

乳酸脱氢酶诱导兔颞下颌关节骨关节病的动物模型^①

田 慧^② 张志光 何一青 陈欣然

(中山医科大学光华口腔医院; 广州, 510060)

摘要 目的:建立颞下颌关节骨关节病动物模型。**方法:**将不同浓度乳酸脱氢酶(LDH)一次性注入两组兔双侧颞下颌关节上腔内,分别于注射后 24 h, 1、4、8、12 周后处死动物,对颞下颌关节标本采用组织病理学及扫描电镜观察。**结果:**注射 LDH 4 周后出现关节表面软骨破坏,关节盘胶原纤维暴露,滑膜慢性炎症等骨关节病表现。**结论:**本实验建立的颞下颌关节病动物模型可用于颞下颌关节骨关节病早、中期病变的研究。

主题词 乳酸脱氢酶/副作用; 颞下颌关节疾病/化学诱导; 疾病模型, 动物

中图分类号 R 782.6

OSTEOARTHROSIS OF THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT INDUCED BY LACTATE DEHYDROGENASE IN ADULT RABBITS

Tian Hui Zhang Zhiguang He Yiqing Chen Xinran

(Guanghua Stomatology Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510060)

Abstract Objective: To establish an animal model of osteoarthritis(OA) in the temporomandibular joint (TMJ) (TMJOA) by injecting lactate dehydrogenase (LDH) into the upper compartments of TMJs in adult rabbits. **Methods:** Adult New Zealand white rabbits were randomly divided into four groups of five animals each. A and B groups were used as control. In group C and D LDH was injected into the upper compartments at two different concentrations at a volume of 0.1 mL. The samples of TMJs were analyzed histologically and SEM in four different times after injection. **Results:** The animals which had injected LDH at two different concentrations resulted in similar consequence. The TMJs occurred typical changes of OA. The damages were in early to moderate stage. No pathological changes could be found in TMJs of the control groups. **Conclusion:** The results suggest that LDH may be of use in establishing the animal model of TMJOA.

Subject headings lactate dehydrogenase/adverse effects; temporomandibular joint diseases/chemically induced; disease models, animal

颞下颌关节(TMJ)骨关节病(OA) (TMJOA)是颞下颌关节的常见病,但其发病机制尚无明确定论,治疗效果亦不甚理想。研究表明^[1],颞下颌关节发生骨关节病时,其关节液乳酸脱氢酶含量发生变化。本实验利用乳酸脱氢酶一次性注入兔颞下颌关节腔内,通过组织病理学检查和扫描电镜观察关节盘、关节结节及髁状突组织变化,尝试采用一次性注入乳酸脱氢酶的方法,建立兔颞下颌关节骨关节病模型,用于颞下颌关节疾病的研究。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组

选用健康雌性成年新西兰白兔 20 只,每只体重 2.0~2.5 kg,随机分为 4 组:A 组,空白对照组,5 只,双侧 TMJ(颞下颌关节)只作关节上腔穿刺,不注射任何药物;B 组,实验对照,5 只,双侧 TMJ 上腔注射 0.9%生理盐水 0.1 mL; C 组,低浓度组,5 只,双侧 TMJ 上腔均注射 100 单位 LDH

(Lactate Dehydrogenase) 0.1 mL; D组,高浓度组,5只,双侧 TMJ 上腔均注射 200 单位 LDH 0.1 mL。上述各组均于穿刺或注射后 24 h,1、4、8、12 周处死动物,取颞下颌关节标本观察。

1.2 乳酸脱氢酶

由美国 Sigma 公司提供,300 IU/mg,低温冰箱保存,使用时用 0.9%生理盐水配成所需浓度的溶液。

1.3 兔 TMJ 穿刺方法

在兔子外眦后下方可扪及两个小结节,分别为眶下缘和髁突后极。作 TMJ 穿刺时,在两个小结节之间进针,针头指向前、内、下均与眶下缘平行,进针约 0.5 cm 后,可有脱空感,回抽无血,偶尔有少许粘稠淡黄色液体,即关节液,注射药物后可回抽,此时表明针尖在 TMJ 腔内^[2]。

