Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

ارزیابی اثر ترمیمی عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم «Psidium Guajava» برای آرتروز «osteoarthritis» در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی

چکیده

زمینه: آرتروز (OA) یکی از چالش‌های سلامت بشری است که به علت درد مزمن، سفتی، اختلال در خواب و افسردگی منجر به ناتوانی می‌شود. از میان محصولات گیاهی میوه گوآوا پسیدیوم به دلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به عنوان یک داروی طبیعی محسوب شود. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر شفابخش میوه گوآوا پسیدیوم برای آرتروز زانو در موش بزرگ سفید آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعهٔ تجربی، چهل موش بزرگ سفید آزمایشگاهی «Sprague-Dawley» با آرتروز ناشی از تزریق داخل مفصلی ۵۰۰ واحد (500 U) از کلاژناز نوع ۲ در زانوی چپ، در چهار گروه درمانی ۱۰ تایی قرار گرفتند: گروه ۱ کنترل، گروه ۲ پیاسکیلیدین (۱۰ mg/kg) به عنوان گروه شاهد مثبت، گروه ۳ تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم (۵۰۰ mg/kg)؛ و گروه۴ تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم (۱۰۰۰ mg/kg). پس از گذشت ۸ هفته از تجویز روزانه، نتیجه با ارزیابی بافت شناسی و رادیوگرافی بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون ناپارامتریک کروسکال- والیس « Kruskal-Wallis » در نرم‌افزار SPSS نسخه 23.00 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و $p < ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها: عصارهٔ گوآوا پسیدیوم نتایج خوبی با IC50 در محدوده ۰/۱۳ mg/ml ± ۰/۴۶ به نمایش گذاشت (کوئرستین به عنوان شاهد مثبت). ارزیابی‌های بافت‌شناسی غضروف، سطح مفصلی صاف و پیوسته با توزیع ستونی سلول‌ها را در گروه آزمایش که ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم دریافت کرده‌اند نشان داد که بهتر از سایرین بهبود پیدا کرده بودند، خصوصاً در گروه کنترل (p=۰/۰۲). ارزیابی رادیولوژیکی مفاصل زانو یافته‌های مشابهی را در ارزیابی بافت‌شناسی نشان داد.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم را می‌توان به عنوان یک درمان مکمل و جایگزین مؤثر برای آرتروززانوی موش در نظر گرفت.

واژگان کلیدی: آرتروز، زانو، رادیوگرافی، آسیب شناسی، گوآوا پسیدیوم، رت

دریافت مقاله: ۴ ماه قبل از چاپ؛ **مراحل اصلاح و بازنگری:** ۱ بار؛ **پذیرش مقاله:** ۱ ماه قبل از چاپ

[۱]دکترسارا سادات نبوی‌زاده، [۱]دکتر محسن احمدی‌زارعی، [۲]دکتر کامبیز ایرجی، [۳]دکتر آیدا ایرجی، [۴]دکتر پروین قائم‌مقامی، [۳]دکتر امید کوهی‌حسین‌آبادی، [۵]دکتر آیدا حسن‌پور، [۶]دکتر مریم مجاهدتقی، [۷]دکتر سجاد دانشی، [۸]دکتر نادر تنیده، [۹]دکتر مهشید جمشیدی

۱- کمیته تحقیق
۲ - بخش بیوشیمی
۳-آزمایشگاه مرکز تحقیقات
۴- بخش بیواستاتیستیک
۵- بخش جراحی، دانشکده دامپزشکی
۶- بخش داروشناسی
۷- بخش تحقیقات سلول‌های بنیادی
۸- بخش تحقیقات سلول‌های بنیادی و بخش داروشناسی (دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران)
۹- کلینیک Solace، تورنتو، کانادا

نویسنده مسئول:
دکتر نادر تنیده
Email:
tanidehn@gmail.com

مقدمه

آنچه می‌دانستیم

عصاره گوآوا پسیدیوم نتایج خوبی با IC50 در محدوده ۰/۱۳ mg/ml ± ۰/۴۶ به نمایش گذاشت. کوئرستین به عنوان شاهد مثبت نیز ۱/۷۲ µM ± ۳/۰۱=IC50 را نشان داد. ارزیابی‌های بافت‌شناسی غضروف، سطح مفصلی صاف و پیوسته با توزیع ستونی سلول‌ها را در گروه آزمایشی که ۱۰۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم دریافت می‌کردند، نشان داد.

