

# **PURENTARASITUKSEN VAIKUTUS RUSTOSOLUN MUOTOON**

Hammaslääketieteen koulutusohjelma

Kiiski Henri  
Syventävien opintojen tutkielma  
Hammaslääketieteen laitos  
Oulun yliopisto  
Marraskuu 2015  
Professori Pertti Pirttiniemi

## TIIVISTELMÄ

Kiiski Henri: Purentarasituksen vaikutus rustosolun muotoon  
Syventävien opintojen tutkielma: 18 sivua

---

Leukanivel on elimistössä ainutlaatuinen nivel. Välilevy jakaa leukanivelen ylempään ja alempaan nivelvälitilaan, jotka toimivat ikään kuin omina itsenäisinä nivelinä. Ylemmällä pinnalla tapahtuu liukuvaa liikettä ja alemmalla pinnalla puolestaan saranaliikettä. Muista nivelistä poiketen kondyylin nivelpinta ei koostu hyaliinirustosta, vaan tiheästä säikeisestä sidekudoksesta, syyrustosta. Kondyylin rusto toimii paitsi nivelpintana, myös alaleukaluun kasvukeskuksena. Rustosolut syntyvät esiastesoluista, jotka jakauduttuaan ja kypsyttyään alkavat tuottaa ekstrasellulaarimatriksia. Viimein kondrosyytit mineralisoituvat kalsifikaatiovyöhykkeellä ja kuolevat. Osteoklastien esiasteet täyttävät niiden tilan, ja hajottavat solun ulkoisen matriksin ja muodostavat tilalle luuta.

Monet seikat vaikuttavat kondyyiliruston solujen erilaistumiseen ja kypsymiseen ja tätä kautta myös kondyylin ja koko alaleuan kasvuun ja purennan kehitykseen. Tutkielmani tarkoituksena on tutkia purentarasituksen vaikutusta kondyylin rustosolujen muotoon ja sitä kautta niiden muodostaman ekstrasellulaarimatriksin koostumukseen.

Aineistoni on Oulun koe-eläinkeskuksessa kasvatettu rottapopulaatio, jotka jaettiin koe- ja kontrolliryhmiin ravinnon kovuuden sekä sukupuolen ja kokeen keston mukaan. Koeryhmän rotat joutuivat näkemään enemmän vaivaa ravintonsa eteen, mikä johti lisääntyneeseen kondyyiliruston rasitukseen. Kondyyleistä valmistettiin leikkeet, jotka valokuvattiin ja solujen muotoa analysoitiin.

Tutkimuksessa saatiin viitteitä purentarasituksen vaikutuksesta rustosoluihin. Muissa paitsi yhdessä koeryhmässä purentarasitus sai aikaan litteämpiä rustosoluja hypoteesin mukaisesti. Mekanismit ovat kuitenkin hyvin monimutkaisia ja tyhjentävän mallin muodostaminen on hyvin vaikeaa. Lisätutkimukset ovat tarpeellisia, jotta malleja voidaan tarkentaa.

Avainsanat: kondyyli, kondyyilirusto, leukanivel, purentarasitus, solumuoto

## Sisällysluettelo

1. JOHDANTO.....	1
2. TUTKIMUKSEN TEOREETTINEN TAUSTA.....	2
2.1. Kondyyliiruston rakenne.....	2
2.2. Rasituksen vaikutus kondyyliirustoon.....	3
2.2.1. Solujen maturaatio ja ekstrasellulaarimatriksi.....	4
2.2.2. Estrogeeni.....	4
2.2.3. Kondyylin luu.....	5
2.2.4. Matriksimetallproteiinaasit.....	5
2.2.5. Geenitaso.....	6
3. TUTKIMUSOSUUS.....	7
3.1. Tutkimusongelmat.....	7
3.2. Aineisto.....	7
3.3. Tulokset.....	10
3.4. Pohdinta.....	12
4. Lähteet.....	14

