

Indução de artrite na articulação temporomandibular: aspectos histopatológicos em modelo animal

Induced arthritis in temporomandibular joint: histopathological aspects in animal model

Cláudia Borges Brasileiro*
Valbert Nascimento Cardoso**

Bianca Ruckert***
Tarcísio Passos Ribeiro de Campos****

Resumo

A articulação temporomandibular (ATM) é uma articulação sinovial que representa a junção da mandíbula com o crânio. A ATM, os músculos da mastigação e as estruturas associadas podem ser acometidos por um grupo de condições denominado "desordem temporomandibular" (DTM). O objetivo deste estudo foi avaliar os aspectos histológicos das desordens inflamatórias, empregando modelo animal, após indução de artrite na ATM de dez coelhos machos da raça Nova Zelândia. A artrite foi induzida na ATM esquerda de cada animal por meio de injeção intra-articular de ovalbumina; como controle, injetou-se solução salina na articulação contralateral. Os exames histopatológicos, realizados sete dias após a indução da artrite, revelaram a presença de infiltrado inflamatório misto, apresentando leucócitos mononucleares e polimorfonucleares na ATM tratada com ovalbumina; na ATM controle, observou-se ausência de infiltrado inflamatório. Os resultados deste estudo sugerem que é possível obter em coelhos um modelo experimental de inflamação na articulação temporomandibular (ATM).

Palavras-chave: artrite, articulação temporomandibular, aspectos histopatológicos.

Introdução

Desordem temporomandibular (DTM) é a denominação que abrange alterações clínicas que envolvem a articulação temporomandibular (ATM), a musculatura da mastigação e as estruturas anatômicas adjacentes (ABDUL-SALAM, KRYSHALSKYJ, WEINBERG, 2002). As desordens inflamatórias da ATM são classificadas de acordo com as estruturas envolvidas.

A sinovite (inflamação dos tecidos sinoviais) e a capsulite (inflamação dos ligamentos capsulares) geralmente são consideradas uma única desordem, pois os aspectos clínicos são muito semelhantes, tornando difícil o diagnóstico diferencial entre essas duas condições. As poliartrites representam um grupo de condições em que as superfícies articulares se tornam inflamadas. Algumas condições poliartríticas sistêmicas podem acometer a ATM, tais como artrite reumatóide, artrite

reumatóide juvenil, espondilite anquilosante, artrite psoriática e gota (OKESON, 1998). A artrite reumatóide é uma doença sistêmica destrutiva que envolve as pequenas articulações das extremidades e, com a progressão da doença, afeta as grandes articulações (ABBAS, LICHTMAN e POBER, 2003).

Estudos têm comprovado a alta incidência de comprometimento da ATM em pacientes com artrite reumatóide (LARHEIM, SMITH, ASPESTRAND, 1991; CHENITZ, 1992; BAYAR et al., 2002). Segundo Tominaga et al. (1999), 30% a 50% dos pacientes com artrite reumatóide apresentam algum sintoma na ATM. Os sinais e sintomas característicos são dor pré-auricular, dor de ouvido, dor de cabeça, movimentos mandibulares limitados ou assimétricos e ruídos da ATM (estalos, estouros, rangidos e crepitação) (OKESON, 1998). A erosão progressiva da cabeça do côndilo (com possível destruição completa) e irregularidades na região da eminência articular são

* Cirurgião-dentista; especialista em Radiologia Odontológica pela ABO/MG; mestre em Ciências e Técnicas Nucleares pela Escola de Engenharia/UFMG, Belo Horizonte/MG.

** Doutor em Ciências Nucleares pelo IPEN/USP; professor Adjunto da Faculdade de Farmácia/UFMG, Belo Horizonte/MG.

*** Graduada do curso de Farmácia/UFMG, Belo Horizonte/MG.

**** PhD em Robótica pela University of Illinois at Urban Champaign/EUA; professor Adjunto do Departamento de Engenharia Nuclear da Escola de Engenharia/UFMG, Belo Horizonte/MG.