تازه‌ها

عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم را می‌توان به عنوان یک درمان مکمل و جایگزین مؤثر برای آرتروز زانو در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی در نظر گرفت و در مطالعات بعدی برای آزمایش‌های بالینی استفاده کرد.

آرتروز (OA) مشکلی با ابعاد مختلف است که شامل حلقه‌های بازخورد «feedback loops» پیچیده و متعامل مکانیکی، بیولوژیکی، بیوشیمیایی، مولکولی و آنزیمی با انحطاط غضروفی به عنوان اثر نهایی مشترک است. این بیماری به دلیل شیوع و هزینه‌های زیاد مورد توجه بهداشت عمومی است. علاوه بر این، روند پیشروی کم آرتروز در مفاصل سینوویتال به دلیل درد مزمن، سفتی، اختلال خواب و افسردگی منجر به ناتوانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

بروز آرتروز با چاقی، آسیب مکرر مفاصل، شکستگی و دیابت در ارتباط است. علاوه بر این، برخی از مطالعات نشان می‌دهد که ژنتیک با بیان آنتی‌ژن لوکوسیت انسانی، گیرنده ویتامین D، فاکتور رشد I انسولین مانند و پروتئین‌های الیگومریک غضروف، می‌تواند بر استعداد ابتلاء به آرتروز تأثیر بگذارد.

تا کنون، درمان قطعی برای آرتروز معرفی نشده است، اما برخی درمان‌ها می‌توانند به بهبود علائم و کاهش احتمال تشدید آرتروز بیماران کمک کنند. داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDS)، ضد درد، کرم کپسایسین، داروهای گیاهی، درمان سرد و گرم، تحریک برقی عصب از طریق پوست (TENS)، زانوبند، تزریق استروئیدی داخل مفصلی (IA)، تزریق اسید هیالورونیک، و عمل جراحی برخی از درمان‌های فعلی است.

آزمایش‌های مختلف دارویی در تعدادی از مدل‌های درون‌کشتگاهی[1] و درون‌جانداری[2] انجام شده؛ و نشان داده اند که عصاره‌ها و متابولیت‌های برگ‌ها و میوه‌های گوآوا پسیدیوم در فعالیت‌های بیولوژیکی به دلیل اجزای فنولی، فلاونوئید، کاروتنوئید، ترپنوئید و تری ترپین مفید هستند.

میوه گوآوا پسیدیوم به عنوان یک محصول مهم غذایی و گیاهی دارویی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است. از گوآوا پسیدیوم برای درمان بیماری‌های مختلفی، مانند دیابت، اسهال، فشار خون بالا، پوسیدگی دندان، بهبود زخم‌ها، و به عنوان قاتل درد یا کنترل تب استفاده می‌شده است.

فعالیت‌های ضد درد، ضد التهابی و ضد اکسیدانی که احتمالاً به دلیل اسانس و فلاونوئیدهای موجود در گیاه گوآوا پسیدیوم است، اثرات ضد درد، ضد التهاب و ضد اکسیدان را نشان داده است.