## 1. JOHDANTO

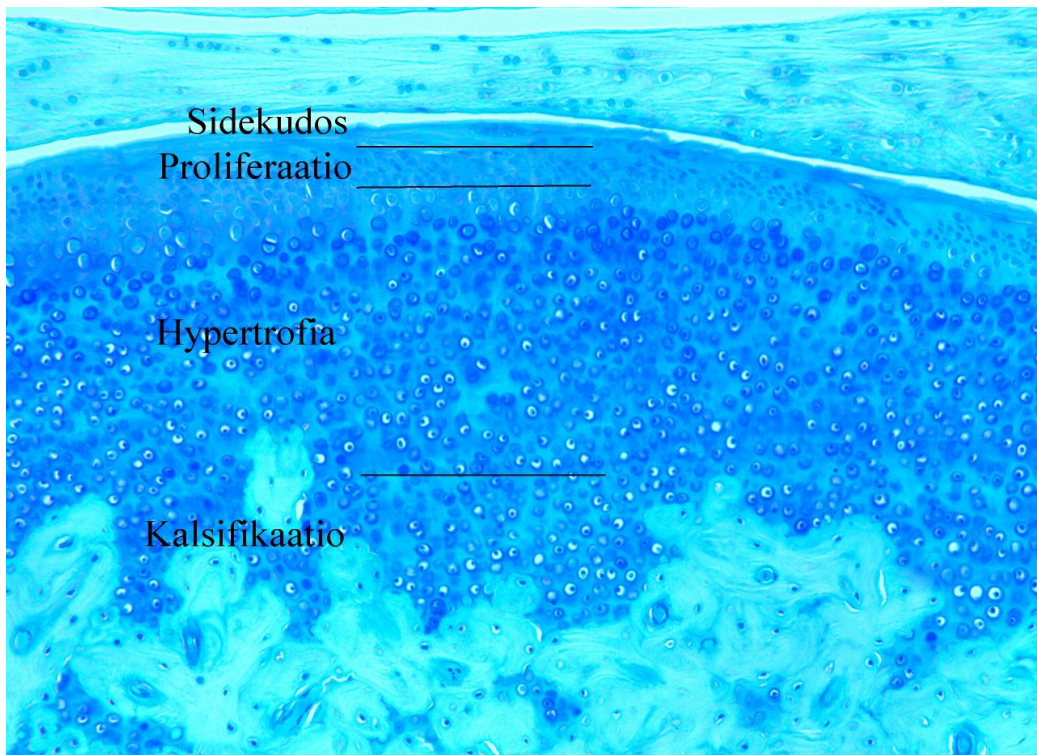
Synoviaalinivelet mahdollistavat luiden liikkumisen suhteessa toisiinsa lihaksien avulla. Lisäksi ne toimivat kasvukeskuksina. Nivelet muodostuvat luista, niitä peittävästä rustoisesta nivelpinnasta, nivelnesteestä täyttämästä nivelvälitilasta sekä stabiloivista ligamenteista, jänteistä ja muusta pehmytkudoksesta. Purentaelimistöissä alaleuka liikkuu suhteessa kalloon leukanivelien ja puremalihasten mahdollistamana. Leukanivel on elimistöissä ainutlaatuinen nivel. Leukanivel koostuu temporaalifossasta, alaleuan kondyylistä sekä näiden välissä olevasta rustoisesta nivelvälilevystä. Nivelvälilevy on ns. kaksoiskonkaavi eli se on keskeltä ohuempi kuin laidoiltaan. Tämä saa välilevyn hakeutumaan luonnostaan nivelpintojen väliin. Kondyylin ja temporaalifossan nivelpinnat eivät ole kovin yhteneväisiä. Välilevy jakaa tasaisemmin niiden välillä esiintyviä voimia. Välilevy jakaa leukanivelen ylempään ja alempaan nivelvälitilaan, joissa on liukastavaa synoviaalimestettä. Välilevy kiinnittyy löysästi nivelkapselin välityksellä sekä ohimoluuhun että alaleuan kondyyliin. Välilevy kiinnittyy myös mesiaalisesti ulomman siipilihaksen yläosaan ja distaalisesti ligamenteilla. Niveltä stabiloivat temporomandibulaariligamentti. Leukanivel eroaa muista kehon nivelistä myös toiminnaltaan. Leukanivelessä tapahtuu sekä saranaliikettä että liukuvaa liikettä. Anterio-posteriorinen liukuva liike tapahtuu välilevyn ja temporaalifossan välillä; saranaliike tapahtuu pääosin välilevyn ja kondyylin välillä. Kondyylin ja välilevyn liukuessa eteenpäin artikulaarista eminenssiä pitkin, alaleuka siirtyy myös alaspäin, mikä mahdollistaa huomattavasti suuremman avausliikkeen. (Kuroda ym. 2009.) Kasvuruston on todettu olevan hyvin adaptiivinen ulkoisille ärsykeille ja fyysinen rasitus muokkaa sen toimintaa monin eri mekanismein. Tutkielmassani perehdyn kirjallisuuteen näistä mekanismeista ja tutkin purentarasituksen vaikutusta kondyylin rustosolujen muotoon ja edelleen niiden muodostaman ekstrasellulaarimatriksin koostumukseen.

## 2. TUTKIMUKSEN TEOREETTINEN TAUSTA

### 2.1. Kondyyliiruston rakenne

Muista nivelistä poiketen kondyylin nivelpinta ei koostu hyaliinirustosta, vaan tiheästä säikeisestä sidekudoksesta, pääosin tyypin I kollageenista. Sidekudoksen alla sijaitseva proliferatiivinen kerros koostuu jakautuvista mesenkymaalisista esiastesoluista ja se toimii reaktiivisena solureservinä kondyylin kasvulle. Alemmaksi mentäessä esiastesolut vähitellen erilaistuvat ja kypsyvät kondrosyyteiksi ja lopulta hypertrofioituvat. Kondyylin syyrusto muodostuu kondrosyyteistä ja niiden tuottamasta ekstrasellulaarimatriksista. (Kuroda ym. 2009) Viimein kondrosyytit mineralisoituvat kalsifikaatiovyöhykkeellä ja lopulta kuolevat (kuva 1). Niiden tilan täyttää osteoklastien prekursorisolut, jotka hajottavat solun ulkoisen matriksin ja muodostavat tilalle luuta. Leukaluu kasvaa näin kondyyliosastaan luutumalla rustoisen mallin kautta.

**Kuva 1.** Kondyyliiruston kerrokset



Kudoksen vetolujuudesta vastaavat pääosin ekstrasellulaarimatriksin kollageenin eri tyypit. Kollageenit ovat tukikudoksen pääasiallinen rakenneproteiini. Ne koostuvat kolmen pitkän aminohappoketjun muodostamasta helixistä. Pienten rakenteellisten erojen perusteella ne jaetaan eri tyyppihin. Säikeiset tyypit I-III, IV ja XI eroavat toistaan lähinnä ketjujen erilaisella järjestäytymisellä. Lisäksi on säikeitä muodostamattomia kollageeneja, joista tyyppi X on aiemmin mainittuja noin puolet lyhyempi. Se on spesifi kehittyvälle luustolle. Kondyyliissä tyyppi I on vallitseva lähellä nivelpintaa, ja se erottaa kondyyliiruston elimistön muista nivelistä. Lisäksi siellä on havaittu III tyyppiä. Tyyppi II, hyaliinirustossa yleisimmin esiintyvä kollageenityyppi, puolestaan on vallitseva tyyppi proliferaatiokerroksen alapuolella; sitä erittävät lähinnä kypsät ja hypertrofioidut kondrosyytit. Tyyppi X lisääntyy kalsifikaatiokerrosta kohti. Proteoglykaanit (mm. aggregaani, dekoriini, biglykaani, fibromoduliini) sitovat kudoksen yhteen ja auttavat vastustamaan puristavia voimia (Buckwalter ja Mankin 1998). Proteoglykaanit ja niihin sitoutuneet glukosaminoglykaanit (mm. hyaluronaani, kondroitiniinisulfaatti) vetävät osmoottisesti puoleensa nivelnestettä. Kollageeniverkosto on huonosti nestettä läpäisevää. Näin sidekudoksessa oleva neste kantaa iskunvaimentimen tavoin osan rasituskuormasta. Lisäksi verisuonittomat nivelpinnat saavat ravinteensa nivelnesteen kautta. (Kuroda ym. 2009).

