

مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی - ۷۰ در مایع سینویال بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و اوستئوآرتریت

چکیده

زمینه و هدف: بافت سینویال بیماران آرتریت روماتوئید به صورت پروسه التهابی مزمن است که سبب تغییر در هموستاز سلولی شده که به آسیب بافتی منجر می‌شود اگر چه سلول T و آنتی بادی علیه HSP60 در پاتوژنز آرتریت روماتوئید دخیل است ولی نقش پروتئین شوک حرارتی - ۷۰ هنوز کاملاً واضح نمی‌باشد. در این مطالعه سطح پروتئین شوک حرارتی در مایع سینویال بیماران آرتریت روماتوئید و اوستئوآرتریت مقایسه می‌گردد. **روش بررسی:** مایع سینویال مفصل زانوی ۳۴ بیمار مبتلا به اوستئوآرتریت با میانگین سنی ۵۹/۵۹±۹/۰۱ (۲۱ زن و ۱۳ مرد) که دارای افیوژن زانو می‌باشند و از یک‌ماه قبل داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف نموده‌اند و ۳۴ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید ساکن تهران با میانگین سنی ۴۹/۲۴±۱۲/۴۶ سال (۲۵ زن و ۹ مرد) که تحت درمان با متوترکسات و کلروکین و پردنیزولون دوز کمتر از ۱۵ میلی‌گرم بوده و داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف نموده‌اند، مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در مایع مفصلی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید به‌طور قابل توجهی از بیماران مبتلا به اوستئوآرتریت بالاتر بوده است و سطح ماده فوق در بیماران دچار دردهای مکانیکال زانو توام با افیوژن غیر التهابی بوده مشابه بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید می‌باشد. **نتیجه‌گیری:** سطح پروتئین شوک حرارتی در اوستئوآرتریت پائین‌تر است که بیانگر فقدان نقش این ماده در پاتوژنز اوستئوآرتریت می‌باشد. با توجه به اینکه سطح این پروتئین در مایع مفصل مبتلایان به آرتریت روماتوئید مشابه سطح بیماران مبتلا به اوستئوآرتریت می‌باشد نقش عوامل سیتوکین را در افزایش ماده فوق مطرح می‌سازد.

کلمات کلیدی: اوستئوآرتریت، آرتریت روماتوئید، پروتئین شوک حرارتی.

فرهاد غریب دوست، فریده صمدی*
رضا تقی پور، محمود اکبریان
فرهاد شهرام، عبدالهادی ناجی
احمدرضا جمشیدی، فریدون دواچی

مرکز تحقیقات روماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی
تهران

*نویسنده مسئول: تهران، بلوار شهید تندگویان،
بیمارستان امیر المومنین تلفن: ۵۵۳۶۶۳۳-۵۵۳۶۳۵۰
email: samadi_rheu@yahoo.com

مقدمه

لوپوس دخیل باشند.^۱ در اثر بیماری آرتریت روماتوئید پروسه التهابی مزمنی ایجاد می‌گردد که منجر به تغییر هموستاز سلولی گردیده و در نهایت باعث آسیب بافتی می‌گردد. در بافت سینویال ملتهب بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید عوامل استرسور متفاوتی وجود دارد که هر کدام قادر به ایجاد واکنش استرس و نمایش پروتئین شوک حرارتی می‌شوند.^۲ از جمله این عوامل سیتوکینهای پیش التهابی مثل IL-1 TNF- α می‌باشند که در بروز پدیده التهاب و تخریب نقش دارند. آزادی مداوم سیتوکینهای پیش التهابی و نیز داروهای ضد التهابی سبب رخداد شرایط غیرنرمال برای سلول سینویال شده که منجر به نمایش پروتئینهای شوک حرارتی می‌گردد^۳ علاوه بر این سلولهای سینویال مانند سلول اندوتلیال در معرض شدت بالای استرسهای مکانیکی ناشی از حرکت مفصل می‌باشد استرسهای

پروتئین شوک حرارتی (Heat shock protein) اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط Ritossa معرفی شد. Ritossa نشان داد که در اثر حرارت باز آرای کرماتین حشره میوه به‌نام *Drosophila buschii* ایجاد می‌شود و نتیجه‌گیری نمود که ژنهای سنتزکننده این ماده در اثر حرارت فعال می‌شوند لذا آنرا پروتئین شوک حرارتی نامید.^۱ پروتئین شوک حرارتی در سلولهای نرمال وجود داشته و از ایجاد ساختمان فضایی نادرست که در اثر چین‌خوردن غلط پروتئین‌ها ایجاد می‌شود جلوگیری می‌کند^۲ ولی در اثر استرسهای بیولوژیک و مواد شیمیایی سمی و التهاب افزایش یافته در حفاظت سلول در برابر استرس‌ها مفید است.^۳ این پروتئین‌ها ایمونوزن قوی بوده و می‌توانند در پاتوژنز بیماری‌های اتوایمیون مانند دیابت، آرتریت روماتوئید و

