



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

هندی

عنوان کوتاه: $IL-1\beta$, $TNF-\alpha$ 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 روانید

استادیار گروه فیزیوتراپی دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم

پزشکی

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 علایم استئوآرتروز در مردان ۴۰ درصد و در زنان ۴۷ درصد گزارش شده است [۲].

مطالعات In-vitro و In-vivo نشان داده‌اند که سلول‌های غشاء سینوویال، 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

سازی گزارش شده که به تخریب مواد روان ساز مفصل به دلیل عملکرد واسطه های التهابی نسبت داده است. اختلال در روان سازی ممکن است خود علتی برای ایجاد بیماری OA باشد. مطالعات متعددی نشان داده اند 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 مدل های 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 سیتوکین های التهابی اندازه گیری می شود و ارتباط آن با اصطکاک مفصل نیز بررسی می شود که تاکنون ارتباط بین سیتوکین های 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 مدل های تروماتیک مانند روش های 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 می شود، پیشگیری می کند. 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 سیتوکین های التهابی $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در غشای سینوئال 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 روش ها

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 می شود. هر چند سازوکار شروع این روند التهابی در استئوآرتروز کاملاً مشخص نیست اما استرس های اکسیداتیو و مکانیکال را در این روند موثر می دانند. کندروسیت ها در غضروف استئوآرتروز موجب سنتز $IL-1\beta$ می شوند که خود موجب ترشح ماتریکس متالوپروتیناز (MMPs) و فاکتور نکروز دهنده بافتی ($TNF-\alpha$) می شوند [۳]. به طور خاص $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در پروسه استئوآرتروز بیشتر از غضروف و سینوئال آزاد می شوند. همچنین، این سیتوکین ها باعث مهار بیان ژن کلاژن نوع II و پروتئوگلیکان ها در کندروسیت ها بوده و به عنوان یکی از عوامل اصلی آپوپتوز در این سلول ها مطرح است. $TNF-\alpha$ تاثیر مشابه روی غضروف مفصلی دارد و به صورت سینرژیک (هم افزا) با $IL-1\beta$ عمل می کند. [۴،۵]. التهاب و سیتوکین های ناشی از آن علاوه بر آثاری که بر غضروف ایجاد می کند باعث افزایش اصطکاک در اثر کاهش روان سازی مرزی و افزایش فعالیت ماتریکس متالوپروتیناز های مفصلی نیز می شود که عملکرد مفصل را تحت تاثیر قرار می دهد [۶،۷]. تاثیر سیتوکین ها بر کاهش SZP^2 و هیالورونیک اسید که نقش مهمی در روان سازی مفصل دارند به اثبات رسیده است [۸،۹]. مفصل سینوئال سالم علاوه بر حفظ ثبات باید توانایی قابل ملاحظه ای در انجام حرکات رفت و برگشتی^۳ تحت دامنه وسیعی از بارها و سرعت های مختلف داشته باشد. لغزندگی قابل ملاحظه مفاصل بدن با ضریب اصطکاک مفصل (COF^4) اندازه گیری می شود [۱۰]. تعامل غضروف مفصلی و مایع سینوئال با دو سازوکار کلی روان سازی مرزی^۵ و لایه نازک مایع^۶ موجب ایجاد حرکات نرم و روان در مفاصل می شود و فعالیت های روزانه مفصل با کمترین اصطکاک و روان سازی مناسب انجام می شود تا از ساییدگی غضروف مفصلی هنگام حرکت جلوگیری شود [۶،۱۰]. روان سازی ناکارآمد، غضروف مفصلی را در معرض اصطکاک و صدمات ناشی از آن قرار می دهد که خود آغازگر آبهاری از تغییرات متابولیک و ساختاری است. در نمونه های آسیب رده شده مایع مفصلی پس از تروما اختلال روان