## **2.2. Rasituksen vaikutus kondyyliirustoon**

Kohtuullisen rasituksen on tiedetty edistävän luiden ja nivelten terveyttä. Liiallinen ja liian vähäinen rasitus puolestaan aiheuttaa degeneratiivisia muutoksia. Useissa tutkimuksissa on havaittu parentafunktion vaikuttavan kondrosyyttien erilaistumiseen ja kypsymiseen ja tätä kautta myös kondyylin ja koko alaleuan kasvuun ja purennan kehitykseen. Osaltaan nykyaikainen alentunut parentafunktio voi vaikuttaa lisäävästi alaleuan retrognatiaa. Koe-eläintutkimuksessa (Tuominen ym. 1993) pehmeä dieetti sai aikaan nivelkuopan syvenemistä ja emi-nenssin jyrkkenemistä, mikä johti alaleuan distaalisempaan asemaan. Alaleuat myös kasvoivat posteriorisemmin roteerautuvalla kasvumallilla.

### ***2.2.1. Solujen maturaatio ja ekstrasellulaarimatriksi***

Purentarasituksen on todettu hidastavan kondrosyyttien maturaatiota (Kantomaa ym. 1994). Samassa tutkimuksessa havaittiin myös, että rasituksen vähenemisen aiheuttama maturaation nopeutuminen nopeuttaa myös ruston korvautumista luulla, mikä johtaa ruston ohenemiseen vähemmän rasittuvilla alueilla. Maturaation havaittiin olevan hitainta kondyylin superiorisimmalla alueella ja puolestaan nopeinta posteriorisemmalla alueella. Saman suuntaisia tuloksia saatiin myös tutkimuksessa, jossa alentunut rasitus johti kondyylin ruston ohenemiseen (Chen ym. 2009). Epäkypsien kondrosyyttien on todettu olevan muodoltaan litteitä ja kypsyessään ne muuttuvat pyöreämmiksi. Erilaistumattomien tai epäkypsien kondrosyyttien on havaittu tuottavan pääasiassa tyypin I kollageenia kun taas kypsien kondrosyyttien tyypin II kollageenia (Pirttiniemi ym. 1996).

Purentarasitus vaikuttaa kollageenin lisäksi myös muun ekstrasellulaarimatriksin koostumukseen. Kokeellisessa tutkimuksessa (Kantomaa ja Pirttiniemi 1998) nivelfossan ja kondyylin muuttunut keskinäinen sijainti muutti kudoksiin kohdistuvaa purentarasitusta. Muuttuneen rasituksen havaittiin vaikuttavan kudoksen koostumusta. Korkean rasituksen alueilla kollageenin lisäksi myös proteoglykaanien määrä väheni. Tutkimuksen tuloksena nähtiin, että liiallinen rasitus lisää kudoksen kataboliaa, eli hajotusta, sen sijaan että synteesi varsinaisesti vähenisi.

### ***2.2.2. Estrogeeni***

Estrogeeni vaikuttaa suoraan rustosoluihin vähentämällä jakautumista ja nopeuttaen kypsymistä (Talwar ym. 2006). Estrogeenilla on paitsi itsenäisiä myös estrogeenireseptori- $\alpha$ :sta ( $ER\alpha$ ) riippuvaisia vaikutuksia. Estrogeenin on havaittu vähentävän nivelrikkoa riippumatta  $ER\alpha$ :sta, mutta se ei puolestaan vaikuttanut niveltulehdukseen itsenäisesti (Engdahl ym. 2014). Tuoreessa väitöstutkimuksessa (Orajärvi 2015) lisääntyneen purentafunktion sekä estrogeenin puutteen todettiin lisänneen tyypin II kollageenin muodostusta. Lisäksi myös tyypin I kollageenin muodostus lisääntyi nuoremmilla rotilla. Samassa tutkimuksessa havaittiin myös estrogeenin puutteen johtavan kondyyli-*ruston* paksuuntumiseen ja solumäärän lisääntymiseen, mutta toisaalta sen rakenteen heikkene-

miseen, aiheuttaen osteoartroosin kaltaisia muutoksia. Estrogeenin puutos sai myös aikaan ER $\alpha$ :n lisääntymistä.

