

УДК 531/534: [57+61]

КОЭФФИЦИЕНТ ГИДРАВЛИЧЕСКОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ДИСКА ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

В.М. Тверье, Ю.И. Няшин

Кафедра теоретической механики Пермского государственного технического университета, Россия, 614000, Пермь, Комсомольский проспект, 29, e-mail: nyashin@pstu.ru

Аннотация. Задача биомеханического моделирования диска височнонижнечелюстного сустава (ВНЧС) человека в теории пороупругости требует проведения экспериментов по определению материальных констант, особенно коэффициента проницаемости в законе Дарси. Для проведения эксперимента вычленялись диски ВНЧС свиней. из которых на криогенном микротоме изготавливались срезы толщиной от 0,15 до 0,6 мм. Полученные образцы помещались в установку, разработанную и изготовленную авторами данной статьи. Через образцы пропускался раствор Хенкса. Измерялась масса раствора, протекшего через образец за некоторый промежуток времени. Эти значения использовались для определения коэффициента проницаемости. Проведены гистологические исследования испытанных и контрольных образцов. Эксперимент показал, что 1) ткани и структура диска не повреждаются за время проведения опыта (до двух суток); 2) при толщине образца, равной 0,15 мм, вещество, (хондромукоид), связывающее волокна вымывается, И коэффициент проницаемости увеличивается на пять порядков; 3) величина коэффициента проницаемости больше соответствующего коэффициента для гиалинового хряща и меньше, чем у диска коленного сустава.

Ключевые слова: диск височно-нижнечелюстного сустава, эксперимент, коэффициент гидравлической проницаемости, гистологические исследования.

Введение

Биомеханика зубочелюстной системы человека существенно зависит от состояния височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) и структуры костной ткани, которые формируются под действием механической нагрузки. Поведение ВНЧС под нагрузкой во многом определяется состоянием межсуставного диска, представляющего собой сложную структуру коллагеновых волокон, насыщенную синовиальной жидкостью. Диск является в своей центральной части аваскулярным органом, и течение жидкости обеспечивает не только питание диска, но и трансформацию жевательных усилий. Поэтому задача биомеханического моделирования диска ставится на основе теории пороупругости, что требует проведения экспериментов по определению материальных констант, особенно коэффициента гидравлической проницаемости в законе Дарси.

Результаты биомеханического моделирования определяются во многом точностью экспериментального определения материальных констант. Если упругие константы для диска хорошо известны, то значение коэффициента гидравлической



проницаемости [11]

проницаемости для различного вида хрящей различаются значительно, причем в литературе часто используют значение коэффициента для диска коленного сустава [15].

Свойства диска ВНЧС значительно отличаются в связи с различиями в функции и морфологическом строении ВНЧС у кроликов [30, 31], собак [19], крыс [5, 29], овец [27] свиней [1, 7, 24]. ВНЧС этих животных отличают характерные И приспособительные особенности, и *только* сустав свиньи несет такую же нагрузку, как и ВНЧС человека [12]. Размеры структур свиного сустава подобны размерам ВНЧС человека, имеют аналогичную морфологию, что связано с типом питания свиней -Одним из немногих отличий в функциональной всеядностью. нагрузке в зубочелюстной системе человека является частота жевания: свинья жует несколько быстрее (частота 2,0-3,0 Гц), чем человек (частота 0,1-1,5 Гц). Поэтому, учитывая идентичность функции и морфологии ВНЧС человека и свиньи, в качестве объекта исследования выбран диск ВНЧС свиньи. Таким образом, благодаря почти полному морфологическому и функциональному соответствию с зубочелюстной системой человека, в качестве наиболее подходящего объекта экспериментальных исследований был выбран диск ВНЧС свиньи.

В настоящее время в литературе очень мало надежных данных о проницаемости диска [4, 13, 14, 17].

Очень часто определение коэффициента проницаемости носит непрямой характер. Для его определения используется модель двухфазного тела, в которой большую часть нагрузки принимает на себя интерстициальная жидкость диска [16, 22]. Более широко используется модель пороупругого тела [17], имеющая значительные преимущества в численном моделировании динамического поведения материала под нагрузкой [4], и материальные константы в которой легко определить из экспериментов на сжатие [15, 17, 21, 32].