Recebido: 21.12.2004 Aceito: 02.05.2005

sinais radiográficos freqüentemente observados nas ATMs de pacientes com artrite reumatóide, embora esses sinais e sintomas não sejam patognômicos (AL-MOBIREEK, DARWAZEH, HASSANIN, 2000; MELCHIORRE et al., 2003).

A escolha de coelhos como modelo de estudo para avaliação de processos inflamatórios que envolvem a ATM deu-se em virtude das semelhanças entre as características histológicas das articulações desses animais e as dos seres humanos, incluindo organização celular e matriz extracelular (TAVAKKOLI-JOU, MILLER, KAPILA, 1999). As diferenças notáveis estão relacionadas à anatomia macroscópica das articulações. Nos coelhos, há ausência da fossa mandibular, ou seja, a parede superior posterior da ATM não existe, e o côndilo apresenta uma pequena projeção posterior. Apesar dessas diferenças, os coelhos são modelos experimentais adequados para o estudo da ATM (KAPILA et al., 1995).

Materiais e método

Dez coelhos adultos, machos, da raça Nova Zelândia, foram utilizados neste estudo. Para a indução da artrite nos animais foi adotado o método descrito por Tominaga et al. (1999). O peso dos animais variou de 2,3 kg a 3,5 kg. Os animais foram sensibilizados por injeção intradérmica de 4 mg de ovalbumina (SIGMA) em 1 mL de adjuvante completo de Freund administrados em cinco sítios (0,2 mL cada). Após duas semanas foi aplicada uma dose de reforço utilizando a mesma concentração de ovalbumina descrita anteriormente. Cinco dias após o reforço, os animais foram testados para sensibilização, por injeção intradérmica de 100 µL de uma solução de ovalbumina (400 µg/mL) em solução salina.

Após a confirmação dos sinais associados a uma resposta imunológica, a artrite foi induzida unilateralmente na ATM esquerda por injeção intra-articular de 0,2 mL (20 mg/mL) de ovalbumina em solução salina (articulação-foco). Como controle, na articulação contralateral foi injetado 0,2 mL de solução salina (articulação-controle). Durante os procedimentos de indução da artrite, os animais foram anestesiados com xilasina (ROMPUN® - 20 mg/mL - 5 mg/kg de animal, intramuscular) associada a quetamina (DOPALEN® - 100 mg/mL - 40 mg/kg de animal, intramuscular). Para a injeção intra-articular de ovalbumina foi empregado o método descrito por Kapila et al. (1995). Após a remoção dos pêlos dos animais na região da ATM, a articulação foi localizada 5 a 10 mm posteriormente ao canto externo do olho. A mandíbula foi manipulada para fornecer o movimento do côndilo e assegurar a correta localização da articulação. A agulha foi inserida na direção pósterio-superior até encostar-se ao côndilo, passando através do disco articular.

Os animais foram sacrificados sete dias após a indução da artrite. A articulação-foco e a articulação-controle foram removidas e fixadas em formol 10% para posterior análise histopatológica. Após fixação por um período mínimo de 12 horas, o material coletado foi

submetido à descalcificação e incluído em parafina. Após a inclusão, foram realizados cortes de 5 µm de espessura e montados em lâmina de vidro. O material foi corado pela técnica de hematoxilina-eosina para visualização em microscópio óptico. O exame histopatológico foi realizado no Laboratório de Histopatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais. A realização deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFGM), conforme protocolo nº 033/03.

Resultados

A indução de artrite ficou constatada nos dez animais utilizados no experimento. As análises histopatológicas realizadas neste estudo evidenciaram a presença de infiltrado inflamatório nas articulações tratadas com ovalbumina e ausência de inflamação nas articulações tratadas com solução salina. Como exemplo, os exames histopatológicos do animal identificado como Coelho A, realizados sete dias após a indução da artrite, estão apresentados nas Fig. 1, 2, 3 e 4.