### **2.2.3. Kondyylin luu**

Purentarasituksen vähenemisen on havaittu vähentävän luun määrää (Chen ym. 2009). Tutkimuksessa, jossa hiirten parentarasitusta vähennettiin, vähentynyt rasitus laski aluksi luun määrää ja tiheyttä, mutta luun tiheyden laskun havaittiin olevan palautuvaa. Osteoklastiaktiivisuus nousi kokeen alussa, mutta myöhemmin RANKL/OPG-suhde (NF-kB-reseptoriaktivaattori-ligandi, Osteoprotegeriini) laski, mikä johtaa osteoklastien vähentyneeseen erikoistumiseen ja näin luun resorptio laskee ja tiheys nousee. On mahdollista, että vähentyneen kuormituksen aiheuttama ruston oheneminen lisäsi myöhemmässä vaiheessa luun rasitusta. Rasituksen on todettu stimuloivan luun kasvua ja laskevan RANKL/OPG-suhdetta. (Chen ym. 2009)

Toisaalta kokeellisessa tutkimuksessa (Yue ym. 2009) lisääntynyt rasitus johti RANKL/OPG-suhteen nousuun ja luun vähentyneeseen määrään. Tutkimuksessa rasitus ei ollut fysiologista, vaan hiirille istutettiin toispuoleisesti leukaniveltä 40 tai 120 gramman voimalla rasittavat jouset. Tämä osoittaa leukaluun kykyä adaptoitua liialliseen rasitukseen. Tutkimuksessa RANKL/OPG-suhteen havaittiin muuttuvan riippuen käytetystä voimasta vasteen voimistuessa suuremmalla voimalla. Tutkimuksessa nähtiin myös vasteen tapahtuvan vaiheittain. Osteoklastien elinaika on keskimäärin 12 vuorokautta ja toinen piikki RANKL-pitoisuudessa tapahtuikin 14 vuorokauden kohdalla, jolloin tarvittiin uusi ”aalto” osteoklasteja.

### **2.2.4. Matriksimetalloproteinaasit**

Matriksimetalloproteinaasit (MMP) ovat merkittäviä ekstrasellulaarimatriksia muokkaavia entsyymejä. Ne hajottavat paitsi rakenteellisia mutta myös biologisesti aktiivisia proteiineja, joten niiden merkitys kudosten rakenteelle ja toiminnalle on suuri. Parentarasitus vaikuttaa kudosten aktiivisuuteen MMP:ien ja niitä säätelevien signaalireittien kautta (Tiilikainen ym. 2011). Muutos kovempaa rasitusta aiheuttavaan dieettiin lisäsi suuresti kudoksen hajotusta



hidastavan TIMP-1:n (tissue inhibitor of metalloproteinase-1) määrää kudoksessa ja lisäksi osin vähensi myös kudosta hajottavien MMP-3 ja -8:n määrää. TIMP-1:n määrän muutos rasiinukseen on nopea, mutta ilmeisesti MMP:ien kollageenia hajottava toiminta jatkuu kudoksissa pidempään. Lisäksi tyypin II kollageenin alhaisempi määrä on vielä hitaammin reagoiva kudoksen ominaisuus alhaiselle rasiinukselle. Estrogeenin puutos lisää edelleen ainakin MMP-3:n määrää kudoksissa (Orajärvi 2015).

### **2.2.5. Geenitaso**

Geenitasolla purentarasiinuksen on todettu vaikuttavan SOX9- (Sex-determining region Y -box containing gene 9) ja PTHrP-geenien (Parathyroid hormone related protein) aktiivisuuteen. Lisääntynyt rasiinus lisää SOX9-geenin ekspressiota kondyylin proliferaatiokerroksessa, mikä johtaa kondrosyyttien lisääntyneeseen erilaistumiseen. Lisäksi sen on todettu lisäävän kondrosyyttien tyypin II kollageenin tuottoa. (Rabie ja Hägg 2002)

PTHrP-geenin on havaittu hidastavan kondrosyyttien maturaatiota (Rabie ym. 2003b). Toisaalta PTHrP-geenin on myös havaittu lisäävän SOX9:n ekspressiota. Geenien yhteisvaikutus - toisaalta erilaistumisen lisääntyminen ja toisaalta kehityksen hidastuminen - johtaa lisääntyneeseen aktiivisten kondrosyyttien ja niiden muodostaman ekstrasellulaarimatriksin määrään (Ng ym. 2006). Näin kondyylin kasvupotentiaali nousee voimakkaasti.

Indian hedgehog (IHH) on proteiini, joka on oleellinen tekijä kondrosyyttien erilaistumisessa, jakautumisessa ja kypsymisessä. Se toimii yhdessä PTHrP:n kanssa säädellen välillistä luutumista. IHH lisää PTHrP:n eritystä. IHH:ta erittyy kypsymisen loppuvaiheessa olevista kondrosyyteistä juuri ennen hypertrofista vaihetta. Koska IHH:n lisäämä PTHrP viivästyttää kypsymistä, IHH näin välillisesti vähentää omaa eritystään (Vortkamp ym. 1996).

IHH toimii yhdessä myös muiden geenien ja proteiinien kanssa. Tutkimuksessa, jossa tutkittiin IHH -/- poistogeenisiä hiirisikiöitä, PTHrP:n lisäksi myös SOX9-geenin ekspressio väheni voimakkaasti ilman IHH:ia. Lisäksi nivelvälilevy ei kehittynyt eikä nivelvälitiloja pystytty havaitsemaan. Deleetiot johtivat myös koko alaleuan luutumisen viivästymiseen. Toisaalta hiirilä, joiden IHH:n vastavaikuttaja Gli3-geeni oli myös deleetoitu, muutokset osin palautuivat.

SOX9- ja PTHrP-geenien ekspressio voimistui miltei normaalitasolle. Tämä viittaa siihen, että Gli3 on tarpeellinen IHH:n aktiivisuuden vähentämisessä, jotta sen vaikutukset pysyvät fysiologisella tasolla. Kuitenkaan välilevyn muodostuminen ei palautunut, mikä viittaa IHH:n itsenäiseen, perustavan laatuiseen rooliin diskuksen kehityksessä. Vertailuryhmällä lubrasiini-proteiinia havaittiin ylemmän nivelvälitilan seinämissä; koeryhmissä sitä ei havaittu (Yoshihiro ym. 2007). Leukanivelten on myöhemmin todettu kehittyvän normaalisti ilman lubrasiinia, mutta sen todettiin olevan oleellinen leukanivelen normaalille toiminnalle. Lubrasiinin puutos hiirillä johti osteoartriitin kaltaisiin muutoksiin niin leukanivelessä kuin muissakin nivelissä (Hill ym. 2014).