Таким образом, необходим прямой эксперимент по определению проницаемости диска. Например, рассмотрим описание эксперимента по методике работы [11].

В данной работе брались три межпозвонковых диска из хвоста быка. Из них приготавливались 64 образца диаметром 10 мм и толщиной (683 ± 49) мкм. Схема установки для испытаний показана на рис. 1.

Образец покрывался эфиром целлюлозы для предотвращения возможной потери протеогликана. Поверх устанавливались пористые цилиндры из нержавеющей стали, пористость которых в четыре раза выше, чем у образца.

После определения толщины образца h при нагрузке 0,1 H в камеру подавалось различное давление и фиксировалась степень сжатия $\lambda = h/h_0$, где h_0 – начальная толщина образца. Затем камера заполнялась раствором Рингера под давлением 30,0 кПа, и после двух часов (для достижения стационарного состояния) вычислялась проницаемость по формуле

$$k = \frac{hv}{\Delta p},\tag{1}$$

где v = const - скорость течения. Эта формула полностью совпадает с формулой, использованной в наших исследованиях. Причем скорость определялась, по-видимому, по формуле

$$v = \frac{h}{t},\tag{2}$$

где t – время протекания. В результате был определен коэффициент k, причем

$$k = (1,22 \div 1,96) \ 10^{-15} \ \frac{M^4}{H \cdot c} \ . \tag{3}$$

В других работах это значение приводится для гиалинового хряща – самого плотного хряща, покрывающего суставные поверхности.

По данным работы [4], для диска величина коэффициент $k = 7,5 \cdot 10^{-15} \frac{M^4}{H \cdot c}$.

В нашей работе используется более точная для вычислений формула, в которой определяется масса протекшего через образец раствора.

Описание эксперимента

Для эксперимента использовался диск ВНЧС восьмимесячной свиньи. Время от забоя составляло шесть часов. Основные этапы подготовки образцов показаны на рис. 2.

На рис. 2, *а* показана часть головы свиньи, приготовленная для выделения диска ВНЧС. Выделенный диск показан на рис. 2, *б*. Из диска вырубался образец диаметром 15 мм (рис. 2, *в*). Полученная заготовка помещалась в криогенный микротом, где из нее вырезался образец толщиной в среднем 0,5 мм, показанный на рис. 2, *г*. Разработанное устройство для закрепления образцов представлено на рис. 3. Толщина образца измерялась микрометром между двумя предметными стеклами. Подготовленный образец помещался в разработанное устройство. Для создания давления жидкости собиралась напорная колонка (рис. 4), с помощью которой поддерживалось постоянное давление, соответствующее 1 м H_2O . В нижней части устройства располагалась созданная в работе насадка с образцом.

Через образец пропускался раствор Хенкса, используемый для поддержания жизнеспособности живых тканей. С помощью высокоточных весов (точность взвешивания – 0,01 г) измерялась масса прошедшей через образец жидкости за промежуток времени.

В результате измерений, проводившихся в течение шести часов для каждого образца, получены следующие осредненные данные: толщина образца l = 0,61 мм, диаметр отверстия в устройстве для фиксации образца d = 5,0 мм, постоянная высота столба раствора H = 1 м, плотность раствора Хенкса (pH = 6,98) $\rho = 1070$ кг / м³.



Рис. 2. Этапы подготовки образцов: *а* – голова свиньи, *б* – диск ВНЧС, *в* – вырубленная заготовка, *г* – образцы для эксперимента



Рис. 3. Разработанное устройство для фиксации образца:

1 – алюминиевый фиксатор; 2 – резиновые уплотнения, между которыми помещался образец; 3 – углубление для

образца и уплотнений



Рис. 4. Напорная колонка с образцом

За средний промежуток времени $\Delta t = 84$ мин через образец протекало в среднем $0,03 \cdot 10^{-3}$ кг жидкости.