مطالعات تغذیه‌ای در درمان آرتروز همیشه یک چالش بحث‌برانگیز بوده است. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر میوه گوآوا پسیدیوم بر بهبود آرتروز زانو در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

طراحی برای انتخاب حیوانات

این مطالعه تجربی در سال ۲۰۱۹ در مرکز حیوانات آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز و با استفاده از ۴۰ موش بزرگ آزمایشگاهی با وزن ۲۰ ± ۲۲۰ گرم و سن ۱۰ تا ۱۲ هفته انجام شد. حیوانات در قفس‌های استاندارد تحت چرخهٔ نور/ تاریکی ۱۲ ساعته بودند. چراغ در ساعت ۷:۰۰ بعد از ظهر روشن می‌شد. دمای محیط ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد بود. موش‌ها در یک دورهٔ سازگاری ۳ روزه با دسترسی آزاد به غذا و آب معمولی به اندازهٔ دلخواه قبل از آزمایش قرار داده شدند. حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه اول موش‌ها، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند و تحت هیچگونه درمانی قرار نگرفتند؛ گروه ۲ با mg/kg ۱۰ پیاسکیلیدین تحت درمان قرار گرفتند؛ گروه ۳ با تجویز خوراکی mg/kg ۵۰۰ عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم تحت درمان قرار گرفتند؛ و گروه ۴ با تجویز خوراکی mg/kg ۱۰۰۰ عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم تحت درمان قرار گرفتند. عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم به صورت خوراکی پس از القای آرتروز در طی یک مطالعهٔ روزانه داده شد. پس از ۸ هفته، تمام حیوانات توسط کربن دی اکسید ۷۰٪ کشته شدند و نمونه‌ها گرفته شدند. تمام آزمایش‌ها مطابق با توصیه‌های دستورالعمل شورای اروپا (86/609/EEC) ۲۴ نوامبر ۱۹۸۶، در مورد حمایت از حیوانات مورد استفاده در اهداف آزمایشگاهی (http://data.europa.eu/eli/dir/1986/609/oj) انجام شد. پروتکل مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز (شماره ۹۷۵۷-۰۱-۰۱-۹۴) تصویب شد.

القای آرتروز

در فرآیند القای آرتروز، حیوانات با mg/kg ۱۰۰ کتامین ۱۰٪ (آلفازان[3]، هلند) و mg/kg ۱۰ زایلازین ۲٪ (آلفازان، هلند) بیهوش شدند. سپس حیوانات دو تزریق دریافت کردند، در روزهای ۰ و ۳، با ۵۰۰ واحد کلاژناز نوع II از کلوستریدیوم هیستولیتیکوم[4] (سیگما آلدریچ، سنت لوئیس، MO، ایالات متحده آمریکا) که در محلول شور حل شدند و قبل از تزریق به وسیله یک غشاء با ضخامت µm ۰/۲۲ فیلتر شد. حیوانات قبل از تزریق اول به طور تصادفی به هر گروه اختصاص داده شدند.

آماده سازی عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم

میوه‌های گوآوا (دسته: پسیدیوم[5]، گونه: گاجوا[6]؛ مجموعه گیاهی شماره ۷۷۱) از شهرستان چابهار در جنوب شرقی ایران تهیه شد (شکل ۱). این میوه‌ها به مدت ۲ ساعت در محلول سدیم هیپوکلریت ضدعفونی شد و سپس به قطعات کوچک خرد شد،

1. in vitro
2. in vivo

3. Alfasan
4. Clostridium histolyticum
5. Psidium
6. guajava

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

شکل ۱. میوه تازه گوآوا پسیدیوم

در آب مقطر شسته شد، خشک شد و در آخر پودر گردید. ۵۰۰ گرم از نمونه‌های پودر شده به مدت ۷۸ ساعت در حدود ۳ لیتر اتانول (۷۰٪ ، مرک[7]، گرید تحلیلی[8]) صاف شد تا عصاره اتانول (خام) حاصل از فیلتراسیون به دست آید. سپس عصاره تحت دمای کاهش یافته و خشک شده توسط انجماد سخت (Modulyo D Freeze Dryer, Thermo Scientific) تغلیظ و عصارهٔ گوآوا پسیدیوم ۲۱٪ با رنگ قهوه‌ای روشن حاصل شد. برای استخراج مقادیر مناسب عصاره برای آزمایش‌های بیولوژیکی، روند استخراج سه بار تکرار می‌شود. در پایان، عصاره هیدروالکلی میوه در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یک ظرف آزمایشگاهی[9] ذخیره می شود.