Muita geenejä, joihin purentarasitus vaikuttaa ovat muun muassa kollageenia tuottavat Col I (kollageeni I) ja Col II (kollageeni II) ja Vegf (vascular endothelial growth factor), joiden ekspressio vähenee purentarasituksen vähentyessä (Chen ym. 2009).

### **3. TUTKIMUSOSUUS**

#### **3.1. Tutkimusongelmat**

Tutkimukseni tarkoituksena on selvittää purentarasituksen vaikutusta kondrosyyttien erilaistumiseen ja kypsymiseen sekä niiden muodon vaihteluihin ja edelleen sen vaikutusta eri tyyppin kollageenien synteisiin eri ikäisillä ja sukupuolisilla rotilla koe- ja kontrolliryhmien välillä. Hypoteesi on, että koeryhmän rottien kondyylien kondrosyytit ovat litteämpiä ja tuottavat enemmän tyyppin I kollageenia.

#### **3.2. Aineisto**

Aineistoni koostuu Oulun koe-eläinkeskuksessa kasvatetuista rotista. Rotat ovat jaettu koe- ja kontrolliryhmään ravinnon kovuuden ja edelleen sukupuolen ja kokeen keston mukaan. Koeryhmän ravintopelletit ovat upotettu haapalankkuun sahattuihin uriin (ns. diet board) (kuva 2). Koeryhmän rotat joutuivat näkemään enemmän vaivaa ravintonsa eteen. Näin niiden

purentarastus kasvoi sekä myös ravinnon saanti hieman väheni ja kulutus hieman lisääntyi. Kontrolliryhmällä samaa pellettiravintoa oli vapaasti saatavilla, joten erot purentalihasaktiiviteetissa syntyivät ainoastaan ruokintatavasta. Kummankaan ryhmän syötävän ruoan määrää ei rajoitettu.

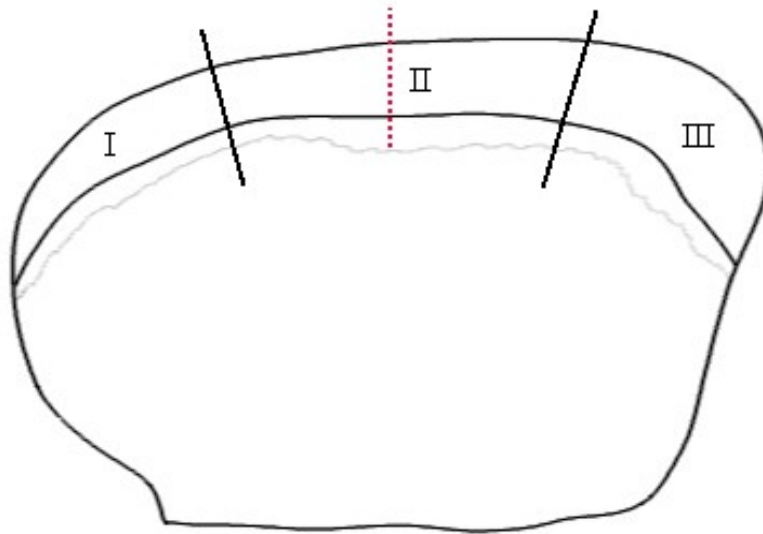
**Kuva 2.** Diet board uutena ja viikon jälkeen.



Ryhmät lopetettiin noin yhden tai kahden vuoden iässä. 24 rottaa lopetettiin 15 kuukauden ja 62 rottaa 26 kuukauden iässä. Lisäksi ne jaettiin sukupuolen ja dieetin mukaan kahdeksaan eri ryhmään. Tutkimukseen selvisi hengissä ja tarpeeksi terveenä lopulta 80 rottaa, joista saatiin 160 leukanivelleikettä. Näytteet käsiteltiin formaliinissa, dekalsifioitiin EDTA:lla (etyleenidiamiinitetraetikkahappo), lämmitettiin mikroaaltouunissa 37°C:ssa 100 tuntia ja upotettiin parafiiniin. Näistä leikattiin 5 µm paksut sagittaaliset histologiset leikkeet, jotka parafiinin poiston jälkeen värjättiin toluidiinisinivärjäyksellä.

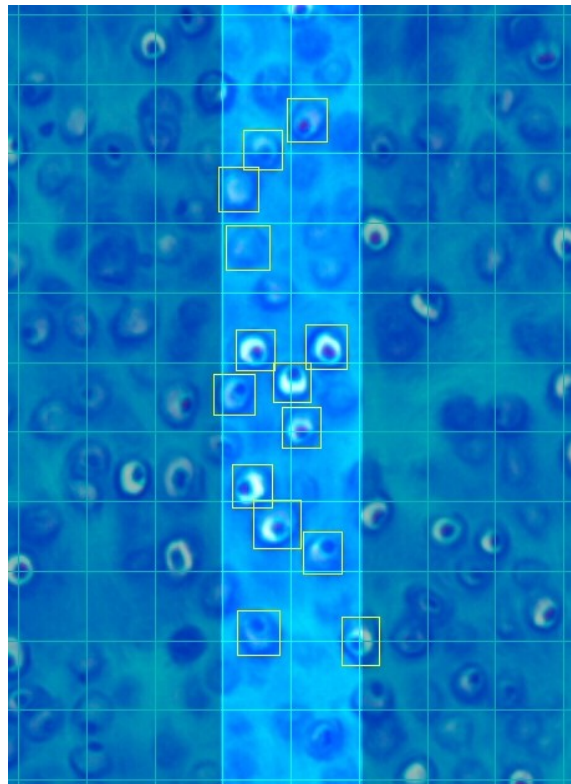
Leikkeen superiorisimmaksi kohdaksi valitaan kohta, jossa discus on ohuin, jonka mukaan leikkeet jaettiin sagittaalisesti kolmeen alueeseen: anterioriseen, sentraaliseen ja posterioriseen (kuva 3).