طرح از بیمار رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. به‌علاوه با توجه به استریل بودن تکنیک و فقدان نیاز برای درمان دارویی پس از انجام درناژ این عمل عارضه‌ای برای بیمار نداشته به‌علاوه انجام مطالعه رایگان بوده و حتی در مواردی که بررسی مایع مفصل جزئی از روند تشخیص و درمان است از بیمار هزینه‌ای دریافت نگردید.

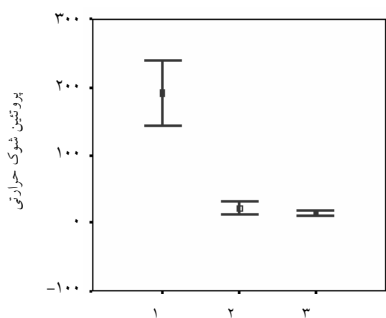
یافته‌ها

۳۴ بیمار آرتریت روماتوئید با میانگین سنی $۴۹/۲۴ \pm ۱۲/۴۶$ سال (۲۵ زن و ۹ مرد) با ۳۴ بیمار مبتلا به اوستئوآرتریت زانو با میانگین سنی $۵۹/۰۱ \pm ۹/۰۱$ (۲۱ زن و ۱۳ مرد) مقایسه گردیدند. میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در مایع مفصلی بیماران آرتریت روماتوئید $۱۵۶/۳۰ \pm ۱۲۸/۵۱$ و در اوستئوآرتریت $۱۴/۹۸ \pm ۱۱/۵۸$ بود که براساس آزمون آماری independent t-test با هم اختلاف قابل توجه ($p < ۰/۰۰۱$) دارند (نمودارهای ۱ و ۲). در بین بیماران آرتریت روماتوئید هفت بیمار دچار دردهای مکانیکال زانو توام با افیوژن غیر التهابی بودند که میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ مایع مفصلی بیماران فوق $۲۱/۹۳ \pm ۱۰/۰۶$ بود و در ۲۷ بیمار دچار عود التهابی مفصل زانو که میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ مایع مفصلی $۱۹۱/۱۴ \pm ۱۲۱/۷۳$ بود. از طرفی در ۳۴ بیمار اوستئوآرتریت میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ معادل $۱۴/۹۸ \pm ۱۱/۵۸$ به‌دست آمد. در ارزیابی ارتباط بین متغیرهای فوق با استفاده از آزمون one-way ANOVA و آزمون تکمیلی Dunnett' C بین گروه‌های دردهای مکانیکال و التهابی زانو در بیماران آرتریت روماتوئید اختلاف معنی‌دار می‌باشد. ($p < ۰/۰۰۱$) از طرفی در بین سطح پروتئین شوک

مکانیکی اثر عمیقی بر روی متابولیسم سلول سینویال دارد.^۷ این مطالعه جهت مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و اوستئوآرتریت انجام گردید.

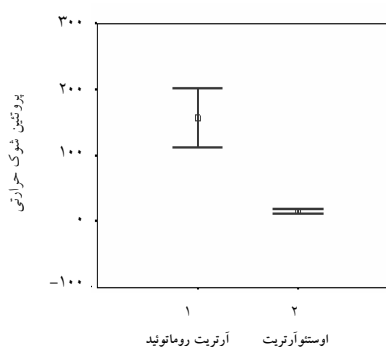
روش بررسی

جهت مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی مایع مفصل بیماران مبتلا به اوستئوآرتریت و آرتریت روماتوئید مطالعه فوق به‌روش موردی-شاهدی انجام شد. ۳۴ بیمار مبتلا به اوستئوآرتریت ساکن تهران (طبق معیار ACR) که دارای مایع مفصلی زانو می‌باشند و از یک‌ماه قبل داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف ننموده‌اند و ۳۴ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید ساکن تهران که تحت درمان با داروهای زمینه و پردنیزولون دوز کمتر از ۱۵ میلی‌گرم بوده و داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف ننموده‌اند. مایع سینویال از مفصل زانو از ناحیه سوپرا پاتلار با تکنیک استریل درناژ گردید. آنالیز مایع مفصلی از نظر شمارش گلبول‌های سفید مایع سینویال با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ انجام شد سپس مایع مفصلی در درجه حرارت مناسب نگهداری شد و پس از اتمام جمع‌آوری نمونه‌ها سنجش سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ با روش الیزا توسط کیت StressXpress از کارخانه Stressgen Biotechnologies کانادا انجام گردید. نتایج با برنامه نرم افزار آماری SPSS ویراست دهم آنالیز گردید. مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در بیماران اوستئوآرتریت و آرتریت روماتوئید با روش t-test انجام شد و سایر موارد که مقایسه چند گروهی بود با روش ANOVA و روش‌های تکمیلی آزمون تکمیلی Dunnett' C آنالیز گردید. در ابتدای کار پس از توضیح کامل در مورد