1.4 标本制备

分别按照组织检查和扫描电镜检查的不同要求处理 TMJ 标本。

2 结 果

2.1 空白对照组和实验对照组

在各时间段的组织学检查及扫描电镜检查其 TMJ 关节软骨和关节盘组织结构正常,均未发现明显改变。

光镜下,关节窝、关节结节和髁状突表面均覆盖一层纤维软骨,以髁突前端为最厚,关节窝处最薄,其纤维软骨分为 4 层:表面层、增殖层、肥大层和钙化层。4 层排列整齐,以肥大层为最厚,表面层次之,钙化层最薄,关节盘由致密的胶原纤维,和纤维细胞组成,关节盘及纤维软骨内均未发现血管。

扫描电镜下,关节盘上表面光滑,有规则的波纹状突起与凹陷的沟相隔,且相互大致平行,中央部软窄,波纹宽约 3~4 μm,前后缘波纹突起多,为内外走向,突起明显,关节盘下腔表面波纹粗细不均,多向排列,上、下腔表面均覆盖一层凝胶样物质。髁状突表面也呈波纹样结构,前斜面功能区波纹突起不明显,较为平坦,可见多个卵圆形丘状突起,表面亦有凝胶样物质覆盖。

2.2 低浓度组和高浓度组

在各时间段组织病理学改变在光镜下及扫描

电镜下均相似,仅程度有所不同,在各个阶段,高浓度组均较低浓度组更严重。

光学显微镜下经 HE 染色所见病理改变:注射 LDH 后 24 h,关节盘及滑膜充血水肿,炎症细胞浸润,为急性炎症性改变。注射 LDH 后 1 周,炎症消退,未见明显病变。注射 LDH 后 4 周,纤维软骨层变薄,原纤维形成,关节盘内少量血管增生,滑膜呈现慢性炎症表现。注射 LDH 后 8 周,可见纤维软骨各层结构排列紊乱,表面层变薄或消失,软骨内和软骨下骨髓均可见纤维组织,有些存在软组织不规则化生。关节盘胶原纤维玻璃样变性,滑膜增厚细胞成分增多(图 1~2)。注射 LDH 后 12 周:纤维软骨破坏严重,部分区域骨质暴露,髁突部分区域骨质变性,骨细胞消失,骨陷窝空虚,关节盘胶原纤维变性,断裂。



图 1 病变的关节结节表面软骨呈层状剥脱
(D组,8周,100倍)

Fig.1 Denudation in the cartilage of the eminence
(Group D, 8w, ×100)

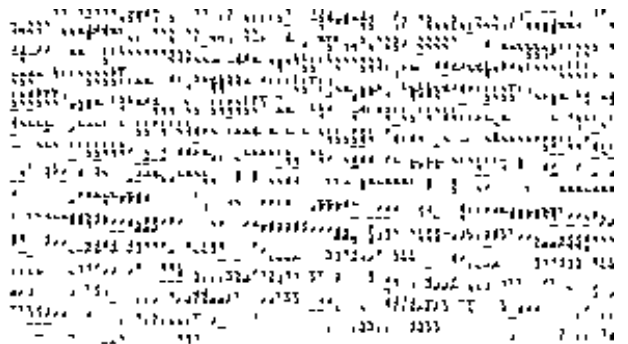


图 2 病变的关节滑膜破坏,可见关节腔内有渗出
(D组,8周,100倍)

Fig.2 Synovial membrane is destroyed, Exudation could be seen in the compartment (Group D, 8w, ×100)

扫描电镜下所见各时间段病理改变:注射 LDH 后 24 h,关节盘、关节结节及髁突表面未见明

显病理变化。注射 LDH 后 1 周, 关节各结构表面仍未见明显异常。注射 LDH 后 4 周, 关节盘上表面凝胶层变薄, 网状分布的胶原纤维暴露, 但波纹状结构尚在髁突表面, 亦可见网状的胶原纤维暴露, 凝胶层物质脱落。注射 LDH 后 8 周, 关节盘表面波纹变浅, 甚至消失, 局部凝胶层呈片状剥脱, 大量网状胶原纤维丝暴露, 部分区域可见粗大的纤维束暴露, 下腔面改变比上腔面明显, 髁突表面波纹变浅, 凝胶层剥脱, 网状胶原纤维丝暴露, 部分区域亦见到胶原纤维束暴露(图 3)。注射 LDH 后 12 周, 关节盘表面凝胶层剥脱严重呈片状卷起, 可见大量胶原纤维束卷起裸露。在髁突前斜面功能区, 波纹结构消失, 凝胶层变薄。大量胶原纤维丝暴露。