**Kuva 3.** Kondyylin jako anterioriseen (I), sentraaliseen (II) ja posterioriseen (III) segmenttiin.

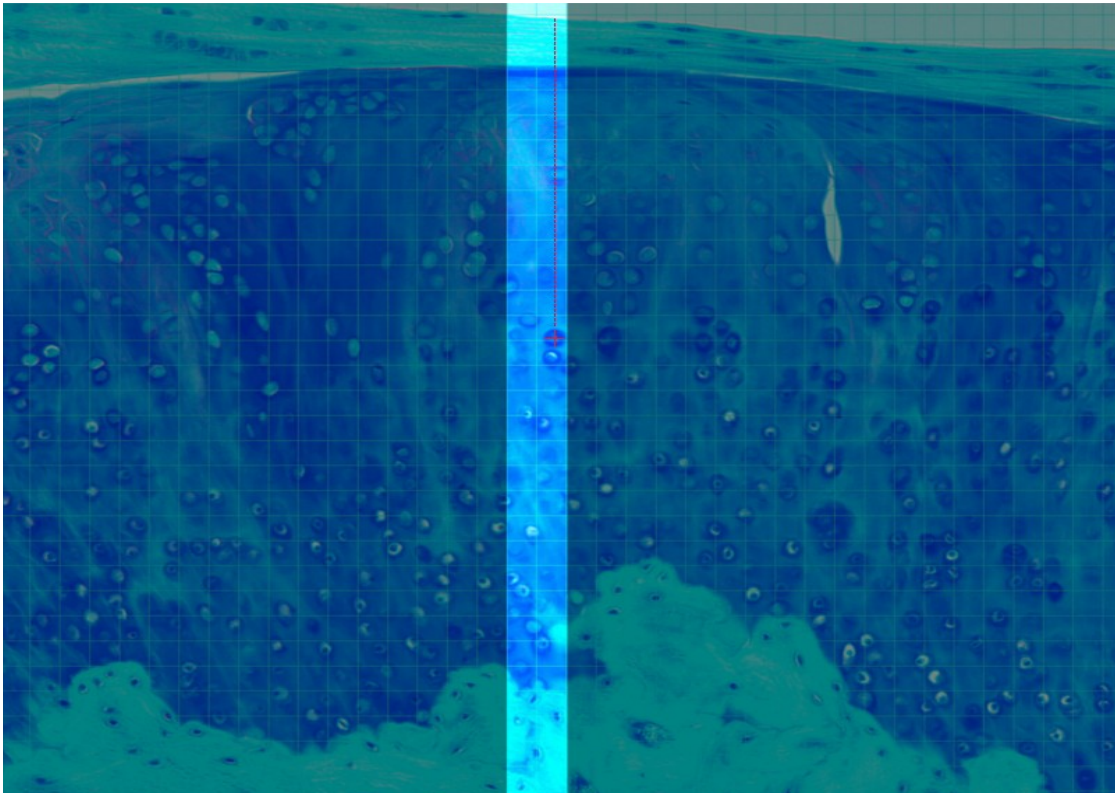


Leikkeet valokuvattiin mikroskoopin avulla. Kustakin sentraalisesta leikkeestä rajattiin keskeltä nivelpintaa vasten kohtisuoraan noin 110 pikselin levyinen kaistale nivelpinnalta luuhun. Alueelle vähintään puoleksi osuvien rustosolujen korkeus, leveys ja etäisyys pinnasta mitattiin manuaalisesti ImageJ-ohjelmalla (National Institutes of Health) sekä rekisteröitiin myös mitattujen solujen määrä (kuvat 4 ja 5).

**Kuva 4.** Lähikuva leikkeistä mitatuista soluista



**Kuva 5.** Soluista tehdyt mittaukset: solun korkeus, leveys ja etäisyys pinnasta.



### 3.3. Tulokset

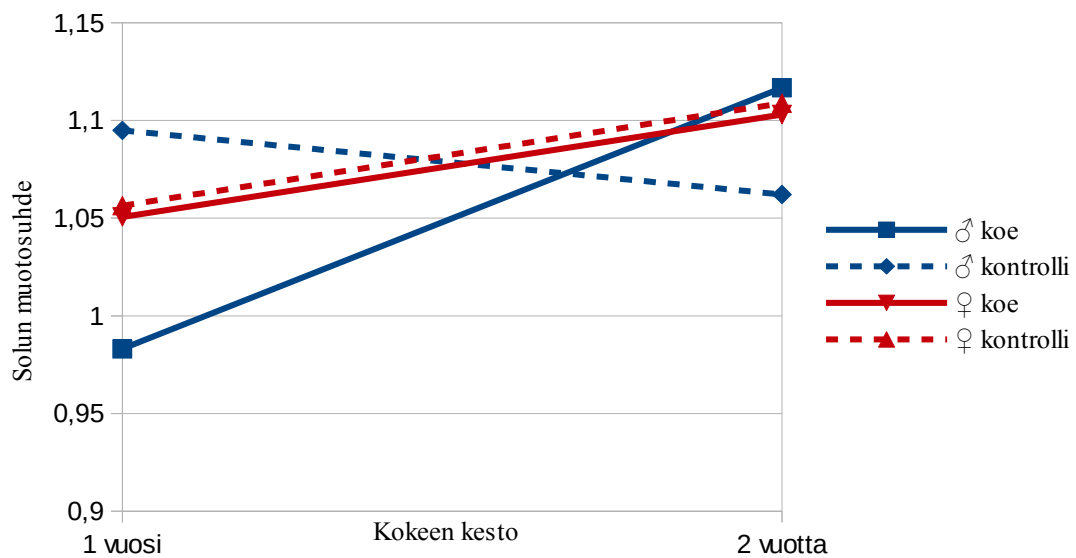
Mittauksista laskettiin solujen korkeuden ja leveyden keskiarvot ( $\bar{x}$ ) sekä keskihajonnat ( $\sigma$ ) kussakin ryhmässä. Tulokset ovat koottuna taulukkoon 1.