Используя закон Дарси

$$\vec{V} = -k \, \vec{\nabla} p$$

и считая скорость протекания постоянной, получим массу *m* протекшей жидкости:

$$m = k \rho^2 S g \frac{H}{l} \Delta t ,$$

где *k* – коэффициент гидравлической проницаемости; *g* – ускорение свободного падения; *S* – площадь поперечного сечения образца.

После разборки устройства для фиксации было обнаружено, что образец в области протекания жидкости имел прогиб 3,1 мм по наружной поверхности.

В приближении шарового сегмента получим значение коэффициента проницаемости $5,86 \cdot 10^{-15} \text{ м}^2/(\Pi a \cdot c)$.

Была предпринята попытка поместить образец между танталовыми сетками с высокой гидравлической проницаемостью, но добиться прохождения жидкости не удалось из-за кристаллизации солей из раствора на сетке и образце.

Таким образом, избежать прогиба образца под статической нагрузкой не удалось.

Гистологические исследования

Гистология диска ВНЧС хорошо изучена [2, 3, 13, 18, 20, 28].

Височно-нижнечелюстной суставной диск представлен фиброзным (волокнистым) хрящом. Суставной диск расположен между двумя костными образованиями и делит всё внутрисуставное пространство на два этажа: верхний и нижний. Толщина и степень вогнутости диска варьируются как в сагиттальном, так и в медиолатеральном направлениях. Суставной диск не содержит кровеносных сосудов и нервов и представляет собой мобильную структуру, постоянно деформирующуюся под воздействием жевательной нагрузки. Матрикс фиброзного хряща образован толстыми коллагеновыми волокнами первого типа, ориентированными в основном параллельно друг другу. Их направление соответствует преимущественному направлению приложенной нагрузки. Между волокнами продольными рядами залегают хондроциты, расположенные поодиночке или образующие небольшие изогенные группы.

Поддержание всей структурной целостности матрикса хряща зависит целиком от этих клеток. Хондроциты синтезируют все биополимеры, из которых состоит матрикс – коллаген, протеогликаны, гликопротеины и т.д. Они контролируют также все катаболические реакции В хряще. Коллагеновые волокна погружены В макромолекулярные агрегаты (протеогликаны) – гигантские молекулы, секретируемые хондроцитами. Основная функция протеогликанов – связывание (структурирование) воды в хрящевом матриксе, что придает основному веществу хряща консистенцию геля, определяет плотность и упругость ткани, а также обеспечивает диффузию питательных веществ, минеральных солей и газов. Связанная вода может удаляться за пределы хряща в синовиальную жидкость и возвращаться в него обратно. Именно вода как несжимаемая субстанция обеспечивает достаточную жесткость хряща. Ее перемещение равномерно распределяет внешнюю нагрузку по всему хрящу, формируя механизм адаптации хрящевой ткани к внешним нагрузкам. На границе хряща при переходе в сухожилие между коллагеновыми пучками хрящевые клетки становятся более сдавленными и лежат столбиками, переходя в сухожильные клетки, расположенные в плотной оформленной волокнистой соединительной ткани сухожилия. В структуре сухожилия между коллагеновыми волокнами имеются прослойки рыхлой соединительной ткани (эндотеноний), в них присутствуют кровеносные сосуды и нервы (рис. 5).



Рис. 5. Сосуды эндотенония в сухожилии (увеличение 10×40): 1 – лимфатический сосуд, 2 – кровеносный сосуд



Рис. 6. Структура фиброзного хряща: 1 – хондроциты; 2 – отдельные волокна, 3 – некоторое утолщение (набухание) коллагеновых волокон

Рис. 7. Разрушение коллагеновой структуры: 1 – разволокнение коллагеновых пучков

Для оценки морфологического состояния ткани хряща испытуемый образец фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение трех суток и подвергали обработке общепринятым гистологическим способом:

- 1) промывка проточной водой (после формалиновой фиксации) 1 сутки;
- уплотнение материала путем проведения по спиртам возрастающей концентрации – 60, 70, 80, 90, 96, 100%. В каждом разведении спирта материал выдерживали 1 сутки;
- проведение заливки материала в легкоплавкий парафин с температурой плавления 52–54°С для получения тонких срезов. До заливки кусочки образцов пропитывали жидкостями, которые служат растворителями парафина (ксилол, хлороформ). Процесс заливки в парафин длился около 10 суток, до получения затвердевшего раствора;
- 4) приготовление микроскопических срезов на санном микротоме (толщина среза 0,5 мкм);
- 5) окрашивание срезов обзорным методом гематоксилин-эозином;

6) микроскопирование проводили на микроскопе *OLYMPUS* при инструментальных увеличениях 10×10, 10×20, 10×40, 10×100.