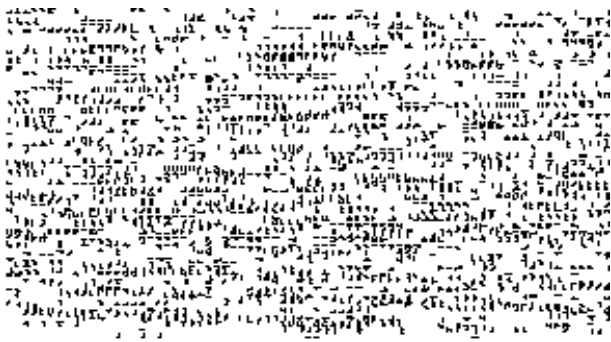


图 3 关节盘表面胶原纤维裸露(D组, 8周, 200倍)

Fig. 3 The collagen fibers are exposed on the surface of the articular disc (group D, 8w, $\times 200$)

3 讨论

3.1 TMJOA 乳酸脱氢酶动物模型及其评价

本实验采用兔 TMJ 关节腔内一次性注射乳酸脱氢酶的方法, 诱导兔 TMJ 出现呈进行性发展的骨关节损害, 所有实验组动物均于注射后 4 周出现特征性骨关节病病损, 并随时间推移而加重, 说明该方法具有良好的可重复性及一致性。

本实验采用组织病理学, 扫描电镜等观察方法, 所见各时间段关节软骨关节盘病变与其他作者采用如肿瘤坏死因子(TNF)、牙合创伤等方法引起的关节损害相似^[2,5,8,9], 说明本方法具有良好的可比性, 基本符合动物模型的基本要求。本实验未观察到关节盘穿孔现象, 说明采用现 LDH 浓度和 3 个月的观察期, 关节病变处于早、中期, 所建立的动物

模型可用于早、中期关节病变的研究。

3.2 TMJOA 的发病机制及动物模型

TMJOA 的发病机制目前尚无统一的认识。乳酸脱氢酶是在缺氧情况下, 将丙酮酸还原成乳酸完成糖酵解的催化酶。在 TMJ 这个相对缺氧的环境中, 过量的乳酸脱氢酶存在, 干扰了 TMJ 内正常的能量代谢过程, 从而使关节内组织的新陈代谢发生异常改变。生成的过多的乳酸导致局部酸性环境亦可直接损害关节的正常结构, 造成进行性加重的 TMJOA 病损^[6,7,10]。

本实验表明, 兔 TMJOA 乳酸脱氢酶诱导方法简便易行, 病变典型, 过程清楚, 兔及乳酸脱氢酶均容易获得, 价格适宜, 是较为理想的动物模型。

参 考 文 献

- 1 谷志远综述. 颞下颌关节疾病时的滑液的变化. 国外医学口腔医学分册, 1993, 20(5): 274
- 2 谷志远, 曹云强, 吴求亮. 肿瘤坏死因子对颞下颌关节的作用. 中华口腔医学杂志, 1994, 29(3): 137
- 3 傅开元, 马绪臣, 张震康. 牙合创伤对兔颞下颌关节影响的扫描电镜观察. 中华口腔医学杂志, 1995, 30(5): 277
- 4 林艳丰, 石南群综述. 颞下颌关节髁突骨上组织的透射电镜与扫描电镜研究近况. 中华口腔医学杂志, 1994, 29(4): 249
- 5 胡波, 王大章. 颞下颌关节骨关节病动物模型的建立. 中华口腔医学杂志, 1995, 30(6): 370
- 6 辛涛主编. 生物化学与临床医学. 北京: 世界图书出版公司, 1991. 50~51
- 7 梁去彦主编. 生理生化(上册). 上海: 上海科学技术出版社, 1983. 235
- 8 Ali A M, Sharawy M, Odell N L, *et al*. Morphological alterations in the elastic fibers of the rabbit craniomandibular joint following experimentally induced anterior disc displacement. *Acta Anat*, 1993, 147: 159
- 9 Savalle W P, Weijs W A, James J, *et al*. Elastic and collagenous fibers in the temporomandibular joint capsule of the rabbit and their functional relevance. *Anat Rec*, 1990, 277: 159
- 10 Mills D K, Sommers K, Daniel J C, *et al*. Characterization of extracellular matrix changes in human disc derangement. *J Dent Res*, 1994, 73: 170

(1998-02-27 收稿 1998-04-20 修回)