**Taulukko 1.** Rustosoluista mitatut korkeudet ja leveydet koe- ja kontrolliryhmissä.

		koeryhmä				kontrolliryhmä			
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
		(n=85)	(n= 46)	(n= 44)	(n= 49)				
		korkeus	leveys	korkeus	leveys	korkeus	leveys	korkeus	leveys
1v	$\bar{x}$	30,048	28,6	30,6	31,1250	38,8889	36,8125	33,6000	30,6875
	$\sigma$	5,1522	2,9806	4,2216	5,3151	6,6411	3,2294	7,2755	4,3775
		(n=163)	(n=260)	(n=132)	(n=141)				
2v	$\bar{x}$	31,5048	28,5620	31,3714	28,0933	31,2121	28,1493	31,4433	29,6038
	$\sigma$	4,8578	4,0350	4,7866	4,6593	5,1903	4,0945	4,7499	4,9100

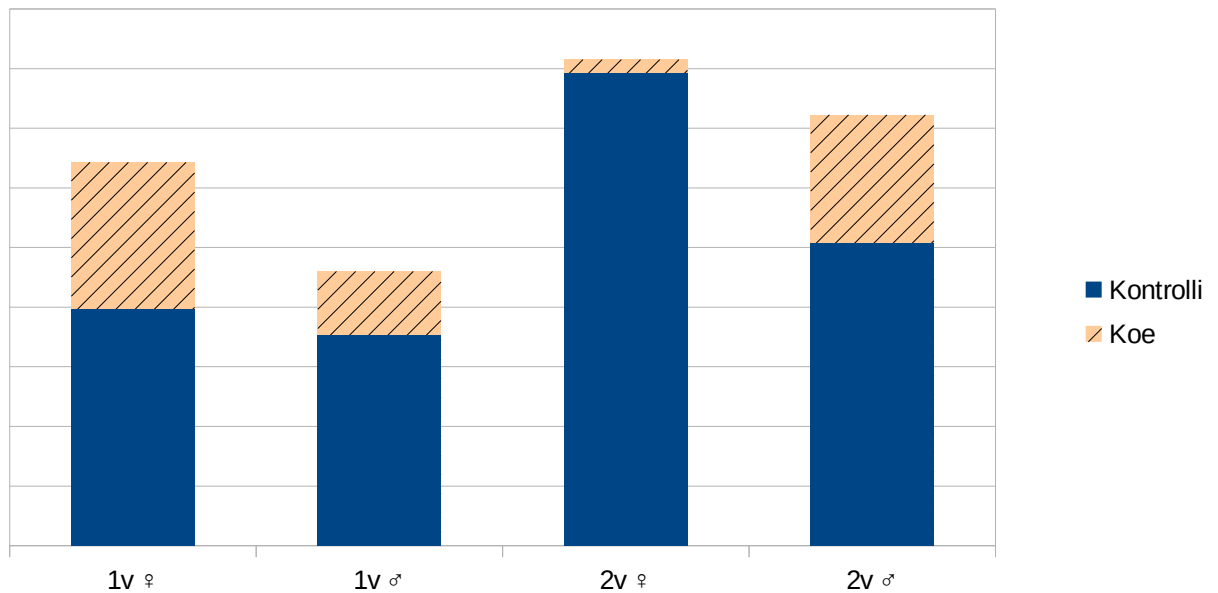
1 vuoden ryhmässä solut olivat koeryhmässä nivelpintaa vastaan kohtisuorasti litteämpiä kummallakin sukupuolella, eli niiden solumuoto lähestyi pyöreämpää. Kontrolliryhmän solut olivat ”korkeampia”. Ero oli huomattavampi uroksilla. 2 vuoden ryhmässä solut olivat matalampia koeryhmän naarailla; koeryhmän uroksien rustosolut puolestaan olivat korkeampia, jopa verrattuna kontrolleihinsa. Solumuotojen muutokset ryhmien välillä on esitetty kaaviossa 1.

**Kaavio 1.** Solumuotojen (korkeus/leveys) muutokset ryhmien välillä.



Solujen määrän muutosta tarkasteltiin koe- ja kontrolliryhmien välillä. Kaikissa koeryhmissä solujen määrä oli kontrolleja suurempi ja 2 vuoden kohdalla suurempi kuin 1 vuoden kohdalla kaikissa ryhmissä. Tulokset ovat kuvattuna kaavioon 2.

**Kaavio 2.** Solujen suhteellinen määrä kontrolli vs koeryhmissä.



### 3.4. Pohdinta

Tutkimuksen hypoteesina oli, että kovemmalle purentarasitukselle altistuneiden koeryhmien kondyylien rustosolut olisivat muodoltaan matalampia. Tutkimustulokset tukivat hypoteesia kolmessa neljästä koeryhmästä. 1 vuoden ryhmässä solut olivat koeryhmässä matalampia kummallakin sukupuolella. 2 vuoden ryhmässä solut olivat matalampia koeryhmän naarailla; koeryhmän urosten rustosolut puolestaan olivat korkeampia.