Figura 1 - Coelho A - Aspecto histológico da ATM-controle corado por HE. Aumento 100X. Fragmentos de tecido conjuntivo e tecido muscular com ausência de infiltrado inflamatório

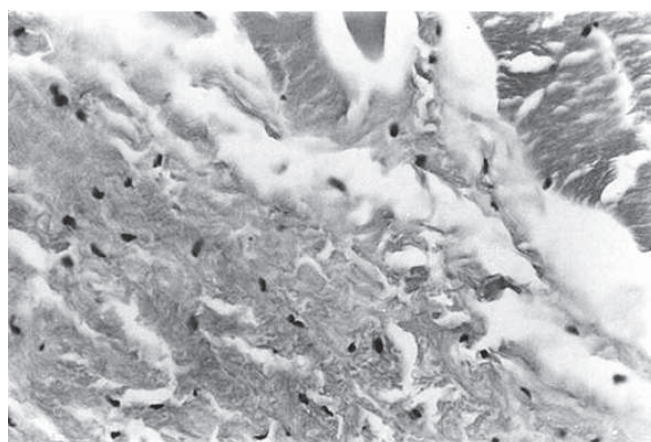


Figura 2 - Coelho A - Aspecto histológico da ATM-controle corado por HE. Aumento 400X. Fragmentos de tecido conjuntivo e tecido muscular. Observa-se ausência de infiltrado inflamatório

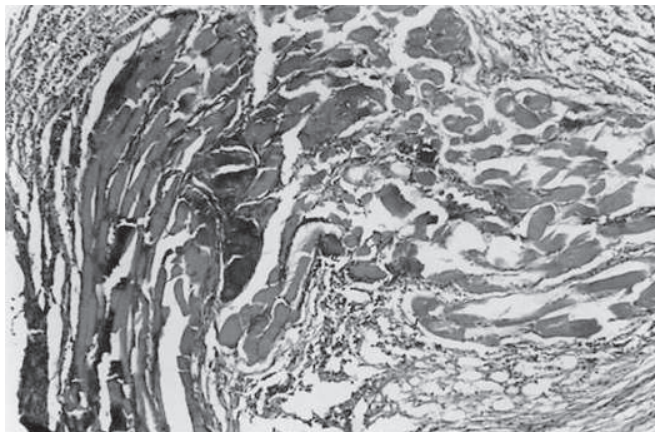


Figura 3 - Coelho A - Aspecto histológico da ATM-foco corado por HE. Aumento 100X. Presença de infiltrado inflamatório misto com macrófagos, linfócitos e neutrófilos no tecido conjuntivo permeando fibras musculares

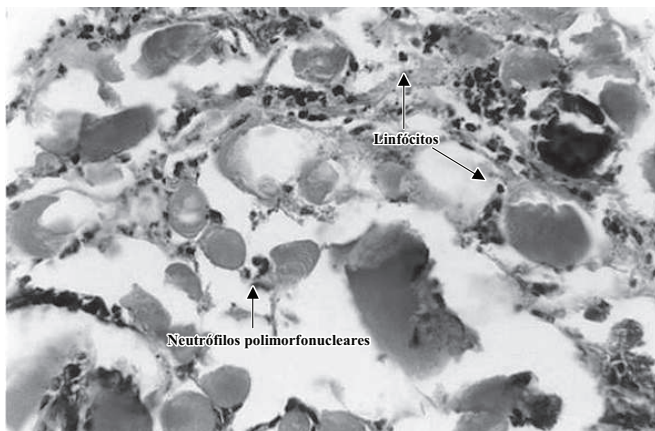


Figura 4 - Coelho A - Aspecto histológico da ATM-foco corado por HE. Aumento 400X. Fragmentos de tecido conjuntivo e muscular. Observa-se um infiltrado inflamatório misto com macrófagos, linfócitos e neutrófilos no tecido conjuntivo e fibras musculares

Os cortes histológicos da ATM contralateral, tratada com solução salina, exibem fragmentos de tecido conjuntivo e muscular e ausência de infiltrado inflamatório (Fig. 1 e 2). Nas Figuras 3 e 4 percebem-se fragmentos de tecido conjuntivo e de músculo na articulação-foco tratada com ovalbumina, permeados por um infiltrado inflamatório misto, com macrófagos, linfócitos e neutrófilos.

