



Evaluation the level of IL-1 β and TNF- α and joint friction in the non-traumatic model of knee osteoarthritis in Guinea Pig

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Ahmadi-fakhre M¹
Torkaman G^{2*}
Ravanbod R.³

1. MSc Graduate, Physical Therapy Department, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2. Professor, Physical Therapy Department, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Physical Therapy Department, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Correspondence

Address: Physical Therapy Department, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
Email: torkamg@modares.ac.ir
Running title: IL-1 β , TNF- α and joint friction in knee osteoarthritis

Article History

Received: September 13, 2020
Accepted: March 6, 2021
ePublished: March 6, 2021

ABSTRACT

Introduction: Osteoarthritis is the most common type of arthritis and is one of the most common causes of pain and disability in adults. In the present study we investigated the level of inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α and the amount of joint friction after non-traumatic model of knee osteoarthritis in guinea pig.

Materials & Methods: Twenty-four matured albino male Dunkin-Hartley guinea pigs were assigned randomly into two groups; osteoarthritis (OA) and control (n=12 in each group). The non-traumatic OA was induced by intra-articular injection of mono iodoacetate (MIA, 3 mg/kg) in the knee joint. Joint circumference and weight of subjects were measured initially and after thirty days of MIA injection. After scarifying the animals on day 30, the level of IL-1 β and TNF- α in synovial membrane and knee joint friction were measured. Control group received no intervention and all evaluations were performed on the normal knee joint.

Results: The induction of OA caused a significant increase in the joint circumference compared to control group (P<0.05). 30 days after induced OA, the knee joint friction in flexion and extension movement was significantly increased compared to control group. In OA group, the level of IL-1 β and TNF- α showed a significant increase compared to control group (P<0.05). There was a positive correlation between IL-1 β , TNF- α and knee joint friction (P<0.01).

Discussion: Non-traumatic osteoarthritis may increase the expression of inflammatory cytokines and joint friction, which in this condition the joint movement can aggravate cartilage damage.

Keywords: Osteoarthritis, IL-1 β , TNF- α , friction, knee joint

بررسی میزان $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ و اصطکاک در مدل استئوآرتروز غیر تروماتیک مفصل زانو در خوکچه

هندی

عنوان کوتاه: $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ و اصطکاک در استئوآرتروز زانو

محمود احمدی فخره

کارشناس ارشد فیزیوتراپی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه

تربیت مدرس

دکتر گیتی ترکمان*

استادگروه فیزیوتراپی دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم

پزشکی

دکتر رویا روانبد

استادیار گروه فیزیوتراپی دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم

پزشکی

یافته‌ها: القای استئوآرتروز سبب افزایش معنی‌دار تورم مفصل نسبت به گروه کنترل شد ($P<0.05$). ۳۰ روز پس از القای استئوآرتروز، اصطکاک مفصل در حرکات فلکشن و اکستنشن نسبت به مفصل زانوی سالم در گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد ($P<0.05$). در گروه OA، سطح $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری بالاتر بود ($P<0.001$). همبستگی مثبت بین سطح $IL-1\beta$ ، $TNF-\alpha$ و پارامترهای اصطکاک مفصل مشاهده شد ($P<0.01$).

نتیجه‌گیری: استئوآرتروز غیر تروماتیک با افزایش سیتوکین‌های التهابی و افزایش اصطکاک مفصل همراه است که در این شرایط حرکت مفصل موجب تشدید آسیب غضروف می‌شود.

کلید واژه‌ها

استئوآرتروز، $IL-1\beta$ ، $TNF-\alpha$ ، اصطکاک، مفصل زانو

تاریخ دریافت ۹۹/۰۷/۶

تاریخ پذیرش ۹۹/۱۲/۱

Email: torkamg@modares.ac.ir

چکیده

اهداف: استئوآرتروز شایع‌ترین نوع آرتريت مفصلی و از مهم‌ترین علل درد و ناتوانی در بزرگسالان است. در این مطالعه میزان سیتوکین‌های التهابی $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ و میزان اصطکاک مفصل پس از القای آرتروز غیر تروماتیک در مفصل زانوی خوکچه هندی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: بیست و چهار سر خوکچه هندی نر سفید بالغ، نژاد دانکین-هارتلی به صورت تصادفی به دو گروه استئوآرتروز (OA) و کنترل (۱۲ سر در هر گروه) تقسیم شدند. القای مدل غیر تروماتیک استئوآرتروز به وسیله تزریق مونو یدو استات (۳ mg/kg, MIA) در مفصل زانو انجام شد. محیط مفصل ابتدا و بعد از ۳۰ روز از تزریق MIA، اندازه‌گیری شد. پس از قربانی کردن حیوان در روز ۳۰، میزان سیتوکین‌های $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در غشای سینویال و اصطکاک مفصل زانو در دو گروه اندازه‌گیری شد. در گروه کنترل هیچ تداخلی انجام نشد و ارزیابی‌ها در مفصل زانو، به عنوان نمونه کنترل، انجام شد.

