

مطالعه میزان التهاب ایجاد شده ناشی از تزریق داخل مفصلی کائولین در خرگوش طی زمانهای مختلف

علیرضا فلاح‌زاده * علی میرزایی ** دکتر سعیده حق‌بین *** اردشیر افراسیابی فر **** مهدی زاهدی خراسانی *****

چکیده

عنوان نشانه‌ای جهت پروتئینهای خارج شده از عروق به بافتها می‌باشد جهت بررسی مدت زمانی که کائولین حداکثر التهاب را ایجاد می‌کند، اثر التهاب‌زایی کائولین پس از گذشت ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ و ۶۴ ساعت از زمان تزریق مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که کائولین ۴٪ در مدت زمان ۳ ساعت حداکثر التهاب را در مفصل زانوی خرگوش ایجاد می‌کند و میزان التهاب پس از این زمان به تدریج کاهش می‌یابد.

اگرچه التهاب یکی از مسائل مهم در جوامع پزشکی محسوب می‌شود، ولی عوامل اصلی ایجاد التهاب در بافتها به طور کامل شناخته نشده‌اند. روند التهاب مکانیسم پیچیده‌ای است که در آن انواع سلولها، آنزیمها و واسطه‌های شیمیایی دخالت دارند. برای مطالعه بیشتر بر روی پدیده التهاب لازم است که آن را در حیوانات آزمایشگاهی و به صورت تجربی ایجاد کرد. یکی از موادی که برای این منظور به کار می‌رود، کائولین است. این ماده از جمله مواد شیمیایی است که می‌تواند باعث آسیب سلولنی و التهاب گردد. کائولین خاک رسی است که اساساً از سیلیکات آلومینیم تشکیل شده و جذب‌کننده رطوبت می‌باشد و توسط بسیاری از پژوهشگران جهت ایجاد التهاب حاد مورد استفاده قرار گرفته است. در این تحقیق مدت زمانی که کائولین ۴٪ حداکثر التهاب را در مفصل زانوی خرگوش ایجاد می‌کند مورد بررسی قرار گرفت. حیوان مورد استفاده در این تحقیق خرگوش بود که ابتدا به وسیله اثر بیهوش شده و ماده رنگی ایوانسینلو به میزان ۵mg/kg به ورید مارژینال گوش حیوان تزریق می‌شد. سپس جهت ایجاد التهاب حاد در مفصل زانوی حیوان کائولین ۴٪ به صورت تزریق داخلی مفصلی به کار برده شد. ایوانسینلوی تزریق شده به

واژه‌های کلیدی: کائولین، التهاب، مفصل

زانو

- * مربی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج - دانشکده پزشکی - گروه فیزیولوژی
- ** مربی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج - دانشکده پزشکی - گروه بیوشیمی
- *** استادیار و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج - دانشکده پزشکی گروه اطفال
- **** مربی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج - دانشکده پرستاری
- ***** دکترای فیزیولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی

مقدمه

واکنش التهاب بیشتر در ارتباط با سیستم ایمنی و عروقی می باشد. فعال شدن سیستم ایمنی باعث جذب لوکوسیت ها به ناحیه التهابی شده و در پی آن سبب آزاد شدن واسطه هایی می شود که بر روی واکنش های التهابی و سیستم عروقی مؤثر هستند. معمولاً باکتریها یا سایر میکروبها را علت التهاب می دانند، ولی تقریباً تمامی عواملی که باعث آسیب سلولی می شوند می توانند باعث ایجاد التهاب نیز بشوند (۱)؛ در این میان می توان به عوامل شیمیایی اشاره کرد. مواد شیمیایی که می توانند باعث آسیب سلولی شوند بسیار زیاد هستند، از جمله این مواد شیمیایی کائولین است که می تواند باعث آسیب سلولی و التهاب گردد (۲ و ۳). نظر به اینکه مفصل در اندامها، فضای بافتی کاملاً مشخصی دارد مطالعه در مورد التهاب در این ناحیه به راحتی امکان پذیر می باشد. همچنین با توجه به اینکه در حدود ۱/۵ درصد از جمعیت جهان از التهاب مفاصل رنج می برند اهمیت اینگونه مطالعات روشن می شود. امروزه برای اینکه بتوان پدیده التهاب را بهتر و دقیق تر مورد بررسی قرار داد از شیوه های تجربی ایجاد التهاب استفاده می شود. برای تحقق این منظور از روش ها و حیوانات گوناگون استفاده می گردد که از جمله می توان به استفاده از کائولین یا کاراگنین و ایجاد التهاب حاد در موش صحرایی، گربه و خرگوش اشاره کرد (۴ و ۵). در مطالعه حاضر از کائولین و ایجاد التهاب حاد در مفصل زانوی خرگوش استفاده گردید. جهت مطالعه بر روی التهاب حاد حاصل از تزریق کائولین به مفصل زانوی خرگوش و همچنین بررسی اثرات مواد دارویی و شیمیایی، لازم است زمانی را بدست آورد که کائولین بیشترین اثر خود را اعمال می کند که این تحقیق بدین منظور (بدست آوردن مدت زمانی که لازم است تا کائولین حداکثر فعالیت