После проведенного эксперимента в структуре фиброзного хряща, при толщине среза 0,5–0,65 мм, отмечали некоторое утолщение (набухание) коллагеновых волокон 3 (рис. 6). Четко просматривался ход отдельных волокон 2, структура которых не нарушена (см. рис. 6). Вследствие связывания воды в структуре хондромукоида, пространство между волокнами местами было расширено. Хондроциты 1 отчетливо визуализировались, связь с волокнами сохранялась (см. рис. 6).

При исследовании образца толщиной 0,15 мм в структуре ткани хряща наблюдались выраженные деструктивные изменения (рис. 7). Разволокнение и отек ткани привели к нарушению коллагенового каркаса *1*, являющегося «скелетом» хряща (см. рис. 7). Вследствие этого хондроциты утратили связь с волокнами и были «выдавлены» за пределы хряща (см. рис. 7).

Можно предположить, что отсутствие мукоида способствовало увеличению пропускающей способности диска. При этом в периферической зоне (место фиксации образца) структурные изменения хряща не были столь ярко выражены. Наблюдались участки с жизнеспособными хондроцитами, лежащими цепочками вдоль коллагеновых волокон.

Таким образом, гистологические исследования показали, что во время длительного эксперимента деструктивных изменений в образце не наблюдалось.

Установлено, что для эксперимента выбрана оптимальная толщина образца. Также можно считать, что при истончении диска ВНЧС *in vivo*, описанного в медицинской литературе, биомеханической причиной дальнейшего развития его деградации вплоть до образования отверстия в нем является нагрузка в ВНЧС, приводящая к вымыванию хондромукоида синовиальной жидкостью и нарушению питания.

Основной задачей гистологической части нашего эксперимента являлось подтверждение отсутствия деструктивных изменений в тканях образцов во время длительного пропускания раствора (430 минут при комнатной температуре). Такие исследования в литературе не проводились. Отсутствие деструктивных изменений подтверждено экспериментально. Более того, экспериментально подтверждена правильность выбора толщины образца. Так, при толщине образца 0,15 мм и статическом давлении раствора в $1 \text{ M H}_2\text{O}$ наблюдалось полное вымывание хондроцитов и разрушение волокнистой структуры, что говорит о нежизнеспособности ткани диска.

Этот факт может служить объяснением развивающейся под биомеханическим давлением деструкции диска ВНЧС: уменьшение толщины диска из-за нарушения метаболизма (диабет) и развитие деструкции тканей под давлением в суставе, приводящем к образованию отверстия в диске.

Заключение

В результате экспериментального определения коэффициента гидравлической проницаемости диска ВНЧС показано:

1) ткани и структура диска не повреждаются за время проведения опыта (до двух суток);

2) при толщине образца, равной 0,15 мм, вещество, связывающее волокна (хондромукоид), вымывается, и коэффициент проницаемости увеличивается на пять порядков;

3) величина коэффициента проницаемости больше соответствующего коэффициента для гиалинового хряща и меньше, чем у диска коленного сустава.

Экспериментально определенное значение коэффициента гидравлической проницаемости будет использовано при биомеханическом моделировании поведения диска под нагрузкой.

Благодарности

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (№ 07-01-92168-НЦНИ_а).