^۱Superficial Zone Protein

^۲reciprocal

^۳coefficient of friction

^۴Boundary Lubrication

^۵Fluid Film

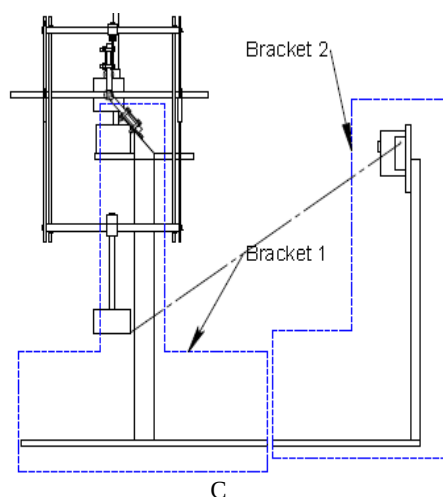
حیوانات آزمایشگاهی و با تأیید کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفت و کد تاییدیه اخلاق این پژوهش ۵۲,۳۰۶۶ است. دو گروه برای انجام این مطالعه در نظر گرفته شد که حجم نمونه برای هر گروه ۱۲ سر بود. حجم نمونه بر اساس تغییرات پارامتر اصطکاک مفصل مطالعه Teeple و همکاران روی خوکچه هندی با اطمینان ۹۵ درصد و توان آزمون ۸۰ درصد و اندازه اثر ۰/۸ و توسط نرم افزار 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 سرم سازی رازی کرج) خریداری و به محیط آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شدند. سپس خوکچه ها که در گروه های هشت تایی خریداری می شدند 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 پلی کربنات شفاف و در محیطی با دمای 23 ± 2 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی 60 ± 5 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 سرم سازی رازی کرج خریداری شد. برای رعایت اصول بهداشتی، یک روز در میان تراشه ها تعویض شدند و قفس ها به صورت هفتگی با پودر شوینده کاملاً شسته شد. برای آماده سازی مدل غیر تروماتیک OA در گروه های آزمون، از تزریق داخل مفصلی مونویدو استات (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) γ MIA 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 سی سی 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 ضد عفونی شد. محلول MIA در سرم فیزیولوژیک (۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت محلول در ۵۰ میکرو لیتر سرم

γ Monoiodoacetate (MIA)

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 اندازه گیری تورم مفصل، به جای اندازه گیری دور تا دور مفصل، قطر مفصل با استفاده از کولیس دیجیتال (کولیس دیجیتال مدل Mitutoyo 500 196-20 ساخت شرکت Mitutoyo crop ژاپن، با دقت ۰/۰۱ میلی متر) در سه ناحیه شامل ۵-۴ میلی متر بالاتر و پایین تر از خط مفصلی و همچنین بزرگ ترین قطر مفصل در صفحه ای موازی با سطح مفصلی اندازه گیری 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 می شود در اصل قسمتی است که توسط غشا، سینوویال پوشیده شده و در پروسه التهاب متورم می شود و در قدام مفصل زانو قرار می گیرد. قسمت های خلفی مفصل زانو که اندازه گیری های دورتادور مفصل شامل آنها هم می شود اصولاً توسط بافت عضلانی پوشیده می شود که آتروفی آنها می تواند 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 اندازه گیری شد. در گروه کنترل هیچ تداخلی انجام نشد و مفصل زانوی سالم حیوان، برای مقایسه تغییرات سیتو کین ها 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 سی ام [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 کپسول مفصلی برای آزمایش اصطکاک آماده شد. برای اندازه گیری 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



شکل ۱: نرم افزار دستگاه سنجش اصطکاک مفصل. نوسان آزاد مفصل زانو در دستگاه سنجش اصطکاک سی روز پس از القای استئوآرتروز A: گروه کنترل B: گروه OA. محور افقی زمان و محور عمودی زاویه انحراف دستگاه را نشان می دهد. 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 سیتوکین ها جدا شدند. غشا سینوویال در داخل میکروتیوب و در دمای ۸۰- نگهداری شد.