Discussão

Muitas informações sobre os mecanismos de inflamação nas articulações provêm de modelos animais, especialmente de modelos experimentais de artrite na articulação do joelho. Existem diferenças quanto à fisiopatologia da ATM e de outras articulações, em razão de suas diferenças anatômicas e histológicas (TOMINAGA et al., 1999). As superfícies articulares da ATM são revestidas por um tecido conjuntivo fibroso denso, sem cartilagem hialina. Sabe-se que o tecido conjuntivo fibroso tem maior capacidade de auto-reparação do que a cartilagem hialina (OKESON, 1998). Assim, modelos de estudos animais específicos e bem definidos são necessários para a investigação dos mecanismos das artrites na ATM (TOMINAGA et al., 1999).

Dumonde e Glynn (1961) desenvolveram o primeiro modelo animal de indução de artrite crônica. Baseados na premissa de que a artrite reumatóide é o resultado de uma reação auto-imune, os autores utilizaram suspensão de fibrina emulsificada em adjuvante completo de Freund para a imunização de coelhos. A fibrina age como um antígeno imunogênico. Após a confirmação da sensibilização, a artrite reumatóide foi induzida através da injeção intra-articular de suspensão de fibrina. Zamma (1983) desenvolveu o primeiro modelo de indução de artrite na ATM, imunizando ratos Lewis, Wistar e Sprague-Dawley através da injeção de Mycobacterium no couro cabeludo dos animais, na região do osso parietal. Somente os ratos Lewis desenvolveram artrite na ATM, confirmada histologicamente em 30 a 60% dos animais imunizados com 0,5 mg e 1 mg de Mycobacterium, respectivamente.

Kapila et al. (1995) desenvolveram um método de indução de artrite através da administração intra-articular de ovalbumina em coelhos, previamente sensibilizados por meio da injeção intradérmica de ovalbumina emulsificada em adjuvante completo de Freund, no dorso dos animais. Após duas semanas, uma dose de reforço foi aplicada. Todos os animais apresentaram sinais histológicos de artrite, embora tenha sido observada uma substancial variabilidade individual na resposta ao antígeno.

Os resultados obtidos neste trabalho não mostraram, nos coelhos estudados, sinais clínicos evidentes de inflamação, tais como eritema e edema após a indução do foco inflamatório na região da ATM. Esses resultados estão de acordo com aqueles descritos por Zamma et al. (1983) e Kapila et al. (1995). Entretanto, resultados obtidos por Tominaga et al. (1999) relataram a presença de edema e aumento de temperatura na região da ATM inflamada após a indução da artrite na ATM de coelhos. O edema associado à inflamação é menos evidente na ATM do que na articulação do joelho, pois o exsudato inflamatório pode ser distribuído pelos espaços anatômicos anterior, posterior e medial da ATM, diminuindo a tumefação (KAPILA et al., 1995). Os estudos de Jones et al. (1991) sugerem que a avaliação clínica é um método impreciso para verificação da extensão do envolvimento das articulações em processos artríticos.

Nas artrites induzidas por ovalbumina, as alterações características de inflamação são detectadas cinco dias após a indução e persistem por cinquenta dias com gradual declínio da severidade da inflamação (HENDERSON, PETTIPHER, MURPHY, 1990; KAPILA et al., 1995). Segundo Habu et al. (2002), células inflamatórias, predominantemente leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, em menor número, podem ser observadas seis horas após a injeção intra-articular de ovalbumina. Os exames histopatológicos realizados neste estudo sete dias após a indução do processo inflamatório revelaram a presença de infiltrado inflamatório misto, apresentando leucócitos mononucleares e polimorfonucleares.

Conclusões

Os resultados deste trabalho sugerem que este modelo experimental de artrite em coelhos poderá ser utilizado como instrumento no estudo dos processos inflamatórios da ATM.

Abstract

Temporomandibular joint (TMJ) is a synovial joint that represents the junction of mandible with skull. TMJ and mastication muscles are affected by temporomandibular disorders (TMDs). Patients with TMDs may suffer a large number of symptoms: muscle and TMJ pain, headaches, diffuse or facial jaw pain, temporomandibular sounds. The aim of this study was to investigate the arthritis model in rabbit's TMJ. Ten adult male New Zealand White rabbits were included in the study. Arthritis was unilaterally induced with an intra-articular injection of ovalbumin in the left TMJ. On the contra-lateral side, the same dose of saline was injected. Histopathological sections showed an infiltrated of inflammatory mononuclear and polymorphs cells in arthritic TMJ. On the contra-lateral side, there was absence of inflammatory cell infiltration. In conclusion, this study shows that it is possible to obtain an arthritis model in rabbit's TMJ.

