

心理应激对大鼠颞下颌关节组织结构的影响

肖朋¹, 张丽², 侯敏³, 刘海霞

1. 新疆医科大学第二附属医院口腔科, 乌鲁木齐 830028
2. 新疆医科大学基础医学院组织胚胎学教研室, 乌鲁木齐 830000
3. 新疆医科大学基础医学院免疫学教研室, 乌鲁木齐 830000

摘要 通过观察处于心理应激状态的大鼠颞下颌关节组织结构的变化, 探讨心理应激对大鼠颞下颌关节组织结构的影响。将 48 只成年 Wistar 雄性大鼠随机分为实验组和空白对照组, 其中实验组 36 只, 空白对照组 12 只。对实验组施加电击、制动、气候箱、食物诱惑等刺激, 使实验组大鼠处于心理应激状态。将实验组分别于 3 周、6 周和刺激去除后 6 周时间点各处死 12 只; 对照组 12 只同实验组最后一批一起处死。取颞下颌关节制作病理切片, 光镜下分别观察关节盘、关节软骨、关节骨质和滑膜的病理变化。结果显示, 实验组出现一些关节软骨变薄、胶原纤维脱落、关节盘裂隙等病变, 其中 6 周组病变最为严重, 恢复组出现修复性改变。各组间病变总体变化有差异, $P < 0.01$ 。其中, 实验 3 周组、实验 6 周组与对照组之间病变有差异, 实验 6 周组与恢复组之间病变有差异, $P < 0.05$; 其余组与组之间差异无统计学意义, $P > 0.05$ 。由此推测, 长时间心理应激状态对大鼠的颞下颌关节组织结构有影响。应激状态去除后, 其颞下颌关节的病理性改变有所恢复。

关键词 心理应激; 大鼠; 颞下颌关节

中图分类号 R780.2

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)10-0032-05

Influence of Psychological Stress to the Tissue Structure of the Temporomandibular Joint in Rat

XIAO Peng¹, ZHANG Li², HOU Min³, LIU Haixia

1. Department of Stomatology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830028, China
2. Histology and Embryology Research and Teaching Department, Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China
3. Immunology Research and Teaching Department, Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

Abstract To study the influence of psychological stress on the tissue structure of the temporomandibular joint, the variation of the tissue structure of the temporomandibular joint was observed under psychological stress in rat. Thirty-six Wistar male adult rats were subjected to the following stimulating factors: electroshock, movement constraint, climate change and food tempting, in order to let them under psychological stress (the experimental group). Twelve rats were not subjected to any stimulating actions (the normal control group). Then the rats of the experimental group were executed at three weeks, six weeks and six weeks after ceasing stimulation, each with twelve rats. The control group rats were executed at the same time as the last batch of the experimental group. The change of tissue in temporomandibular joint was observed with microscope. The results show that the collagen was exposed and broken in TMJ disc and condyle, especially in rats of the sixth week group. In the recovered group, the condylar cartilage was seen to start to recover. The change of TMJ in each group sees significant difference as a whole, $P < 0.01$. The third week group and the control group, the sixth week group and the control group, the sixth week group and the resumed group were shown to be statistically significantly different, respectively, $P < 0.05$. The others were not statistically significantly different, $P > 0.05$. It is concluded that long time psychological stress can lead to injuries of temporomandibular joint; while these injuries can be recovered by removing the psychological stress.

Keywords psychological stress; rat; temporomandibular joint

收稿日期: 2009-12-23

作者简介: 肖朋, 硕士研究生, 研究方向为口腔修复学, 电子信箱: xiaopeng4447@sina.com; 刘海霞 (通信作者), 副教授, 研究方向为颞下颌关节紊乱病的修复治疗, 电子信箱: hulgg@163.com

0 引言

颞下颌关节紊乱病 (Temporomandibular Disorders, TMD) 是口腔颌面部的一种常见病,但其病因至今不明,危险因素涉及咬合因素、精神心理因素、免疫因素、解剖因素等多方面^[1]。目前,随着医学模式由单纯的生物医学模式向生物-心理-社会医学模式的转变,精神心理因素的作用日益受到关注。国内外在 TMD 精神心理方面的研究较少,吴高义等^[2]报道在单一情感交流箱刺激后大鼠颞下颌关节系统的某些结构发生了变化。考虑到此刺激方式单一,与人类所面对的复杂社会环境刺激可比性较差,本研究在刺激方法上加以改进,采用多种应激源综合刺激,以便更好地模拟人在日常生活中遇到的应激事件^[3],探讨这种综合刺激所致大鼠心理应激状态下颞下颌关节特定组织结构的变化,以求带来更好的临床指导意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物