مقدمه

استئوآرتروز^۱ (OA) شایع‌ترین نوع آرتريت مفصلی است که چهارمین عامل ناتوانی در سراسر دنیا است. در ایران در جمعیت شهری میزان شیوع ۱۶/۶ درصد و در جمعیت روستایی حدود ۱۶/۱ درصد (حداقل در یکی از مفاصل) برآورد شده است که نسبت به جمعیت روستایی در سایر کشورهای آسیایی بالاتر است [۱]. شیوع علائم استئوآرتروز در مردان ۴۰ درصد و در زنان ۴۷ درصد گزارش شده است [۲].

مطالعات In-vitro و In-vivo نشان داده‌اند که سلول‌های غشای سینویال، کندروسیت‌ها و سلولهای بافت مفصل می‌توانند سیتوکین‌ها و کموکین‌های مختلفی را تولید کنند و یا در اثر تحریکات پاتولوژیک ترشح کنند که در مایع مفصلی استئوآرتريت

Osteoarthritis

سازی گزارش شده که به تخریب مواد روان ساز مفصل به دلیل عملکرد واسطه‌های التهابی نسبت داده است. اختلال در روان سازی ممکن است خود علتی برای ایجاد بیماری OA باشد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که رابطه مستقیمی بین افزایش ضریب اصطکاک و شدت OA وجود دارد [۱۱،۱۲].

به دلیل محدودیت بررسی ضریب اصطکاک و روان سازی در مطالعات انسانی، باید تاثیر OA بر التهاب و نقش آن در تغییر اصطکاک مفصل در مدل‌های حیوانی مورد بررسی قرار گیرد. بررسی اصطکاک مفصل به صورت In-Situ و بدون آسیب به تمامیت مفصل در مطالعات انسانی ممکن نیست. پس در این مطالعه با استفاده از مدل غیر تروماتیک استئوآرتروز، میزان سیتوکین‌های التهابی اندازه‌گیری می‌شود و ارتباط آن با اصطکاک مفصل نیز بررسی می‌شود که تاکنون ارتباط بین سیتوکین‌های التهابی و تاثیر آنها بر اصطکاک مفصل در مورد استئوآرتروز غیر تروماتیک زانو به صورت In-situ مورد مطالعه قرار نگرفته است. مدل غیر تروماتیک OA به وسیله تزریق مونویدو استات (MIA)، بر مدل‌های تروماتیک مانند روش‌های جراحی قطع لیگامان و آسیب منیسک برتری دارد، زیرا از آسیب به تمامیت مفصل که خود سبب اختلال در ثبات مفصل و وضعیت بارگذاری آن می‌شود، پیشگیری می‌کند. در این مطالعه از خوکچه هندی به عنوان مدل حیوانی استفاده شد زیرا به دلیل شباهت هیستوپاتولوژی و ساختاری نزدیک به انسان به طور گسترده ای به عنوان مدل مناسب OA، معرفی شده است [۱۳-۱۶].

این مطالعه میزان سیتوکین‌های التهابی $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در غشای سینویال و اصطکاک مفصل پس از القای آرتروز غیر تروماتیک در مفصل زانوی خوکچه هندی بررسی و ارتباط بین این متغیرها بررسی شد. متغیرهای مربوط به اصطکاک برای تحلیل بهتر بیومکانیکی، در دو حرکت فلکشن و اکستنشن زانو جداگانه بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی از نوع بنیادی-کاربردی است که از طریق مدل حیوانی اجرا شده است. مطالعه با رعایت اصول اخلاق کار با

هم مشاهده می‌شود. هر چند سازوکار شروع این روند التهابی در استئوآرتروز کاملاً مشخص نیست اما استرس‌های اکسیداتیو و مکانیکال را در این روند موثر می‌دانند. کندروسیت‌ها در غضروف استئوآرتروز موجب سنتز $IL-1\beta$ می‌شوند که خود موجب ترشح ماتریکس متالوپروتیناز (MMPs) و فاکتور نکروز دهنده بافتی ($TNF-\alpha$) می‌شوند [۳]. به طور خاص $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در پروسه استئوآرتروز بیشتر از غضروف و سینوویال آزاد می‌شوند. همچنین، این سیتوکین‌ها باعث مهار بیان ژن کلاژن نوع II و پروتئوگلیکان‌ها در کندروسیت‌ها بوده و به‌عنوان یکی از عوامل اصلی آپوپتوز در این سلول‌ها مطرح است. $TNF-\alpha$ تاثیر مشابه روی غضروف مفصلی دارد و به صورت سینرژیک (هم‌افزا) با $IL-1\beta$ عمل می‌کند. [۴،۵]. التهاب و سیتوکین‌های ناشی از آن علاوه بر آثاری که بر غضروف ایجاد می‌کند باعث افزایش اصطکاک در اثر کاهش روان‌سازی مرزی و افزایش فعالیت ماتریکس متالوپروتینازهای مفصلی نیز می‌شود که عملکرد مفصل را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۶،۷]. تاثیر سیتوکین‌ها بر کاهش SZP^2 و هیالورونیک اسید که نقش مهمی در روان‌سازی مفصل دارند به اثبات رسیده است [۸،۹]. مفصل سینوویال سالم علاوه بر حفظ ثبات باید توانایی قابل ملاحظه‌ای در انجام حرکات رفت و برگشتی^۳ تحت دامنه وسیعی از بارها و سرعت‌های مختلف داشته باشد. لغزندگی قابل ملاحظه مفاصل بدن با ضریب اصطکاک مفصل (COF^4) اندازه‌گیری می‌شود [۱۰]. تعامل غضروف مفصلی و مایع سینوویال با دو سازوکار کلی روان‌سازی مرزی^۵ و لایه نازک مایع^۶ موجب ایجاد حرکات نرم و روان در مفاصل می‌شود و فعالیت‌های روزانه مفصل با کمترین اصطکاک و روان‌سازی مناسب انجام می‌شود تا از ساییدگی غضروف مفصلی هنگام حرکت جلوگیری شود [۱۰،۱۱]. روان سازی ناکارآمد، غضروف مفصلی را در معرض اصطکاک و صدمات ناشی از آن قرار می‌دهد که خود آغازگر آبخاری از تغییرات متابولیک و ساختاری است. در نمونه‌های آسیب‌ر شده مایع مفصلی پس از تروما اختلال روان