اوستئوآرتریت (۱) آرتریت روماتوئید (غیر التهابی) (۲) آرتریت روماتوئید (التهابی)

نمودار-۲: مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی در مایع مفصلی مکانیکی و التهابی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و اوستئوآرتریت



نمودار-۱: مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و اوستئوآرتریت

از حد پروتئین شوک حرارتی ۲۷ و ۷۲ در بافت غضروفی دیسک جنینی و دژنره افراد مسن وجود دارد نمایش انواع مختلف پروتئین-های شوک حرارتی ۲۵ و ۴۷ و ۷۰ و ۹۰ در ناحیه هیپرتروفیک در طی تشکیل استخوان افزایش می‌آید. پروتئین‌های شوک حرارتی در حین اپوپتوز افزایش می‌یابد پروتئین شوک حرارتی - ۷۰ در internal derangement TMJ بالاتر از گروه کنترل بوده است.^{۱۰} در مطالعات انسانی انجام شده افزایش فعالیت سطح آنتی‌بادی علیه شوک حرارتی را در مایع مفصلی بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید نیز نشان داده‌اند و آن‌را به‌عنوان اتو آنتی‌ژن مطرح نموده‌اند.^{۱۱} سطح پروتئین شوک حرارتی در بافت سینویال بیماران آرتريت روماتوئید افزایش می‌یابد.^۸ در مطالعه اخیر نیز سطح پروتئین شوک حرارتی در مایع سینویال بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید بالاتر از بیماران مبتلا به اوستئوآرتريت می‌باشد. مطالعه موجود نشان داده است که سطح پروتئین شوک حرارتی در مایع مفصل بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید که مایع مفصلی زانو آنان غیرالتهابی است مشابه سطح پروتئین شوک حرارتی بیماران اوستئوآرتريت بوده. لذا به‌نظر می‌رسد بین فعالیت بیماری آرتريت روماتوئید با سطح پروتئین شوک حرارتی رابطه مستقیمی وجود داشته باشد که باید در مطالعات بعدی این ارتباط به‌طور دقیق‌تر مورد ارزیابی قرار گیرد.

حرارتی در آرتريت روماتوئید با علل مکانیکال افیوژن زانو و اوستئوآرتريت و همچنین بین سن و جنس و سطح پروتئین شوک حرارتی - ۷۰ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

بحث

در مطالعه انجام شده توسط Schett افزایش نمایش پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در بافت سینویال آرتريت روماتوئید در مقایسه با اوستئوآرتريت نشان داده شده است که بیانگر استرس سلولی دخیل در آرتريت روماتوئید است.^۸ افزایش نمایش پروتئین شوک حرارتی - ۷۰ با فعالیت فاکتور شوک حرارتی و ژن ترانس کریپتاسیون - ۷۰ همراه است. سیتوکینهای پیش التهابی مثل IL1-IL6-TNF و استرس‌های shear می‌تواند پروتئین شوک حرارتی - ۷۰ را ایجاد نماید. در مطالعه انجام شده توسط Auger نشان داده شده است که Bip که جزئی از پروتئین شوک حرارتی می‌باشد اندیکاتور اصلی استرس سلولی بوده و به‌عنوان اتو آنتی‌ژن در آرتريت روماتوئید مطرح می‌باشد. اتو آنتی‌بادی علیه Bip در ۶۳٪ افراد مبتلا به آرتريت روماتوئید دیده می‌شود.^۹ در مطالعات انجام شده توسط Tsuneaki نشان داده شده است که سطح HSP70 با شدت اوستئوآرتريت در انسان و فاکتورهای مکانیکال و بیولوژیک مرتبط است.^۴ نمایش بیش