تعیین مقدار کل محتوای فنلی[10]

تمام مؤلفه‌های فنلی کل عصاره هیدروالکلی با استفاده از روش توصیف شده توسط فولین- سیوکالتو[11] با اصلاحاتی در آن تعیین شد. به طور خلاصه، ۵۰ میکرولیتر عصاره گوآوا پسیدیوم محلول در dH_2O (عصاره با ۱ میلی لیتر آب مقطر) با ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین- سیوکالتو و ۳ میلی لیتر dH_2O مخلوط شد. پس از آن ۶۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۵٪ (Na_2CO_3) به مخلوط اضافه شد و پس از آن برای مدت ۲ ساعت در دمای اتاق در تاریکی انکوبه شد. میزان جذب در برابر خالی در ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. همه نمونه‌ها به صورت سه‌گانه مورد سنجش قرار گرفتند. از اسید گالیک برای تهیه یک منحنی استاندارد استفاده شد و برای تهیه محلول استاندارد اسید گالیک نیز همان روش تکرار شد. نتایج به صورت معادل

جدول ۱. درجه‌بندی بافت شناسی بر اساس جامعه بین المللی ترمیم غضروف international cartilage repair society (ICRS)

متغیر	امتیاز
سطح	
صاف / پیوسته	۳
ناپیوسته / نامنظم	۰
محل پیدایش	
هیالین	۳
مخلوط: هیالین + فیبروکارتلاژ	۲
فیبروکتیلاژ	۱
بافت فیبری	۰
توزیع سلول	
ستون	۳
مخلوط/ خوشه ستونی	۲
خوشه	۱
سلول انفرادی/ بی نظم	۰
تنوع جمعیت سلولی	
بسیار قابل دوام	۳
تا حدودی قابل دوام	۱
کمتر از ۱۰٪ قابل دوام	۰
استخوان فرعی	
طبیعی	۳
افزایش بازسازی	۲
فساد بافت استخوان/ بافت گرانول	۱
جدا شده/ شکستگی/ سلول در پایه	۰
کانی سازی غضروف	
طبیعی	۳
مکان غیر طبیعی/ نامناسب	۰

میلی گرم اسید گالیک اسید (GAE) بر گرم عصاره خشک بیان شد.

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی کل

فعالیت آنتی اکسیدانی روغن استخراج شده با اثر اصلاح رادیکال آزاد بر ۱/۱- دیفنی ۱-۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH) بررسی شد. تعیین بر اساس روش توصیف شده با اصلاحاتی انجام شده

7. Merck
8. analytical grade)
9. amber flask
10. total phenolic content (TPC)
11. Folin-Ciocalteu

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

جدول ۲. ارزیابی‌های رادیولوژیکی برای آرتروز زانو در موش

مشخصات رادیوگرافی آرتروز بخش داخلی		گرید صفر	گرید یک	گرید دو	گرید سه
	عرض فضای مفصلی	نرمال (normal)	کاهش (reduced)	نا موجود	محدود (NA)
استئوفیدها	کاندیل تیبیال میانه‌ای	نا موجود (absent)	کوچک (small)	متوسط (moderate)	شدید (sever)
	کاندیل فمورال میانه‌ای	نا موجود	کوچک	متوسط	شدید
	فابلا میانه‌ای (Medial fabella)	نا موجود	موجود (present)		محدود
	استئوفید کل			۰ – ۷	
	امتیاز کلی آرتروز			۰ - ۹	