^۲Superficial Zone Protein

^۳reciprocal

^۴coefficient of friction

^۵Boundary Lubrication

^۶Fluid Film

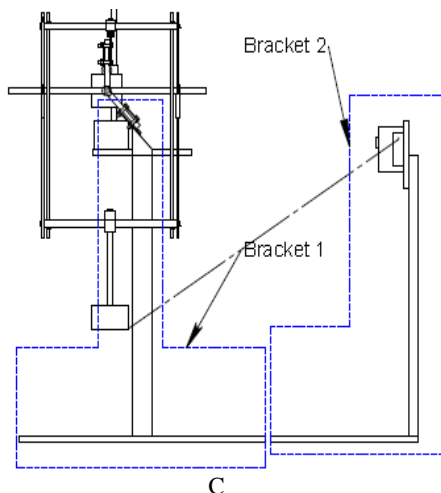
فیزیولوژیک)، توسط سرنگ انسولین به داخل مفصل زانوی چپ از سمت خارج مفصل و کنار زاویه فوقانی خارجی پتلا تزریق شد. برای اطمینان از تزریق داخل مفصلی^[۱۷،۱۸] و ورود محلول در داخل مفصل، در مطالعه پایلوت با سرنگ دیگری از سمت داخل مفصل مایع MIA تزریق شده خارج شد. برای اندازه‌گیری تورم مفصل، به‌جای اندازه‌گیری دور تا دور مفصل، قطر مفصل با استفاده از کولیس دیجیتالی (کولیس دیجیتالی مدل Mitutoyo 500 196-20 ساخت شرکت Mitutoyo crop ژاپن، با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) در سه ناحیه شامل ۵-۴ میلی‌متر بالاتر و پایین‌تر از خط مفصلی و همچنین بزرگ‌ترین قطر مفصل در صفحه‌ای موازی با سطح مفصلی اندازه‌گیری شده و میانگین این اعداد به عنوان قطر مفصل گزارش شد^[۱۷]. لازم به ذکر است که قسمتی از مفصل زانو که در انواع مشکلات زانو دچار تورم می‌شود در اصل قسمتی است که توسط غشا، سینوویال پوشیده شده و در پروسه التهاب متورم می‌شود و در قدام مفصل زانو قرار می‌گیرد. قسمت های خلفی مفصل زانو که اندازه‌گیری‌های دورتادور مفصل شامل آنها هم می‌شود اصولاً توسط بافت عضلانی پوشیده می‌شود که آتروفی آنها می‌تواند با تورم مفصل اشتباه شود^[۱۷].

اندازه مفصل در گروه OA و کنترل، در روز اول، قبل از تزریق، و روز ۳۰، قبل از قربانی کردن حیوان اندازه‌گیری شد. در گروه کنترل هیچ تداخلی انجام نشد و مفصل زانوی سالم حیوان، برای مقایسه تغییرات سیتوکین‌ها و اصطکاک مفصل پس از تزریق MIA در گروه OA، استفاده شد.