التهاب زایی خود را در مفصل زانوی خرگوش نشان دهد) انجام گرفت.

مواد و روشها

حیوان مورد آزمایش خرگوش سفید (نژاد Doch) از جنس نر و با وزن ۱/۵ تا ۲ کیلوگرم بود و در هر گروه حداقل ۵ خرگوش مورد آزمایش قرار گرفت. ابتدا حیوان با اتر بیهوش شد. سپس ماده رنگی ایوانس بلو به میزان ۷۵mg/kg به صورت محلول در ۲ml سالین نرمال به ورید ماژینال گوش حیوان تزریق گردید؛ سپس در همان زمان شروع آزمایش ماده التهاب زای کائولین به صورت محلول ۴٪ به میزان ۱ml با استفاده از سرنگ انسولینی به درون کپسول مفصلی پای حیوان تزریق شد. پس از گذشت ۲، ۴، ۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت حیوان مجدداً با اتر بیهوش و با بریدن شریان کاروتید کشته شد؛ سپس با کمک وسایل جراحی کپسول جلویی و پشتی از محل اتصال به استخوانها جدا شد و پس از قطعه قطعه شدن درون ظروف شیشه ای به حجم ۳۰ml حاوی ۶ml سولفات سدیم ۱٪ و ۱۴ml استون خالص قرار گرفت. به منظور خروج بهتر ایوانس بلو از بافت کپسول، شیشه های مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با درجه متوسط قرار داده شد؛ سپس محلول هر یک از شیشه ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از سانتریفوژ جذب نوری محلول رویی در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری شد و با استفاده از فرمول زیر مقدار ماده رنگی موجود در بافت کپسول برحسب میکروگرم در ۱۰۰ میلی گرم بافت محاسبه گردید:

$\text{حجم حلال} \times \text{بکریانین} \times \text{تخلخل بافت} = (\text{میلی گرم بافت} / \text{میکروگرم ایوانس بلو}) \times ۱۰۰$

در فرمول فوق، گرادیان با استفاده از جذب نوری غلظتهای مختلف محلول رنگی ایوانس بلو در

طول موج ۶۲۰ نانومتر و تهیه منحنی استاندارد محاسبه شده و مقدار ۱۳/۲۴ به دست آمده است (۶). به منظور مقایسه و تجزیه و تحلیل آماری نتایج از آزمون آماری آنالیزواریانس (ANOVA) و t-test استفاده گردید. نتایج با $P < 0/05$ معنی دار لحاظ گردید.

یافته‌ها

کائولین پس از تزریق به مفصل زانو باعث شروع روند التهاب در این موضع شده و بتدریج غلظت واسطه‌های شیمیایی، ایمنی و سایر مواد مؤثر در التهاب در ناحیه مفصل افزایش می‌یابد. غلظت واسطه‌های التهاب‌زا پس از گذشت چهار ساعت در ناحیه مفصل به حداکثر خود رسیده و با توجه به اینکه بیشتر این عوامل باعث افزایش نفوذپذیری عروق شده و برخی به عنوان یک عامل کیموتاکتیک برای گلبولهای سفید عمل می‌کنند، در این زمان بیشترین میزان التهاب را داریم. التهاب پس از گذشت چهار ساعت از زمان تزریق کائولین بتدریج کاهش می‌یابد (نمودار ۱). در واقع پس از گذشت چهار ساعت واکنشهای جبرانی در بدن بر فعالیت‌های التهابی غلبه کرده و به تدریج باعث سرکوب و کاهش عوامل التهابی می‌گردند و به این صورت التهاب در ساعات بعدی کاهش می‌یابد.