Список литературы

- 1. Allen K.D., Athanasiou K.A. Viscoelastic characterization of the porcine temporomandibular joint disc under unconfined compression // J. Biomech. 2006. Vol. 39, No. 2. P. 312–322.
- Almarza A.J., Bean A.C., Baggett L.S., Athanasiou K.A. Biochemical analysis of the porcine temporomandibular joint disc // British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. – 2006. – No. 44. – P. 124–128.
- Almeida Luis Eduardo, Baioni Carla S., Martins Ana Paula C., Line Sérgio Roberto P., Noronha Lúcia, Trevilatto Paula C., de Lima Antonio Adilson S., Filho Marco Antonio de Oliveira, Ignácio Sérgio Aparecido. Histologic and histomorphometric analysis of posterior region of the human temporomandibular disc // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2008. – No. 105. – P. e6–e11.
- Beek M., Koolstra J.H., van Eijden. Human temporomandibular joint disc cartilage as a poroelastic material // Clinical Biomechanics. – 2003. – No. 18. – P. 69–76.
- 5. Byrd K.E. Opto-electronic analyses of masticatory mandibular movements and velocities in the rat // Arch. Oral Biol. 1988. Vol. 33, No. 3. P. 209–215.
- Chin L.P.Y., Aker F.D., Zarrinnia K. The viscoelastic properties of the human temporomandibular joint disc // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1996. – No. 54. – P. 315–318.
- Detamore M.S. Cell type and distribution in the porcine temporomandibular joint disc // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2006. – Vol. 64, No. 2. – P. 243–248.
- 8. Detamore M.S., Athanasiou K.A. Motivation, characterization, and strategy for tissue engineering the temporomandibular joint disc // Tissue Eng. 2003. Vol. 9, No. 6. P. 1065–1087.
- 9. Druzinsky R.E. The time allometry of mammalian chewing movements: chewing frequency scales with body mass in mammals // J. Theor. Biol. 1993. Vol. 160, No. 4. P. 427–440.
- Fithian D.C., Kelly M.A., Mow V.C. Material properties and structure-function relationships in the menisci // Clin. Orthop. Rel. Res. – 1990, No. 252. – P. 19–31.
- 11. Heneghan Paul, Riches Philip E. Determination of the strain-dependent hydraulic permeability of the compressed bovine nucleus pulposus // Journal of Biomechanics. 2008. Vol. 41. P. 903–906.
- 12. Herring S.W., Decker J.D., Liu Z.J., Ma T. Temporomandibular joint in miniature pigs: anatomy, cell replication, and relation to loading // Anat. Rec. 2002. Vol. 266, No. 3. P. 152–166.
- Lumpkins Sarah B., Pierre Nicolas, McFetridge Peter S. A mechanical evaluation of three decellularization methods in the design of a xenogeneic scaffold for tissue engineering the temporomandibular joint disc // Acta Biomaterialia. – 2008. – No. 4. – P. 808–816.
- 14. Mansour J.M., Mow V.C. The permeability of articular cartilage under compressive strain and at high pressures // J. Bone J. Surg. A. 1976. No. 58. P. 509–516.
- 15. Mow V.C., Holmes M.H, Lai W.M. Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review // J. Biomech. – 1984. – No. 17. – P. 377–394.
- 16. Mow V.C., Kuei S.C., Lai W.M., Armstrong C.G. Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression: Theory and experiments // J. Biomech. Eng. 1980. No. 102. P. 73–84.
- 17. Prendergast P.J., Van Driel W.D., Kuiper J.-H. A comparison of finite element codes for the solution of biphasic poroelastic problems // Proc. Inst. Mech. Eng. 1996. No. 210(H).– P. 131–136.
- Reynaud Boris, Quinn M. Anisotropic hydraulic permeability in compressed articular cartilage // Journal of Biomechanics. – 2006. – No. 39. – P. 131–137.
- 19. Scapino R.P. The third joint of the canine jaw // J. Morphol. 1965. No. 116. P. 23-50.
- 20. Sie´ssere Selma, Vitti Mathias, Semprini Marisa, Regalo Simone Cecı´lio Hallak, Iyomasa Mamie Mizusaki, Dias Fernando Jose´, Issa Joa˜o Paulo Mardegan, de Sousa Luiz Gustavo. Macroscopic and microscopic aspects of the temporomandibular joint related to its clinical implication // Micron. – 2008. – No. 39. – P. 852–858.
- 21. Simon B.R. Multiphasic poroelastic finite element models for soft tissue structures. // Appl. Mech. Rev. 1992. No. 45. P. 191–218.