پس از ۳۰ روز از تزریق MIA، حیوانات با دوز بالای کتامین-زایلازین و در محلول کلروفورم قربانی شدند. پس از قربانی شدن حیوان در روز سی‌ام^[۱۵]، مفصل زانوی حیوان با بریدن استخوان فمور و تیبیا، جدا شد. پوست، فاسیا و عضلات از اطراف مفصل زانو جدا شد و مفصل زانوی حیوان بدون آسیب به کیسول مفصلی برای آزمایش اصطکاک آماده شد. برای اندازه‌گیری اصطکاک مفصل از دستگاه آزمایش اصطکاک طراحی شده در آزمایشگاه بیومکانیک بافت دانشگاه تربیت مدرس (Iranian patent No: 65127-1389/3/23) استفاده شد. این دستگاه بر اساس قانون نوسان آزاد و با نادیده گرفتن اصطکاک هوا، میزان

حیوانات آزمایشگاهی و با تأیید کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفت و کد تأییدیه اخلاق این پژوهش ۵۲،۳۰۶۶ است. دو گروه برای انجام این مطالعه در نظر گرفته شد که حجم نمونه برای هر گروه ۱۲ سر بود. حجم نمونه بر اساس تغییرات پارامتر اصطکاک مفصل مطالعه Teeple و همکاران روی خوکچه هندی با اطمینان ۹۵ درصد و توان آزمون ۸۰ درصد و اندازه اثر ۰/۸ و توسط نرم‌افزار جی پاور تعیین شد^[۱۴]. بدین ترتیب که بیست و چهار سر خوکچه هندی نر سفید بالغ نژاد دانکین-هارتلی با میانگین وزنی ۴۰۰ تا ۵۰۰ گرم (پرورش یافته در مرکز واکسن و سرم‌سازی رازی کرج) خریداری و به محیط آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شدند. سپس خوکچه‌ها که در گروه‌های هشت‌تایی خریداری می‌شدند توسط فردی که داخل مطالعه نبود به صورت تصادفی در دو دسته چهار تایی انتخاب شده و در دو گروه کنترل و OA تقسیم شدند. به منظور ایجاد شرایط استاندارد محیطی، ۴ سر خوکچه در هر قفس از جنس پلی‌کربنات شفاف و در محیطی با دمای ۲۳±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰±۵ درصد و سیکل تاریکی روشنایی ۱۲/۱۲ ساعت و با شروع روشنایی ساعت هفت صبح نگهداری شدند^[۱۵]. تراشه (به منظور پوشش کف قفس) و غذای مخصوص خوکچه، از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتوی سرم‌سازی رازی کرج خریداری شد. برای رعایت اصول بهداشتی، یک روز در میان تراشه‌ها تعویض شدند و قفس‌ها به صورت هفتگی با پودر شوینده کاملاً شسته شد. برای آماده‌سازی مدل غیرتروماتیک OA در گروه‌های آزمون، از تزریق داخل مفصلی مونویدوآستات (Sigma-Aldrich, MIA St. Louis, MO) استفاده شد^[۱۵،۱۶]. بدین منظور، ترکیب زایلازین (۲۰ mg/ml) و کتامین (۱۰۰ mg/ml)، با نسبت ۱ به ۵ و به میزان ۰/۱ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن حیوان، از ناحیه پشت گردن، ناحیه بین دو کتف، به صورت زیرجلدی تزریق شد تا حیوان بیهوش شود. سپس موهای اطراف مفصل تراشیده شد و ناحیه مفصل زانوی سمت چپ با الکل ضدعفونی شد. محلول MIA در سرم فیزیولوژیک (۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت محلول در ۵۰ میکرولیتر سرم

ν Monoiodoacetate (MIA)



شکل ۱: نرم‌افزار دستگاه سنجش اصطکاک مفصل. نوسان آزاد مفصل زانو در دستگاه سنجش اصطکاک سی‌روز پس از القای استئوآرتروز A: گروه کنترل B: گروه OA. محور افقی زمان و محور عمودی زاویه انحراف دستگاه را نشان می‌دهد. کاهش تعداد نوسان در گروه OA (شکل B) نسبت به گروه کنترل (شکل A) مشخص است. نقشه دستگاه (شکل C).

پس از انجام آزمایش اصطکاک، مفصل حیوان باز شد و غشاء سینوویال برای بررسی سیتوکین‌ها جدا شدند. غشا سینوویال در داخل میکروتیوب و در دمای ۸۰- نگهداری شد.

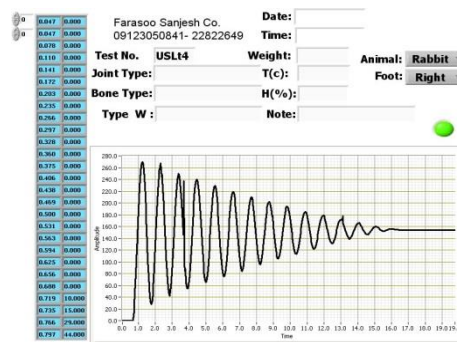
برای سنجش سیتوکین‌ها به بافت‌های منجمد شده بافر فسفات نمکی (PBS) حاوی آنتی پروتئاز اضافه شد. سپس به وسیله دستگاه هموژن کننده، غشاء سینوویال لیز و به صورت مایع شیری رنگ درآمد. پس از سانتریفیوژ کردن محتویات میکروتیوب در دمای ۴ درجه سانتیگراد (۱۴۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه) مایع رویی به منظور سنجش سطح سیتوکین‌ها جدا شد.