بحث و نتیجه‌گیری

التهاب در مفاصل می‌تواند در اثر وجود برخی مواد خارجی از جمله کائولین درون بافت سینوویال و یا در حفره سینوویال پدید آید. خاصیت شیمیایی و فیزیکی این مواد قادر است برخی از ایمونوگلوبولینها یا اندوتوکسینها را به خود جذب نماید. این مواد خارجی توسط سلولهای چند هسته‌ای در حفره سینوویال بلعیده شده و به آزاد شدن واسطه‌های التهابی منجر می‌گردد.

پاسخ‌های التهابی در تزریق ذرات خارجی به لوکوسیت‌ها وابسته است. پس از تزریق کائولین به داخل مفصل غلظت اسید لاکتیک ناشی از سوخت و ساز لوکوسیت‌ها افزایش می‌یابد، در نتیجه فشار داخل مفصل زیاد و PH مایع سینوویال کم می‌شود. بعضی از لوکوسیت‌ها در جریان پدیده فاکوسیتوز از بین می‌روند و نتیجه آن رها شدن آنزیمهای هیدرولیتیک و فرآورده‌های داخل سلولی به فضای مفصلی و تشدید التهاب می‌باشد (۸،۷،۴). از جمله عوامل مؤثر در ایجاد التهاب مواد رگ‌گشا* هستند. این مواد واسطه‌های شیمیایی هستند که باعث گشادی و افزایش نفوذپذیری عروق می‌شوند و از مهمترین این مواد می‌توان به کینین‌ها و پروستاگلاندین‌ها اشاره کرد که غلظت این مواد در اگزودای التهابی زیاد بوده و باعث اتساع عروق و افزایش ادم می‌گردد. ساخته شدن این مواد با تجویز داروهای ضدالتهابی کاهش می‌یابد (۸،۷). با توجه به مطالب فوق و نتایج بدست آمده، کائولین تزریقی به مفصل زانو در خرگوش باعث تحریک عوامل مولد التهاب شده و این عوامل حداکثر فعالیت خود را در طول زمان چهار ساعت نشان می‌دهند و در این زمان التهاب در موضع به اوج خود خواهد رسید. کاهش روند التهاب پس از گذشت چهار ساعت از زمان تزریق کائولین احتمالاً ناشی از عوامل زیر می‌باشد. مقداری از کائولین توسط گلبولهای سفید فاگوسیتوز شده و یا در اثر عمل آنزیمها و یا سایر مواد واکنش‌کننده موجود در ناحیه مفصل از شدت عمل آن کاسته می‌گردد. با کاهش غلظت و فعالیت ماده التهاب‌زا در محل ضایعه، واسطه‌های التهابی نیز در محل کاهش می‌یابند. علاوه بر این ممکن است با گذشت زمان حساسیت مکانیسم‌های مؤثر در بازجذب و یا

* Vasoactive substances

vasoconstriction in normal and acutely inflamed rabbit knee joints. *Exp Physiol* 1994; 79: 93-101.

7- Mc Carty DJ. Arthritis and allied conditions. New York: Lea and Febiger 1989; p.207-481.

8- Schumacher HR, Klippel JH, Robinson DR. Primer on the rheumatic. New York: Arthritis Foundation, 1988; p.1-44.

9- Scott DT, Lam FY, Ferrel WR. Acute inflammation enhances substance P-induced plasma protein extravasation in the rat knee joint. *Regulatory Peptides* 1992; 39: 227-235.

10- Khoshbaten A, Haji-Hashemi S. Assessment of inflammatory effect of carrageenan on the rabbit knee joint. Thesis 1994; 42-51.

حذف واسطه‌های التهابی افزایش یابد که این موضوع نیز سبب محدود شدن پاسخ التهابی می‌گردد (۱۰،۹).