Saman suuntaisia tuloksia saatiin samasta aineistosta tehdyssä tutkimuksessa (Orajärvi 2015), jossa estrogeeni- ja androgeeni- puutoksilla naarailla havaittiin enemmän tyypin II kollageenia. Tutkimukseni tulokset näyttäisivät, että normaalisti estrogeeniä erittävillä naarailla rustosolujen kypsyminen on hitaampaa, josta kertoo solujen matalampi muoto, ja näin myös rustosolut erittäisivät enemmän tyypin I kollageenia. Toisaalta erot naarailla koe- ja kontrolliryhmien välillä olivat hyvin pienet ja lisäksi, naarailla solumuoto ei ollut järjestelmällisesti uroksia matalampi. 2 vuoden koeryhmän urosten tulokset viittaisivat siihen, että purentarasitus lisäisi suhteellisesti enemmän kypsien rustosolujen määrää. Tutkimukseni tulokset ovat yhdenmukaisia aiempien tutkimusten kanssa, joissa lisääntynyt funktio nostaa solumäärää. Naarailla solumäärä oli suurempi kaikissa ryhmissä, joten estrogeenin ei voine suoraan sanoa

vähentävän solumäärää. Monet eri sisäiset ja ulkoiset tekijät vaikuttavat monimutkaisten mekanismien välityksellä kondyyliiruston muodostumiseen. Lisätutkimuksia tarvitaankin näiden reittien ymmärtämiseksi ja mallien tarkentamiseksi.



#### 4. Lähteet

Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *Instr Course Lect* 1998;47:477-86.

Chen J, Sorensen KP, Gupta T, Kilts T, Young, Wadhwa S. Altered functional loading causes differential effects in the subchondral bone and condylar cartilage in the temporomandibular joint from young mice. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:354-61.

Engdahl C, Börjesson AE, Forsman HF ym. The role of total and cartilage-specific estrogen receptor alpha expression for the ameliorating effect of estrogen treatment on arthritis. *Arthritis Res Ther* 2014;16:R150.

Hill A, Duran J, Purcell P. Lubricin Protects the Temporomandibular Joint Surfaces from Degeneration. *PLoS ONE* 2014;9:1-7.

Kantomaa T, Tuominen M, Pirttiniemi P. Effect of mechanical forces on chondrocyte maturation and differentiation in the mandibular condyle of the rat. *J. Dent. Res* 1994;73:1150-6.

Kantomaa T, Pirttiniemi P. Changes in proteoglycan and collagen content in the mandibular condylar cartilage of the rabbit caused by an altered relationship between the condyle and glenoid fossa. *Eur J Orthod* 1998;20:435-41.

Kuroda S, Tanimoto K, Izawa T, Fujihara S, Koolstra JH, Tanaka E. Biomechanical and biochemical characteristics of the mandibular condylar cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:1408-15.

Ng AFS, Yang YQ, Wong RWK, Hägg EUO, Rabie ABM. Factors regulating condylar cartilage growth under repeated load application. *Front Biosci* 2006;11:949-54

Orajärvi M. Effect of estrogen and dietary loading on rat condylar cartilage. Väitöskirja. Oulun yliopisto 2015.

Pirttiniemi P, Kantomaa T, Salo L, Tuominen M. Effect of reduced articular function on deposition of type I and type II collagens in the mandibular condylar cartilage of the rat. *Archs oral Biol* 1996;41:127-31.

Rabie ABM, Hägg U. Factors regulating mandibular condylar growth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122:401-9.

Rabie ABM, Tsai MJM, Hägg U, Du X, Chou BW. The Correlation of Replicating Cells and Osteogenesis in the Condyle During Stepwise Advancement. *Angle Orthod* 2003a;73:457-65.

Rabie ABM, Tang GH, Xiong H, Hägg U. PTHrP Regulates Chondrocyte Maturation in Condylar Cartilage. *J Dent Res* 2003b;82:627-31.

Talwar RM, Wong BS, Svoboda K, Harper RP. Effects of estrogen on chondrocyte proliferation and collagen synthesis in skeletally mature articular cartilage. *J Oral Maxillofac Surg*

2006;64:600-9.

Tiilikainen P, Raustia A, Pirttiniemi P. Effect of Diet Hardness on Mandibular Condylar Cartilage Metabolism. *J Orofac Pain* 2011;25:68-74.

Tuominen M, Kantomaa T, Pirttiniemi P. Effect of food consistency on the shape of the articular eminence and the mandible. An experimental study on the rabbit. *Acta Odontol Scand* 1993;51:65-72.

Tuominen M, Kantomaa T, Pirttiniemi P. Effect of altered loading on condylar growth in the rat. *Acta Odontol Scand* 1994;52:129-34.

Vortkamp A, Lee K, Lanske B, Segre GV, Kronenberg HM, Tabint CJ. Regulation of Rate of Cartilage Differentiation by Indian Hedgehog and PTH-Related Protein. *Science* 1996;273:613-22.

Yoshihiro S, Young B, Wu C, Yamada S, Long F, Pacifici M, Koyama E. Temporomandibular Joint Formation and Condyle Growth Require Indian Hedgehog Signaling. *Dev Dyn* 2007;236:426-34.

Yue X, Tuojiang W, Yangxi C, Zhiguang Z. Regulation of the Response of the Adult Rat Condyle to Intermaxillary Asymmetric Force by the RANKL-OPG System. *Angle Orthod* 2009;79:646-51.