برای سنجش میزان سیتوکین‌های $IL-1\beta$ ، $TNF-\alpha$ از روش الایزا استفاده شد که کیت‌های تجاری مربوطه برای این منظور از شرکت CUSABIO (ساخت کشور چین) تهیه شدند. حساسیت کیت‌ها برای $IL-1\beta$ ، $TNF-\alpha$ و به ترتیب ۳/۹ و ۰/۷۸ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود. کلیه مراحل انجام آزمایش با توجه به پروتکل شرکت سازنده کیت اجرا شد.

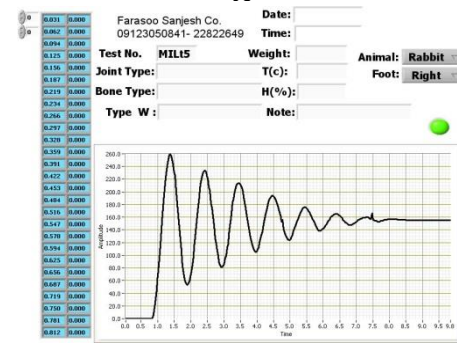
برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک تأیید شد ($P > 0.05$)، سپس از آزمون‌های آماری تی زوجی برای بررسی تغییرات قبل و بعد وزن و محیط مفصل و تی مستقل برای بررسی نتایج بین دو گروه استفاده شد. همچنین برای ارتباط‌سنجی بین متغیرهای التهاب و اصطکاک

نوسان آزاد حول مفصل زانو را مشخص می‌نماید، [۱۷، ۱۸]. استخوان تیبیا در گیره پایینی و استخوان فمور در گیره بالایی دستگاه سنجش اصطکاک بسته شد. استخوان تیبیا در زاویه ۱۳۴ درجه که زاویه استراحت مفصل خوکچه هست، ثابت شد. پس از قرارگیری مفصل بین گیره‌های تعبیه شده، ۱۷ درجه انحراف در فریم دستگاه ایجاد شد و با سازوکار رها سازی ناگهانی و اتوماتیک فریم، نوسان آزاد فریم حول مفصل زانوی حیوان ثبت شد. تغییر زاویه از طریق یک انکودر روتاری و با فرکانس ۱۰ هرتز و تا زمان متوقف شدن فریم در کامپیوتر ثبت و ذخیره شد. به کمک اطلاعات ثبت شده، نمودار افت دامنه نوسانات استخراج و رسم شد. [۱۷، ۱۸].

اطلاعات ثبت شده در نرم‌افزار Curve Estimation طراحی شده در فضای LabView منتقل شد و شیب برازش نمایی نوسانات، تعداد نوسان و ضریب اصطکاک با استفاده از فرمول استنتون محاسبه شد [۱۴]. تعداد نوسانات در حرکت رفت و برگشت که به ترتیب نماینده اکستنشن و فلکشن مفصل زانو است، یکسان بود اما شیب برازش نمایی و ضریب اصطکاک در حرکات فوق جداگانه محاسبه شد. شکل ۱ نقشه دستگاه و نمونه‌ای از نوسانات ثبت شده در دو گروه را نشان می‌دهد.



A



B

جدول ۲: متغیرهای اصطکاک مفصل زانودر حرکت اکستنشن

ارزش P	متغیر	
	کنترل (Mean±SD)	OA (Mean±SD)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۴۵±۰/۰۴	۰/۱۶۶۷±۰/۰۵
۰/۰۰۰۱	۱۴/۰۰±۲/۰۰	۸/۷۵±۱/۲۲
۰,۰۰۷	۰/۳۸±۰/۰۷	۰/۴۸±۰/۰۸

جدول ۳: متغیرهای اصطکاک مفصل زانودر حرکت فلکشن (Mean±SD)

ارزش P	متغیر	
	کنترل (Mean±SD)	OA (Mean±SD)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۸۵±۰/۰۳	۰/۱۴۹۶±۰/۰۴
۰/۰۰۰۱	۱۴/۰۰±۲/۰۰	۸/۷۵±۱/۲۲
۰,۰۱	۰/۴۷±۰/۰۶	۰/۵۵±۰/۰۹

سطح IL-1 β و TNF- α بعد از سی روز از القای استئوآرتروز بین دو گروه OA و کنترل تفاوت معنی داری داشت (برای هر دو فاکتور (P=0.001)، (جدول ۴).

جدول ۴: میزان فاکتورهای التهابی غشای سینویال در مفصل زانو (Mean±SD)

ارزش P	متغیر	
	کنترل (Mean±SD)	OA (Mean±SD)
۰/۰۰۰۱	۳۴۴,۳۳	۷۱۳,۹۹
	±	±
۰/۰۰۰۱	۱۹۳,۶۶	۱۵۵,۴۵
	±	±
۰/۰۰۰۱	۳۳,۳۶	۶۷,۳۷
	±	±
۰/۰۰۰۱	۱۱,۷۹	۲۵,۵۹
	±	±

برای ارتباط سنجی بین متغیرهای التهاب و اصطکاک مفصلی از آزمون ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. بدین منظور ارتباط بین هر یک از متغیرهای اصطکاک جداگانه با میزان فاکتورهای التهابی IL-1 β و TNF- α بررسی شد. IL-1 β و TNF- α با شیب نمایی و ضریب اصطکاک برای هر دو حالت فلکشن و اکستنشن همبستگی مثبت معنی داری داشتند (P=0.0001) و با تعداد نوسان