تشکر و تقدیر

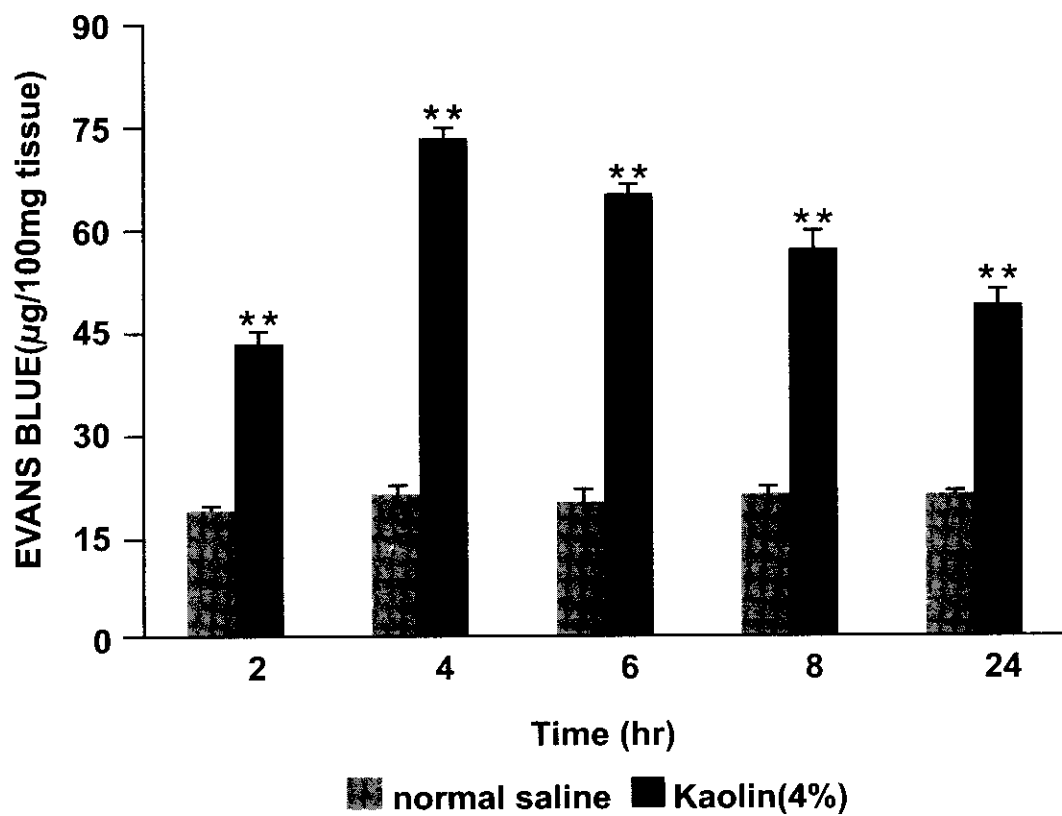
از آقای علی اکبر احمد زاده و سایر همکارانی که در این تحقیق ما را یاری کردند تشکر می‌گردد.

References

- 1- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease. Philadelphia: I.E. Saunders, 1989; p. 1-86.
- 2- Khoshbaten A, Ferrell WR. Responses of blood vessels in the rabbit knee to acute joint inflammation. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 540-544.
- 3- Gray E, Ferrell WR. Acute joint inflammation alters the adrenoceptor profile of synovial blood vessels in the knee joints of rabbits. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 1129-1133.
- 4- Santer V, Sriratana A, Lowther DA. Carrageenan induced arthritis: a morphological study of the development of inflammation in acute arthritis. *Arthritis Rheum* 1983; 13: 160-169.
- 5- Okuda K, Nakahama H, Migakawa H, Shima K. Arthritis induced in cat by sodium urate: a possible model for tonic pain. *Pain* 1984; 18: 287-298.
- 6- Najafipour H, Ferrell WR. Role of prostaglandins in regulation of blood flow and modulation of sympathetic

جدول ۱: میزان ایوانس بلوی اندازه‌گیری شده در کیسول مفصلی زانوی فرگوش
 بر ماسب میکروگرم در ۱۰۰ میلی‌گرم بافت طی ۲، ۴، ۸، و ۲۴ ساعت
 ($p < 0.01$, $n = 5$)

انحراف معیار	میانگین میزان ایوانس بلو در کیسول مفصلی	گروهها	زمان بر حسب ساعت
۱/۹۲	۴۳/۳۶	آزمایش	۲
۱/۴۴	۱۸/۲۴	کنترل	
۲/۰۸	۷۲/۸۸	آزمایش	۴
۱/۲۳	۲۱/۱۲	کنترل	
۱/۹۲	۶۴/۹۳	آزمایش	۶
۱/۵۵	۲۰/۱۵	کنترل	
۳/۱۴	۵۶/۵۶	آزمایش	۸
۰/۹۹	۲۱/۱۱	کنترل	
۲/۱۳	۴۸/۹۲	آزمایش	۲۴
۰/۶۴	۲۰/۸۵	کنترل	



نمودار ۱: پاسخ التهابی ایجاد شده در کپسول مفصلی زانوی خرگوش ناشی از تزریق

کائولین ۴٪ پس از زمان ۲، ۴، ۶، ۸ و ۲۴ ساعت. (**P < ۰/۰۱)