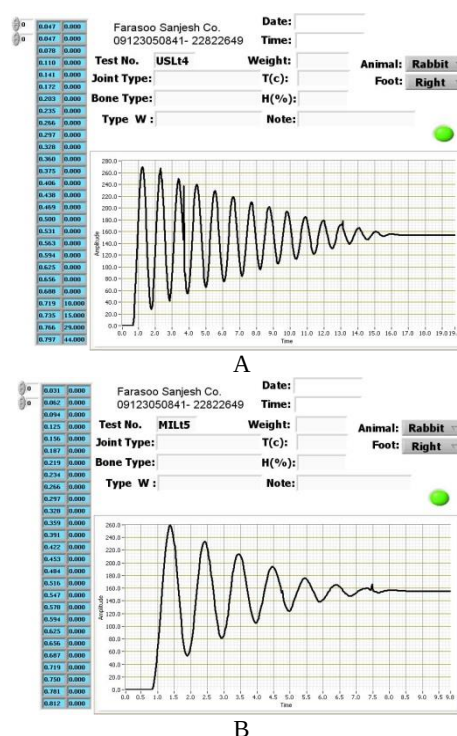
برای سنجش سیتوکین ها به بافت های منجمد شده بافر فسفات نمکی (PBS) حاوی آنی پروتئاز اضافه شد. سپس به وسیله دستگاه هموژن کننده، غشاء سینوویال لیز و به صورت مایع شیری رنگ درآمد. پس از سانتریفیوژ کردن محتویات میکروتیوب در دمای ۴ درجه سانتیگراد (۱۴۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه) مایع رویی به منظور سنجش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

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

برای تجزیه و تحلیل داده ها ابتدا طبیعی بودن توزیع داده ها با آزمون شاپیرو-ویلک تأیید شد ($P > 0.05$)، سپس از آزمون های 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 ارتباط سنجی بین متغیرهای التهاب و اصطکاک

نوسان آزاد حول مفصل زانو را مشخص می نماید، [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 گیره های 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 نرم افزار 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 نمونه ای از نوسانات ثبت شده در دو گروه را نشان می دهد.



جدول ۲: متغیرهای اصطکاک مفصل زانودر حرکت اکستنشن

متغیر	OA		ارزش P
	(Mean±SD)	کنترل (Mean±SD)	
شیب منحنی نمایی	۰/۱۶۶۷±۰/۰۵	۰/۰۶۴۵±۰/۰۴	۰/۰۰۰۱
تعداد نوسان	۸/۷۵±۱/۲۲	۱۴/۰۰±۲/۰۰	۰/۰۰۰۱
ضریب اصطکاک	۰/۴۸±۰/۰۸	۰/۳۸±۰/۰۷	۰/۰۰۰۷

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

متغیر	OA		ارزش P
	(Mean±SD)	کنترل (Mean±SD)	
شیب منحنی نمایی	۰/۱۴۹۶±۰/۰۴	۰/۰۴۸۵±۰/۰۳	۰/۰۰۰۱
تعداد نوسان	۸/۷۵±۱/۲۲	۱۴/۰۰±۲/۰۰	۰/۰۰۰۱
ضریب اصطکاک	۰/۵۵±۰/۰۹	۰/۴۷±۰/۰۶	۰/۰۱

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 سینیال در مفصل زانو (Mean±SD)

متغیر	OA		ارزش P
	(Mean±SD)	کنترل (Mean±SD)	
IL-1 β پیکوگرم/میلی لیتر	۷۱۳,۹۹ ±	۳۴۴,۳۳ ±	۰/۰۰۰۱
TNF- α پیکوگرم/میلی لیتر	۶۷,۳۷ ±	۳۳,۳۶ ±	۰/۰۰۰۱

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	
	روزی (Mean±SD)	روز ۳۰ (Mean±SD)
وزن (گرم)	۶۶۰/۲۵±۲۱/۱۸	۵۳۴/۱۷±۱۴/۸۰
کنترل	۴۵۵/۴۲±۱۶/۳۲	۵۲۵/۵۸±۱۷/۹۶
قطر مفصل (میلی متر)	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 $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ 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 $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ 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 غیر تروماتیک 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- $\beta 1$ and IL- 1β . 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 [۲۹]. 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 [۲۰،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 [۷] 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.