مفصل از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معنی داری $\alpha=0/05$ در نظر گرفته شد و محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

یافته‌ها

داده‌های بدست آمده از وزن و قطر مفصل بر اساس میانگین و انحراف معیار در جدول ۱ ارائه شده است. در گروه OA، ۳۰ روز پس از تزریق MIA در مفصل زانو، مفصل متورم بود و افزایش قطر آن نسبت به قبل از مداخله (P<0.05) معنی دار بود. میزان افزایش قطر در گروه OA نسبت به میزان تغییرات گروه کنترل نیز معنی دار بود (P<0.001).

جدول ۱: داده‌های مربوط به وزن و قطر مفصل

متغیر	گروه‌ها	
	روز ۱ (Mean±SD)	روز ۳۰ (Mean±SD)
وزن (گرم)	OA ۴۶۰/۲۵±۲۱/۱۸	۵۳۴/۱۷±۱۴/۸۰
کنترل	۴۵۵/۴۲±۱۶/۳۲	۵۲۵/۵۸±۱۷/۹۶
قطر مفصل (میلی‌متر)	OA ۸/۵۲±۰/۵۶	#۱۰/۵۴±۰/۵۲
کنترل	۷/۵۱±۰/۲۵	۸/۲۷±۰/۳۷

*معنی داری نسبت به قبل از مداخله تزریق داخل مفصلی (P<0.05)، MIA، # معنی داری نسبت به گروه کنترل (P<0.001)

داده‌های مربوط به اصطکاک مفصل در دو حالت اکستنشن و فلکشن، بر اساس میانگین و انحراف معیار به ترتیب در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. شیب منحنی نمایی در هر دو حالت فلکشن و اکستنشن در گروه OA افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل نشان داد (برای هر دو حالت (P=0.0001). به طور طبیعی تعداد نوسانات در هر دو حالت فلکشن و اکستنشن یکسان بود و در گروه OA نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار نشان داد (برای هر دو حالت (P=0.0001). ضریب اصطکاک در هر دو حرکت فلکشن و اکستنشن نیز در گروه OA افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل نشان داد (برای حالت اکستنشن P=0.007 و فلکشن P=0.01) اگر چه مقادیر در حرکت فلکشن و اکستنشن اختلاف معنی داری نداشت.

می‌تواند ناشی از تخریب غضروف مفصل بدنال پروسه التهابی اولیه باشد. به دنبال بروز ضایعات تخریبی OA، ترشح مایع سینوویال و بیان سیتوکین‌های التهابی بیشتر می‌شود که تورم مفصل را بدنال دارد [۲۱].

در گروه OA، شیب منحنی نمایی و ضریب اصطکاک مفصل در حرکات فلکشن و اکستنشن، ۳۰ روز پس از القای استئوآرتروز نسبت به مفصل زانوی سالم در گروه کنترل افزایش نشان داد. این افزایش نشان دهنده اختلال در سازوکارهای روانسازی مفصل است که می‌تواند شامل روان‌سازی هیدرودینامیک، روان‌سازی مرزی و تغییر شکل الاستیک مفصل باشد [۱۴]. در این ارتباط، تعداد نوسان نیز در گروه OA کاهش معنی‌دار نشان داد که نشان دهنده افزایش اصطکاک مفصل در حرکات رفت و برگشت است و می‌تواند به دلیل ضایعات تخریبی در سطح غضروف مفصل باشد [۱۴، ۱۷]. تغییر میزان اصطکاک در دو حرکت اکستنشن و فلکشن همسو بود و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد.

در روند OA، به دنبال فیبریلایسیون و خوردگی سطح غضروف، قطعات جدا شده وارد مایع سینوویال می‌شوند. این مساله باعث فراخوانی گروهی از پروتئازها و سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود. از این میان $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در پاتوژنز تخریب غضروف نقش مهمی دارند و در روند استئوآرتروز مفصل به میزان زیادی از طریق غضروف و غشای سینوویال بیان می‌شوند [۲۱، ۲۲]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد میزان $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ بین دو گروه OA و کنترل تفاوت معنی‌داری دارد. میزان $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در مدل القای OA پس از ۳۰ روز افزایش داشت که می‌تواند نشان‌دهنده روند تخریب در مفصل و بیان سیتوکین‌های التهابی مفصل باشد. افزایش میزان این سیتوکین‌ها در گروه OA به وضعیت التهابی مفصل و افزایش تخریب غضروف مفصلی و آپوپتوز کندروسیت‌ها اشاره دارد، این سیتوکین‌ها علاوه بر مهار سنتز کلاژن نوع II و گلیکوپروتئین‌های غضروف هم‌زمان موجب بیان ماتریکس متالوپروتئینازها شامل MMP1, 3, 13 نیز می‌شود [۲۳]. حضور این پروتئازها خود سبب تخریب کلاژن‌های نوع II و آسیب شبکه کلاژن-پروتئوگلیکان می‌شود که تحمل و توزیع نیرو در غضروف را مختل کرده و تخریب بیشتر را در بر خواهد

دارای همبستگی منفی معنی‌داری بودند ($P=0.0001$)، (جدول ۵ و ۶).