- 22. Soltz M.A., Ateshian G.A. Experimental verification and theoretical prediction of cartilage interstitial fluid pressurization at an impermeable contact interface in confined compression // J. Biomech. 1998. No. 31. P. 927–934.
- 23. Tanaka E., Tanaka M., Miyawaki Y., Tanne K. Viscoelastic properties of canine temporomandibular joint disc in compressive load-relaxation // Arch. Oral. Biol. 1999. No. 44. P. 1021–1026.
- 24. Tanaka E. Dynamic compressive properties of porcine temporomandibular joint disc // Eur. J. Oral Sci. 2003. Vol. 111, No. 5. P. 434–439.
- 25. Tanne K., Tanaka E., Sakuda M. The elastic modulus of the temporomandibular joint disc from adult dogs // J. Dent. Res. 1991. No. 70. P. 1545–1548.
- 26. Teng S., Xu Y., Cheng M., Li Y. Biomechanical properties and collagen fiber orientation of temporomandibular joint discs in dogs: 2. Tensile mechanical properties of the discs // J. Craniomand. Disorders. – 1991. – No. 5. – P. 107–114.
- 27. Thomason J.J., Grovum L.E., Deswysen A.G., Bignell W.W. In vivo surface strain and stereology of the frontal and maxillary bones of sheep: implications for the structural design of the mammalian skull // Anat. Rec. 2001. Vol. 264, No. 4. P. 325–338.
- 28. Wang Mei-Qing, He Jian-Jun, Li Gang, Widmalm Sven E. The effect of physiological nonbalanced occlusion on the thickness of the temporomandibular joint disc: A pilot autopsy study // The Journal of Prosthetic Dentistry. 2008. Vol. 99, Issue 2. P .148–152.
- 29. Weijs W.A., Dantuma R.Electromyography and mechanics of mastication in the albino rat // J. Morphol. 1975. Vol. 146, No. 1. P. 1–33.
- 30. Weijs W.A., de Jongh H.J. Strain in mandibular alveolar bone during mastication in the rabbit // Arch. Oral Biol. 1977. Vol. 22, No. 12. P. 667–675.
- 31. Widmer C.G., English A.W., Carrasco D.I., Malick C.L. Modelling rabbit temporomandibular joint torques during a power stroke // Angle Orthod. 2002. Vol. 72, No. 4. P. 331–337.
- 32. Wu J.Z., Herzog W., Epstein M. Evaluation of the finite element software ABAQUS for biomechanical modelling of biphasic tissues // J. Biomech. 1998. Vol. 31. P. 165–169.

COEFFICIENT OF HYDRAULIC PERMEABILITY OF THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT DISK: EXPERIMENTAL DETERMINATION

V.M. Tverier, Y.I. Nyashin (Perm, Russia)

The problem of biomechanical modelling of the temporomandibular joint (TMJ) disk considered in the theory of poroelasticity demands to experimentally determine material properties of the disk, especially, the coefficient of hydraulic permeability in Darcy's law. The disks were taken out of the porcine TMJ and the sections with thickness from 0.15 to 0.6 mm were made on the cryogenic microtome. The obtained specimens are placed in the device designed and made by authors of this paper. Hanks's solution was passed through the specimens. The mass of the solution which has leaked through a specimen for a time interval was measured. These values were used for calculation of the permeability coefficient. Histological researches of tested and control specimens were carried out. Experiment has shown that 1) tissues and disk structure are not damaged during the experiment (about two days); 2) at the 0.15 mm thick test specimen, the material connecting the fibers (hondromucoid) is washed away and the permeability coefficient is increased by five orders; 3) the magnitude of the permeability coefficient for the TMJ disk is more than the coefficient for the hyaline cartilage and is less than for the knee joint disk.

Key words: tempomandibular joint disk, experiment, coefficient of hydraulic permeability, histological researches.

Получено 31 мая 2010