001 мм) в 6,3 раза меньше толщины клеточной части (0,88±0,02 мм) хряща.

Морфологическое изучение хряща ВНЧС кроликов 2-й группы с моделированным ОА

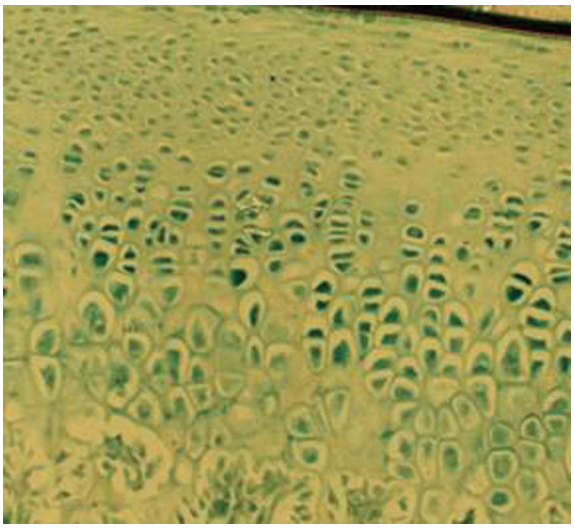
При гистологическом исследовании на 7-е сутки эксперимента в суставном хряще отмечено компенсаторное увеличение количества хондроцитов в



а



б



в

Рис. 2. **Микропрепараты хряща ВНЧС кроликов 2-й группы с моделированным ОА, 14-е сутки.**

колонках базальной зоны и более глубокое внедрение пролиферирующих хондроцитов в субхондральную кость. Контуры базальной линии размыты.

На 14-е сутки эксперимента архитектоника суставного хряща нарушена за счет изменения соотношения толщины зон. Волокнистый слой хряща расширен, набухшие коллагеновые волокна с участками разволокнения и глыбчатого распада **(рис. 2, а)**.

Поверхностная и промежуточная зоны выглядят гомогенизированными, бесструктурными за счет глубоких дистрофических изменений. Хондроциты промежуточной зоны более мелкие, уплощенные, располагаются в лакунах по 2—3 клетки **(см. рис. 2, а)**. В базальной зоне отмечены компенсаторные гиперпластические процессы в виде клеточной пролиферации. Хондроциты расположены в колонках неупорядоченно, их количество в колонках возрастает до 15—20. Снижена базофилия, содержание ШИК-позитивных веществ в территориальном и межтерриториальном матриксе **(см. рис. 2, б, в)**.

На 30-е сутки эксперимента во всех зонах суставного хряща нарастают дистрофические и некробиотические изменения. В волокнистом слое происходит глыбчатый распад коллагеновых волокон. Бесструктурные массы определяются на границе поверхностной и промежуточной зон, промежуточной и базальной зон. В базальной зоне хондроциты расположены неупорядоченно. Ядра хондроцитов пикнотичны. Многие лакуны выглядят пустыми в

Таблица 1. **Морфометрическое изучение суставного хряща ВНЧС при моделировании ОА**

Морфометрия суставного хряща	Моделированный ОА ВНЧС			Среднее значение
	7-е сутки	14-е сутки	30-е сутки	
Общая толщина, мм	0,67±0,03	0,79±0,04	1,09±0,06	0,87±0,03
Толщина волокнистой части, мм	0,21±0,009	0,21±0,006	0,26±0,007	0,23±0,005
Толщина клеточной части, мм	0,46±0,03	0,59±0,03	0,83±0,06	0,65±0,03

Таблица 2. **Сравнительная характеристика толщины хряща ВНЧС кроликов разных групп**

Группа животных	Общая толщина хряща, мм	Толщина волокнистой части хряща, мм	Толщина клеточной части хряща, мм
1-я группа — контроль	1,02±0,02	0,14±0,001	0,88±0,02
2-я группа — моделированный ОА	0,87±0,03	0,23±0,005	0,65±0,03
p_{1-2}	0,0006	$1,1 \cdot 10^{-24}$	$5,1 \cdot 10^{-8}$

результате цитолиза. Исчезло яркое окрашивание территориального матрикса, ШИК-позитивность и базофилия базальной зоны.

Динамика выявленных структурных изменений в суставном хряще ВНЧС кроликов 2-й группы подтверждена результатами морфометрического исследования **(табл. 1)**.

На 7-е сутки эксперимента общая толщина хряща меньше в сравнении с 14-ми сутками. Общая толщина хряща на 14-е сутки эксперимента наибольшая в сравнении с 7-ми и 30-ми сутками. Общая толщина хряща на 30-е сутки эксперимента наименьшая в сравнении с 7-ми и 14-ми сутками. Постепенное увеличение толщины хряща происходит за счет увеличения толщины волокнистой (в 1,2 раза) и клеточной (1,8 раза) частей.

Сравнительное изучение морфологических изменений ВНЧС хряща у животных 1-й и 2-й групп

По структуре хрящ ВНЧС в норме является разновидностью гиалинового хряща с наличием в поверхностной зоне волокнистого слоя, надхрящница отсутствует. Коллагеновые волокна создают «каркас» хряща. Наибольшее их скопление в поверхностной зоне образует устойчивую к износу, упругую суставную поверхность головки нижней челюсти.

После моделирования ОА хрящ ВНЧС характеризуется нарушением зональности, пролиферацией, хаотичностью расположения хондроцитов, уменьшением клеточной плотности, дефицитом протеогликанов, гликозаминогликанов (ГАГ). Снижение содержания протеогликанов, ГАГ равномерное в территориальном и межтерриториальном матриксе хряща.