References

- Leonardi R, Caltabiano M, Cascone P, Loreto C. Expression of heat shock protein 27 (HSP27) in human temporomandibular joint discs of patients with internal derangement. *J Craniofac Surg* 2002; 13: 713-7.
- Loones MT, Morange M. Hsp and chaperone distribution during endochondral bone development in mouse embryo. *Cell Stress Chaperones* 1998; 3: 237-44.
- Alexandrov VY. Functional aspects of cell response to heat shock. *Int Rev Cytol* 1994; 148: 171-227.
- Tsan MF, Gao B. Cytokine function of heat shock proteins. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286: C739-44.
- Koller M, Hensler T, Konig B, Prevost G, Alouf J, Konig W. Induction of heat-shock proteins by bacterial toxins, lipid mediators and cytokines in human leukocytes. *Zentralbl Bakteriologie* 1993; 278: 365-76.
- Brennan FM, Maini RN, Feldmann M. TNF alpha: a pivotal role in rheumatoid arthritis? *Br J Rheumatol* 1992; 31: 293-8.
- Davies PF, Tripathi SC. Mechanical stress mechanisms and the cell. An endothelial paradigm. *Circ Res* 1993; 72: 239-45.
- Schett G, Redlich K, Xu Q, Bizan P, Gröger M, Tohidast-Akrad M, et al. Enhanced expression of heat shock protein 70 (hsp70) and heat shock factor 1 (HSF1) activation in rheumatoid arthritis synovial tissue. Differential regulation of hsp70 expression and hsf1 activation in synovial fibroblasts by proinflammatory cytokines, shear stress, and antiinflammatory drugs. *J Clin Invest* 1998; 102: 302-11.
- Auger I, Lepecuchel L, Roudier J. Interaction between heat-shock protein 73 and HLA-DRB1 alleles associated or not with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 929-33.
- Takao T, Iwaki T. A comparative study of localization of heat shock protein 27 and heat shock protein 72 in the developmental and degenerative intervertebral discs. *Spine* 2002; 27: 361-8.
- Oda A, Miyata M, Kodama E, Satoh H, Sato Y, Nishimaki T, et al. Antibodies to 65Kd heat-shock protein were elevated in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 1994; 13: 261-4.

Heat shock protein 70 level of synovial fluid in rheumatoid arthritis versus osteoarthritis: a comparative study

Abstract

Gharibdoost F.
Samadi F. *
Taghipoor R.
Akbarian M.
Shahram F.
Nadji A.
Jamshidi A R.
Davatchi F.

Rheumatology research center,
Tehran University of Medical
Sciences

Background: Heat-shock proteins are part of a strictly controlled biological system that allows organisms to respond to environmental stresses. Different proinflammatory cytokines are present in the synovial tissue of rheumatoid arthritis patients. Such tissues respond to stress and induce heat-shock proteins. In addition, synovial cells are exposed to mechanical stress caused by joint motion. The effects of mechanical stress on the metabolism of the synovial cells may be substantial, even pathogenic. Heat-shock proteins are often implicated in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Here, we compare the levels of heat-shock protein 70 from the synovial fluid of rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients.

Methods: Synovial fluid samples from 34 rheumatoid arthritis patients and 34 osteoarthritis patients were analyzed for heat-shock protein 70 by an ELISA method. Statistical analysis was performed using independent T-test and one-way ANOVA. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results: The mean value of synovial fluid heat-shock protein 70 levels in rheumatoid arthritis patients was 156.30 ± 128.51 and that of osteoarthritis patients was 14.98 ± 11.58 . The differences were statistically significant at $p < 0.0001$. For seven rheumatoid arthritis patients suffering from mechanical knee pain, synovial fluid analysis revealed non-inflammatory effusion. The mean value of synovial fluid heat-shock protein 70 level in inflammatory synovial fluid of rheumatoid arthritis patients was significantly higher at 191 ± 121.73 and that of non-inflammatory synovial fluid from rheumatoid arthritis patients was 21.93 ± 10.06 ($p < 0.05$).

Conclusion: The level of heat shock protein 70 is higher in inflammatory arthritis than in non-inflammatory arthritis. Considering that patients with rheumatoid arthritis are known to have a hypertrophic synovial-lining layer, and that heat-shock protein 70 is known to protect cells against a variety of toxic conditions as well as apoptotic death, further research is needed to determine if heat-shock protein 70 induction is a sign of significant changes in the cellular and tissue metabolism or is actively participating in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.

Keywords: Osteoarthritis, rheumatoid arthritis, heat shock protein 70.

* Corresponding author: Tondgoyan highway, Amiralmomenin Hospital, assistance professor of Azad University, Tehran
Tel: +98-21-55346263
email: samadi_rheu@yahoo.com