48 只成年雄性 Wistar 大鼠,体重 $170 \pm 10\text{g}$,清洁级,动物及饲料均由新疆医科大学实验动物中心提供。

1.2 动物分组和处理

将 48 只大鼠随机分为实验组和空白对照组,实验组 36 只(按刺激时间和处死时间点又分成 3 周组、6 周组和刺激去除后 6 周组(12 周时),即恢复组。每组 12 只);空白对照组 12 只。实验组中,3 周组刺激 3 周后处死;6 周组刺激 6 周后处死;恢复组先刺激 6 周,然后去除刺激,正常环境再饲养 6 周后处死;对照组与恢复组一同处死。采用乙醚麻醉下颈椎脱臼处死方法。

1.3 模型建立与方法

对实验组给予足底电击、制动、气候箱、食物诱惑刺激。电击刺激时间 20~40min,间隔刺激,通电 10s,间隔 30s,电压 40V(电刺激仪由冀星实验仪器有限公司制造);制动(自制铁桶)刺激时间 40~60min;气候箱(上海精宏实验设备有限公司制造,温度为 6°C 、 36°C 交替,每 3h 交替 1 次;伴风机转动噪音,100dB;灯光明暗交替,每 1h 交替 1 次),刺激时间 12h;食物诱惑(食物装进敞口矿泉水瓶放于笼子上),刺激时间 16h。每天选取 2~3 种刺激方法,按照预定时间实施刺激。对照组不给任何刺激,正常饲养环境中饲养。刺激去除后的大鼠在与对照组相同环境中饲养 6 周。通过刺激各阶段大鼠体重变化情况和旷场实验评分对大鼠的精神状态进行评定。

旷场实验评分方法:大鼠放入长 $80\text{cm} \times 60\text{cm} \times 60\text{cm}$ 的大纸箱,箱底方格为 $5\text{cm} \times 5\text{cm}$ 。水平活动得分:大鼠跨越 1 格记为 1 分,如动物沿斜线行走,以每 5cm 为 1 分。垂直活动得分:即直立次数,以动物双足离开地面为标志,无论动物站立多长时间直至放下双足为 1 分。记录每只大鼠 5min 内的活动情况。

1.4 标本处理

处死大鼠后,即刻解剖,所取标本结构包括关节盘、髁状突和包绕髁状突颈部的部分关节囊。将标本固定、脱钙、包埋、

切片、HE 染色。切片时沿关节头矢状方向从髁突中 $1/3$ 切开,制作切片中包括关节盘、关节软骨、关节骨质、骨髓腔和关节囊髁颈部附着转折处内面滑膜。切片由病理科医师采用盲法阅片,判读记录结果。

1.5 大鼠关节结果评定方法

分别观察每个关节标本的关节盘、关节软骨、关节骨质和滑膜 4 种组织结构,无明显异常者记为“-”,其中一种结构有异常记为“+”,累及两种结构者记为“++”,以此类推。记录每只大鼠关节的病变等级,按组整理处理数据。

1.6 统计学分析

采用 SPSS15.0 统计软件进行统计学分析。大鼠体重及旷场实验评分采用 t 检验,大鼠颞下颌关节病理结果采用等级秩和检验,以 $P < 0.05$ 为显著性差异。

2 结果

2.1 动物观察

经过 3 周和 6 周的刺激后,实验组大鼠精神极度紧张,出现毛发竖立、乱跑乱钻、大小便增多、尖叫、上下牙齿打架、对峙等现象;饮食减少,体重增长速度减慢或负增长。其中 6 周组上述现象更明显。对照组大鼠正常饮食,体重增长较快。恢复组大鼠在刺激去除后行为逐渐转为正常,饮食活跃,体重增长加快,至处死时与对照组大鼠体型无明显差异。大鼠体重变化情况和旷场实验评分结果见表 1。