جدول ۵: همبستگی بین میزان $IL-1\beta$ و پارامترهای اصطکاک

$IL-1\beta$	ضریب اصطکاک	تعداد نوسان	شیب نمایی
همبستگی پیرسون	۰/۴۶۳*	-۰/۶۵۳*	۰/۵۴۳*
Sig. (2-tailed)	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

جدول ۶: همبستگی بین میزان $TNF-\alpha$ و پارامترهای اصطکاک

$TNF-\alpha$	ضریب اصطکاک	تعداد نوسان	شیب نمایی
همبستگی پیرسون	۰/۴۷۲*	-۰/۵۸۶*	۰/۵۴۸*
Sig. (2-tailed)	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از انجام این پژوهش، بررسی میزان سیتوکین‌های التهابی $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در غشای سینوویال و اصطکاک مفصل پس از القای آرتروز غیر تروماتیک در مفصل زانوی خوکچه هندی بود و برای اولین بار ارتباط تغییرات اصطکاک مفصل زانو در مدل OA با سیتوکین‌های التهابی بررسی شد. در مدل غیرتروماتیک OA بر خلاف روشهای مرسوم جراحی، تمامیت مفصل حفظ می‌شود و بی‌ثباتی ناشی از آسیب منیسک و لیگامان متقاطع قدامی ایجاد نمی‌شود. انتخاب مدل خوکچه هندی به دلیل شباهت بروز استئوآرتروز در کمپارتمان داخلی مفصل زانوی انسان بود [۳۰، ۳۱]. بررسی متغیرهای مرتبط با اصطکاک در دو حالت فلکشن و اکستنشن جداگانه انجام شد که از نگاه بیومکانیکی اهمیت دارد و در مطالعات قبل به آن توجه نشده است.

القای مدل OA سبب افزایش تورم مفصل شد که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود. با توجه به گذشت سی‌روز از تزریق MIA این افزایش تورم را نمی‌توان به پروسه التهاب ناشی از تزریق داخل مفصل نسبت داد، این موضوع در مطالعات قبل که گروه پلاسبو تزریق نرمال سالین نیز داشته اند اثبات شده است زیرا در گروه پلاسبو تورم مفصلی به وضعیت طبیعی مفصل بازگشته است [۱۹، ۲۰]. افزایش تورم مفصلی در گروه OA

نتیجه‌گیری

القای استئوآرتروز غیر تروماتیک موجب افزایش بیان سیتوکین‌های التهابی، افزایش اصطکاک و کاهش روان سازی مفصل می‌شود. ارتباط مثبت بین افزایش ضریب اصطکاک مفصل و میزان سیتوکین‌های التهابی $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ ، می‌تواند نشان دهنده نقش مهار این فاکتورها در کنترل ضایعات تخریبی استئوآرتروز باشد که باید در مطالعات آتی بررسی شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیوتراپی دانشگاه تربیت مدرس است. بدین وسیله از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

منابع

1. Davatchi F, Jamshidi A-R, Banihashemi AT, Gholami J, Forouzanfar MH, Akhlaghi M, et al. WHO-ILAR COPCORD study (stage 1, urban study) in Iran. *The Journal of rheumatology*. 2008;35: 1384-1390. [Persian]
2. Control CfD, Prevention. Racial/ethnic differences in the prevalence and impact of doctor-diagnosed arthritis--United States, 2002. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2005;54(5):119.
3. Goldring MB, Otero M. Inflammation in osteoarthritis. *Current opinioin in rheumatology*. 2011;23(5):471-478.
4. Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier J-P, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*. 2011;7.۳۳:(۱)
5. Liu-Bryan R. Synovium and the innate inflammatory network in osteoarthritis progression. *Current rheumatology reports*. 2013;15(5):323.
6. Elsaid K, Jay G, Warman M, Rhee D, Chichester C. Association of articular cartilage degradation and loss of boundary-lubricating ability of synovial fluid following injury and inflammatory arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 2005;52(6):1746-55.
7. DuRaine G, Neu CP, Chan SM, Komvopoulos K, June RK, Reddi AH. Regulation of the friction coefficient of articular cartilage by TGF- β 1 and IL-1 β . *Journal of Orthopaedic Research*. 2009;27(2):249-56.
8. Andrades JA, Motaung SC, Jiménez-Palomo P, Claros S, López-Puerta JM, Becerra J, et al. Induction of superficial zone protein (SZP)/lubricin/PRG 4 in muscle-derived

داشت [۶،۲۲]. تخریب غضروف مفصلی نیز سازوکارهای روان‌سازی مفصل را تحت تاثیر قرار می‌دهد که می‌تواند علت افزایش اصطکاک در این مطالعه، پس از القای استئوآرتروز غیر تروماتیک باشد.