Общая толщина хряща ВНЧС у кроликов 2-й группы с моделированным ОА уменьшилась на 13,9%. При этом толщина волокнистой части хряща увеличилась на 64,2%, а толщина клеточной части уменьшилась на 26,1%. Различия общей толщины хряща, волокнистой и клеточной частей во 2-й группе статистически значимы в сравнении с 1-й группой **(табл. 2)**.

Таким образом, проведение гистологического, морфометрического изучения хряща ВНЧС кроликов 2-й группы после моделирования ОА позволило выявить следующее:

1) общая структура хряща сохраняется, но нарушается зональность;

2) волокнистый слой постепенно утолщается, клеточный слой уменьшается по толщине;

3) хрящ головки нижней челюсти в целом истончается;

4) снижается и нарушается распределение протеогликанов;

5) накопление кислых ГАГ промежуточной и базальной зон хряща за счет снижения функциональной активности, репродуктивной функции хондроцитов.

Основной объем всех зон хряща составляет матрикс, в котором расположены коллагеновые волокна, вода, протеогликаны, ГАГ и т.п. Равномерное, в достаточном количестве распределение данных веществ в матриксе обеспечивает жесткость, упругость, эластичность, обратимость деформаций хряща, возникающих при внешней механической нагрузке. Количественные изменения в хрящевом матриксе вызывают структурные изменения.

Заключение

Несмотря на адаптационные пролиферативные процессы явно видимые в базальной зоне суставного хряща в период до 14-х суток, на 30-е сутки происходит уменьшение общей толщины хряща. Снижение в матриксе содержания протеогликанов, ГАГ является характерным признаком деструкции хряща при ОА. Пролиферация хондроцитов на ранних стадиях ОА отражает их неполноцен-

ную репаративную регенерацию из-за снижения белоксинтезирующей активности, что сопровождается снижением протеогликанов, появлением некробиотических процессов. Следовательно, на ранних стадиях ОА параллельно протекают дистрофические, некробиотические изменения, но они носят очаговый характер.

Экспериментальное моделирование ОА ВНЧС с использованием механической нагрузки вызывает резкое уменьшение толщины тканей, а в последующем развивается неполноценная пролиферация как ответная реакция на компрессию. Продолжительно действующее механическое сжатие ВНЧС вызывает дегенеративные изменения его структур.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Axelsson S., Holmlung A., Hyerpe A.* An experimental model of osteoarthrosis if the temporomandibular joint of the rabbit. Acta Odontol Scand 1992; 50: 273—280.
2. *Barbenel J.C.* The mechanics of the temporomandibular joint — a theoretical and electromyograpnical study. J Oral Rehabil 1974; 1: 19—23.
3. *Chang J., Ma X., Wu D. et al.* Study on the characteristics of apoptosis in the condyles of osteoarthritic temporomandibular joints. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 2004; 22: 5: 353—356.
4. *El-Hakim I.E., Abdel-Hamid I.S., Bader A.* Temporomandibular joint response to intra-articular dexamethasone injection following mechanical arthropathy: a histological study in rats. Int J Oral Maxillofac Surg 2005; 34: 3: 305—310.
5. *El-Hakim I.E., Elyamani A.O.* Preliminary evaluation of histological changes found in a mechanical arthropatic temporomandibular joint (TMJ) exposed to an intra-articular Hyaluronic acid (HA) injection, in a rat model. J Craniomaxillofac Surg 2011; 39: 8: 610—614.
6. *Fujisawa T., Kuboki T., Kasai T. et al.* A repetitive, steady mouth opening induced an osteoarthritis-like lesion in the rabbit temporomandibular joint. J. Dent Res 2003; 82: 9: 731—735.
7. *Gallo L.M.* Modeling of temporomandibular joint function using MRI and jaw-tracking technologies-mechanics. Cells Tissues Organs 2005; 180: 1: 54—68.
8. *Ishimari J.* A model for osteoarthritis of the temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg 1992; 50: 1191—1195.
9. *Liu X.W., Hu J., Man C. et al.* Insulin-like growth factor-1 suspended in hyaluronan improves cartilage and subchondral cancellous bone repair in osteoarthritis of temporomandibular joint. Int J Oral Maxillofac Surg 2011; 40: 2: 184—190.
10. *Meng J., Ma X., Li Z., Wu D.* Diagnostic evaluation of the temporomandibular joint osteoarthritis using cone beam computed tomography compared with conventional radiographic technology. Chin Med J 2007; 120: 24: 2191—2194.
11. *Nicoll S.B., Hee C.K., Davis M.B., Winkelstein B.A.* A rat model of temporomandibular joint pain with histopathologic modifications. J Orofac Pain 2010; 24: 3: 298—304.
12. *Stegenga B., de Bont L., Boering G., van Willigen J.* Tissue responses to degenerative changes in the temporomandibular joint: a review. J Oral Maxillofac Surg 1991; 49: 10: 1079—1088.
13. *Tominaga K., Hirashima S., Fukuda J.* An experimental model of osteoarthrosis of the temporomandibular joint in monkeys. J Oral Maxillofac Surg 2002; 40: 232—237.
14. *Xu L., Polur I., Lim C. et al.* Early-onset osteoarthritis of mouse temporomandibular joint induced by partial discectomy. Osteoarthritis Cartilage 2009; 17: 7: 917—922.
15. *Yamada K., Tsuruta A., Hanada K., Havashi T.* Morphology of the articular eminence in temporomandibular joint and condylar bone change. J Oral Rehabil 2004; 31: 5: 438—444.