2.2 大体标本观察

大鼠的颞下颌关节由下颌髁状突、关节盘和髁突颈部附着的部分关节囊组成,偶有髁突颈部带少许肌肉组织,关节盘包绕覆盖髁状突头部。对照组关节盘表面有光泽,平整,髁状突左右基本对称。实验 3 周组发现 3 例标本关节盘表面光泽较差,1 例标本左右侧形态不对称;实验 6 周组发现 5 例标本关节盘表面失去光泽,3 例标本左右侧形态不对称,4 例标本关节盘中央有吸收凹陷,未见明显穿孔。恢复组发现 3 例标本关节盘表面失去光泽,2 例标本左右侧形态不对称。髁状突颈部包绕的部分关节囊未见明显异常。

2.3 光镜观察

对照组大鼠髁状突关节软骨平整连续,软骨细胞约 6~8 层;关节骨质内骨小梁排列整齐,骨髓腔无纤维化;关节盘内外侧面光滑,由纤维结缔组织组成;滑膜无水肿及炎细胞浸润;关节下腔腔隙大小适中,腔内无异物(图 1)。

实验 3 周组大鼠髁状突关节软骨表面局部粗糙,软骨细胞层变薄约 3~5 层;关节骨质内骨小梁中部分有骨细胞消失、骨陷窝空虚;滑膜水肿明显,部分有炎细胞浸润;关节盘内面粗糙,偶有裂隙,胶原纤维排列紊乱,关节下腔内见脱落断裂的胶原纤维(图 2~图 4)。

实验 6 周组大鼠关节组织结构变化与 3 周组相似,病变更加明显。部分出现整个髁状突软骨层严重变薄甚至消失,部分髁状突软骨出现裂隙,且裂隙内有肉芽组织出现;部分关节

疾病的实验研究。

此外,有人报道雌激素对颞下颌关节系统存在一定的影响^[11],本研究全部选用雄性大鼠,避免雌激素产生交叉影响。

机体在受到各种强烈因素刺激时,内外环境超出正常阈值,出现以交感神经兴奋和垂体-肾上腺皮质分泌增多为主的一系列神经内分泌反应以及免疫系统的应答反应,引起各种机能和代谢的改变^[12-13]。本实验大鼠颞下颌关节标本组织切片观察结果显示,大鼠在长时间的应激状态下机能代谢改变,特定的组织结构也发生了病理性改变。实验3周时,关节组织结构出现关节软骨变薄、滑膜炎性水肿、关节盘胶原纤维脱落等情况,病变程度相对较轻;实验6周时,关节组织结构的病理性改变加重,出现关节盘裂隙、关节软骨裂隙、关节骨质凹陷吸收、骨髓腔纤维化等类似骨关节病的器质性改变^[14];而恢复组大鼠关节组织结构的病理性改变又相对好转,滑膜炎性水肿减轻或消失,关节软骨层增厚,部分裂隙区出现肉芽组织,有损伤后修复迹象。此外对照组观察结果中有4例出现轻微滑膜炎性水肿、关节软骨变薄等情况。因TMD的自身危险因素较多,出现轻微滑膜炎可能与龋因素、免疫因素或自身关节炎症有关;关节软骨细胞层数减少可能与病理评判标准把握尺度或关节软骨发育不足有关。本实验采用光镜观察,对所观察标本中某种结构病变程度大小很难量化评定,这是实验的不足之处,希望今后随着研究的深入和实验条件的改善得到弥补。但是从现有的实验结果可以看出大鼠关节病变发展的趋势。大鼠在应激的强度和时间超过了颞下颌关节(Temporomandibular Joint, TMJ)自身代偿的能力时,应激就成为病理性负荷,影响TMJ的功能和代谢,直至损伤。在实验中,实验6周组关节总体病理性变化程度要大于实验3周组,但也发现有些裂隙区出现新生肉芽组织,存在损伤的修复,说明破坏与修复同时存在,在应激状态下破坏大于修复;而恢复组关节总体病理性变化程度好转,出现关节软骨的增厚和一些新生的滑膜细胞,关节盘裂隙区有肉芽组织修复痕迹,说明应激去除后,TMJ发挥自身代偿能力,修复占据主导地位。

4 结论

本实验中大鼠心理应激下表现为高度紧张、恐慌状态,而长时间处于这种状态下,大鼠的颞下颌关节组织结构发生了病理性变化,证实心理应激对大鼠颞下颌关节组织结构存在一定的影响。但心理应激影响颞下颌关节组织结构改变的作用机制还不明了,尚待进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] 谷志远. 颞下颌关节紊乱病病因学研究 [J]. 中国实用口腔科杂志, 2009, 2(3): 129-131.
Gu Zhiyuan. *Chinese Journal of Practical Stomatology*, 2009, 2(3): 129-131.
- [2] 吴高义, 陈永进, 陈磊, 等. 心理应激后大鼠颞下颌关节系统的病理性改变[J]. 实用口腔医学杂志, 2006, 22(6): 841-844.