نتایج ضریب همبستگی پیرسون نشان داد میزان $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ با شیب‌نمایی و ضریب اصطکاک همبستگی مثبت معنی‌دار و با تعداد نوسان، همبستگی منفی معنی‌داری دارد. این بدان معنی است که افزایش میزان $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ با افزایش شیب‌نمایی و ضریب اصطکاک و کاهش تعداد نوسان همراه است، التهاب علاوه بر آثار تخریبی که در غضروف ایجاد می‌کند باعث افزایش اصطکاک مفصلی نیز می‌شود [۲۱]. Andrades و همکارانش نشان دادند که فاکتورهای پیش‌التهابی $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ باعث کاهش میزان لوبرسین در مفصل و فاکتورهای رشد آنابولیک $BMP-2^A$ و $TGF-\beta^A$ باعث افزایش آن می‌شوند [۸]. بنابراین، با توجه به اینکه پیش‌تر نقش لوبرسین بر روان‌سازی مرزی و کاهش اصطکاک مفصل مشخص شده است احتمالاً به همین دلیل فاکتورهای التهابی، ضریب اصطکاک مفصل را افزایش می‌دهند [۲۴]. همچنین، DuRaine و همکاران نشان دادند در شرایط *in vitro* استفاده از $IL-1\beta$ باعث افزایش ضریب اصطکاک و افزایش ناهمواری در سطح غضروف مفصلی می‌شود [۶] که در خوردگی سطوح غضروف در حین حرکت و افزایش اصطکاک مفصل موثر است، همان‌گونه که در نتایج بدست آمده در این پژوهش نیز افزایش پارامترهای اصطکاک مفصل مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده، افزایش التهاب در روند پیشرفت استئوآرتروز مفصل می‌تواند موجب تخریب غضروف و افزایش اصطکاک مفصل شود و مهار بیان سیتوکین‌های التهابی از طریق روشهای درمان دارویی و فیزیکی مانند کاربرد امواج فراصوت پالسی و میدان‌های الکترومغناطیس ممکن است در کنترل التهاب و بهبود روان سازی مفصل موثر باشد که باید در مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد.

^ABone Morphogenetic Protein 2

^۹ Transforming growth factor beta

20. Chang K-V, Hung C-Y, Aliwarga F, Wang T-G, Han D-S, Chen W-S. Comparative effectiveness of platelet-rich plasma injections for treating knee joint cartilage degenerative pathology: a systematic review and meta-analysis. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2014;95(3):562-75.
21. Goldring SR, Goldring MB. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research (1976-2007)*. 2004;427:S27-S36.
22. Sokolove J, Lepus CM. Role of inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis: latest findings and interpretations. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*. 2013;5(2):77-94.
23. Wang M, Sampson ER, Jin H, Li J, Ke QH, Im HJ, Chen D. MMP13 is a critical target gene during the progression of osteoarthritis. *Arthritis Research and Therapy*. 2013;15:R5.
24. Jones A, Keohan C, Sheldon R. Regulation of lubricin expression and metabolism in synovial joints. *Eur Cell Mater*. 2006;12(suppl 1):17.
- mesenchymal stem/progenitor cells by transforming growth factor- β 1 and bone morphogenetic protein-7. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(2):R72.
9. Forsey RW, Fisher J, Thompson J, Stone MH, Bell C, Ingham E. The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials*. 2006;27(26):4581-90.
10. Nordin M, Frankel VH. *Basic biomechanics of the musculoskeletal system*: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
11. Cooke A, Dowson D, Wright V. The rheology of synovial fluid and some potential synthetic lubricants for degenerate synovial joints. *Engineering in Medicine*. 1978;7(2):66-72.
12. Jay GD, Torres JR, Rhee DK, Helminen HJ, Hytinen MM, Cha CJ, et al. Association between friction and wear in diarthrodial joints lacking lubricin. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*. 2007;56(11):3662-9.
13. Teeple E, Jay GD, Elsaid KA, Fleming BC. Animal models of osteoarthritis: challenges of model selection and analysis. *The AAPS journal*. 2013;15(2):438-46.
14. Teeple E, Fleming BC, Mechrefe AP, Crisco JJ, Brady MF, Jay GD. Frictional properties of Hartley guinea pig knees with and without proteolytic disruption of the articular surfaces. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:309-315.
15. Combe R, Bramwell S, Field MJ. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: a model of chronic nociceptive pain in rats? *Neuroscience letters*. 2004;370(2-3):236-40.
16. Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K. Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicologic pathology*. 2003;31(6):619-24.
17. Ravanbod R, Torkaman G, Esteki A. Biotribological and biomechanical changes after experimental haemarthrosis in the rabbit knee. *Haemophilia* 2011;17:124-133.
18. Ravanbod R, Torkaman G, Esteki A. Comparison between pulsed ultrasound and low level laser therapy on experimental haemarthrosis. *Haemophilia*. 2013;19(3):420-5.
19. Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K. Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicologic pathology*. 2003;31(6):619-24.