Key words: arthritis, temporomandibular joint, histopathological aspects.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio financeiro da Fapemig e Capes e à Fundação Ezequiel Dias.

Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J.S. *Imunologia celular e molecular*. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003.
- ABD-UL-SALAM, H.; KRYSHALSKYJ, B.; WEINBERG, S. temporomandibular joint arthroscopic findings in patients with cervical flexion-extension injury (Whiplash): a preliminary study of 30 patients. *J Can Dent Assoc*, v. 68, p. 693-696, 2002.
- AL-MOBIREEK, A. F.; DARWAZEH, A. M. G.; HASSANIN, M. B. Experimental induction of rheumatoid arthritis in temporomandibular joint of the guinea pig: a clinical and radiography study. *Dentomaxillofac Radiol*, v. 29, p. 286-290, 2000.
- BAYAR, N. et al. Temporomandibular joint involvement in rheumatoid arthritis: a radiological and clinical study. *Cranio*, v. 20, p. 105-110, 2002.
- CHENITZ, J. E. Rheumatoid arthritis and its implications in temporomandibular disorders. *Cranio*, v. 10, p. 59-69, 1992.
- DUMONDE, D. C.; GLYNN, L. E. The production of arthritis in rabbits by an immunological reaction to fibrin. *Br J Exp Pathol*, v. XLIII, p. 373-383, 1961.
- HABU, M. et al. Immunohistochemical study of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist in an antigen-induced arthritis of the rabbit temporomandibular joint. *J Oral Pathol Med*, v. 31, p. 45-54, 2002.
- HENDERSON, B.; PETTIPHER, E.R.; MURPHY, G. Metalloproteinases and cartilage proteoglycan depletion in chronic arthritis. Comparison of antigen-induced and polyclonal-induced arthritis. *Arth Rheum*, v. 33, p. 241-246, 1990.
- JONES, A. K. P. et al. In vivo leukocyte migration in arthritis. *Arth and Rheum*, v. 34, n. 3, p. 270-275, 1991.

KAPILA, S. et al. Development and histologic characterization of an animal model of antigen-induced arthritis of the juvenile rabbit temporomandibular joint. *J Dent Res*, v. 74, p. 1870-1879, 1995.

LARHEIM, L.A.; SMITH, H.J.; ASPES-TRAND, F. Rheumatic disease of temporomandibular joint with development of anterior disk displacement as revealed by magnetic resonance imaging. A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 71, p. 246-249, 1991.

MELCHIORRE, D. et al. A comparison of ultrasonography and magnetic resonance imaging in the evaluation of temporomandibular joint involvement in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Rheumatol*, v. 42, p. 673-676, 2003.

OKESON, J.P. Dor orofacial. *Guia de avaliação, diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Quintessence, 1998.

TAVAKKOLI-JOU, M.; MILLER, A.J.; KAPILA, S. Mandibulofacial adaptations in a juvenile animal model of temporomandibular joint arthritis. *J Dent Res*, v. 78, p. 1426-1435, 1999.

TOMINAGA, K. et al. Clinical course of an antigen-induced arthritis model in the rabbit temporomandibular joint. *J Oral Pathol Med*, v. 28, p. 268-273, 1999.

ZAMMA, T. Adjuvant-induced arthritis in the temporomandibular joint of rats. *Infect Immun*, v. 39, p. 1291-1299, 1983.

Endereço para correspondência

Cláudia Borges Brasileiro
Ciências e Técnicas Nucleares - Campus
Pampulha / Prédio PCA 1 - Anexo Engenharia -
Av. Antônio Carlos, 6627
31270-90 - BELO HORIZONTE - MG
Fone: (31) 34996691 - Fax: (31) 34996660
e-mail: claudiabb.prof@newtonpaiva.br
campos@nuclear.ufmg.br