- Wu Gaoyi, Chen Yongjin, Chen Lei, et al. *J Pract Stomatol*, 2006, 22(6): 841-844.
- [3] 程明, 朱熊兆. 心理应激的实验方法[J]. 国外医学精神病学分册, 2005, 32(1): 52-55.
Cheng Ming, Zhu Xiongzhao. *Section Psychiatry Foreign Med Sci*, 2005, 32(1): 52-55.
- [4] 董艳芳, 李坚. 侧脑室注射奋乃静、阿奇霉素对针刺在应激性高血压大鼠中降压作用的影响[J]. 中医药学报, 1998, 26(6): 47-48.
Dong Yanfen, Li Jian. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 1998, 26(6): 47-48.
- [5] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic mild unpredictable stress and its restoration by a tricyclic antidepressant[J]. *Psychopharmacology*, 1987, 93: 358-364.
- [6] 张红梅. 心理应激的实验研究进展及评述[J]. 中国医药学报, 2003, 18(增刊): 137-140.
Zhang Hongmei. *China Journal of traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2003, 18(suppl): 137-140.
- [7] 元晓丽, 林文娟. 焦虑和抑郁动物模型的研究方法和策略 [J]. 心理科学进展, 2005, 13(3): 327-332.
Qi Xiaoli, Lin Wenjuan. *Advances in Psychological Science*, 2005, 13(3): 327-332.
- [8] 尚海燕, 陈永进, 吴高义, 等. 情绪应激对大鼠咬肌超微结构的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2006, 16(4): 198-201.
Shang Haiyan, Chen Yongjin, Wu Gaoyi, et al. *Chinese Journal of Conservative Dentistry*, 2006, 16(4): 198-201.
- [9] 邓颖. 情绪应激动物模型的建立及评估 [J]. 华西医学, 2007, 22(4): 902-903.
Deng Ying. *West China Medical Journal*, 2007, 22(4): 902-903.
- [10] 梁军, 陈燕, 胡敏, 等. 慢性不可预知性应激刺激建立大鼠颞下颌关节紊乱病模型[J]. 实验动物科学, 2009, 26(1): 11-14.
Liang Jun, Chen Yan, Hu Min, et al. *Laboratory Animal Science*, 2009, 26(1): 11-14.
- [11] 宋春平, 汲平. 雌激素对颞下颌关节的影响[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2007, 8(4): 301-303.
Song Chunping, Ji Ping. *Chinese Journal of Prosthodontics*, 2007, 8(4): 301-303.
- [12] Mayer E A. The neurobiology of stress and gastrointestinal disease[J]. *Gut*, 2000, 47(6): 861-869.
- [13] Martínez-Augustín O, de Medina Sánchez F. Effect of psychogenic stress on Gastrointestinal function [J]. *J Physiol Biochem*, 2000, 56(3): 259-274.
- [14] 秦霞南, 龙星, 李金荣. 颞下颌关节骨关节炎临床病理研究 [J]. 口腔医学研究, 2005, 21(4): 440-442.
Qin Xianan, Long Xing, Li Jinrong. *Journal of Oral Science Research*, 2005, 21(4): 440-442.

(责任编辑 李慧政)

本期推理小游戏答案

对12个人和12个房间分别编号:1号队员在1号房间,2号队员在2号房间……把1号房间的钥匙放在2号房间,把2号房间的钥匙放在3号房间,以此类推,11号房间的钥匙放在12号房间,12号房间的钥匙放在1号房间。这样,回来的任何一个人,只要打开自己的房间就能拿到下一个房间的钥匙,用下一个房间内的钥匙打开下一个房间。这样任何一个人回来都能打开所有的房间了。