است. محلول ۱ mg/ml عصاره در غلظت‌های مختلف از ۶/۲۵ – ۲۰۰ µg/mL تهیه شد. ۲۰۰ µL از هر غلظت پس از آن با ۵۰ µL از ۱ میلی لیتر DPPH مخلوط شد. مخلوط‌ها در تاریکی و در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. از آنجا که عصاره باعث کاهش رادیکال DPPH می‌شود، محلول رنگ را از بنفش به زرد تغییر می‌دهد (ناشی از دی فنیل پیکریلدرازین). کاهش توانایی رادیکال DPPH با کاهش جذب آن (ABS) در ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. IC50 پایین‌تر نشان دهنده قدرت آنتی اکسیدانی بالاتر است. کوئرستین به عنوان مخلوط استاندارد و DPPH و بدون هیچ نمونه‌ای به عنوان خالی استفاده شد. همه نمونه‌ها به صورت سه گانه مورد سنجش قرار گرفتند. درصد مهار (I%) از رادیکال DPPH با استفاده از فرمول به شرح زیر تعیین شد:

$$I\% = \frac{\text{Abs blank} - \text{Abs sample}}{\text{Abs blank}} \times 100\%$$

غلظت بازدارنده متوسط (IC50) نیز از نمودار مشخص شد.

ارزیابی‌های بافت شناسی

برای ارزیابی بافت شناسی، استخوان ران[12] و فلات استخوان ران مبدأ[13] برداشته شد و در فرمالین بافر شده ۱۰٪ ثابت شد. کلسیم نمونه‌ها گرفته شد و به چهار قطعه برش داده شدند. تمام قطعات در پارافین تعبیه شدند. مقاطع سری ساژیتال (۵ µm) تهیه و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. چهل برش بخشی برای استخوان ران و فلات استخوان ران مبدأ مورد ارزیابی قرار گرفت. این مشاهده توسط یک آسیب‌شناس انجام شد. شدت ضایعات غضروف مفصلی، با استفاده از روش درجه‌بندی بافت‌شناسی اصلاح شده ارائه شده توسط یانی[14] و همکاران (ICRS) تعیین شد. این سیستم درجه‌بندی مبتنی بر شاخص‌های تعمیر زیر است: سطح، محل پیدایش[15]، توزیع سلولی، زنده ماندن جمعیت سلول، استخوان خارج از غضروف و کانی سازی غضروف (جدول ۱). نمره پایین نشانگر آسیب شدیدتر است. تمام پارامترهای مورفومتریک با سیستم لنزهای Olympus DP12 ثبت شدند (Olympus Optical، توکیو، ژاپن).

ارزیابی‌های رادیوگرافی

برای بررسی شاخص‌های رادیولوژی، تصاویر دیجیتالی مفصل زانو با استفاده از واحد رادیوگرافی Axiom Multix M (زیمنس، آلمان)گرفته شد. تصاویر رادیوگرافی در هر دو موقعیت AP و افقی گرفته شد (جدول ۲).

تحلیل آماری

داده‌های کیفی به صورت میانگین و انحراف معیار(SD) ارائه گردید و با استفاده از آزمون ناپارامتریک (بدون توزیع کروسکال- والیس در نرم‌افزار SPSS نسخه 23.00 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و p<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

آزمایش TPC نشانگر وجود ۴۹۵/۳۶ ± ۷/۸۸ mg GAE/g محتوای فنولی عصاره خشک بود. با توجه به محتوای فنلی نویدبخش مشاهده شده برای عصاره میوه گوآوا پسیدیوم، بررسی فعالیت بالقوه آنتی اکسیدانی ضروری است.

عصاره گوآوا پسیدیوم نتایج خوبی با IC50 در محدوده ۰/۱۳ ± ۰/۴۶ mg/ml به نمایش گذاشت (کوئرستین به عنوان شاهد مثبت نیز ۱/۷۲ ± ۳/۰۱=IC50 µM را نشان داد).

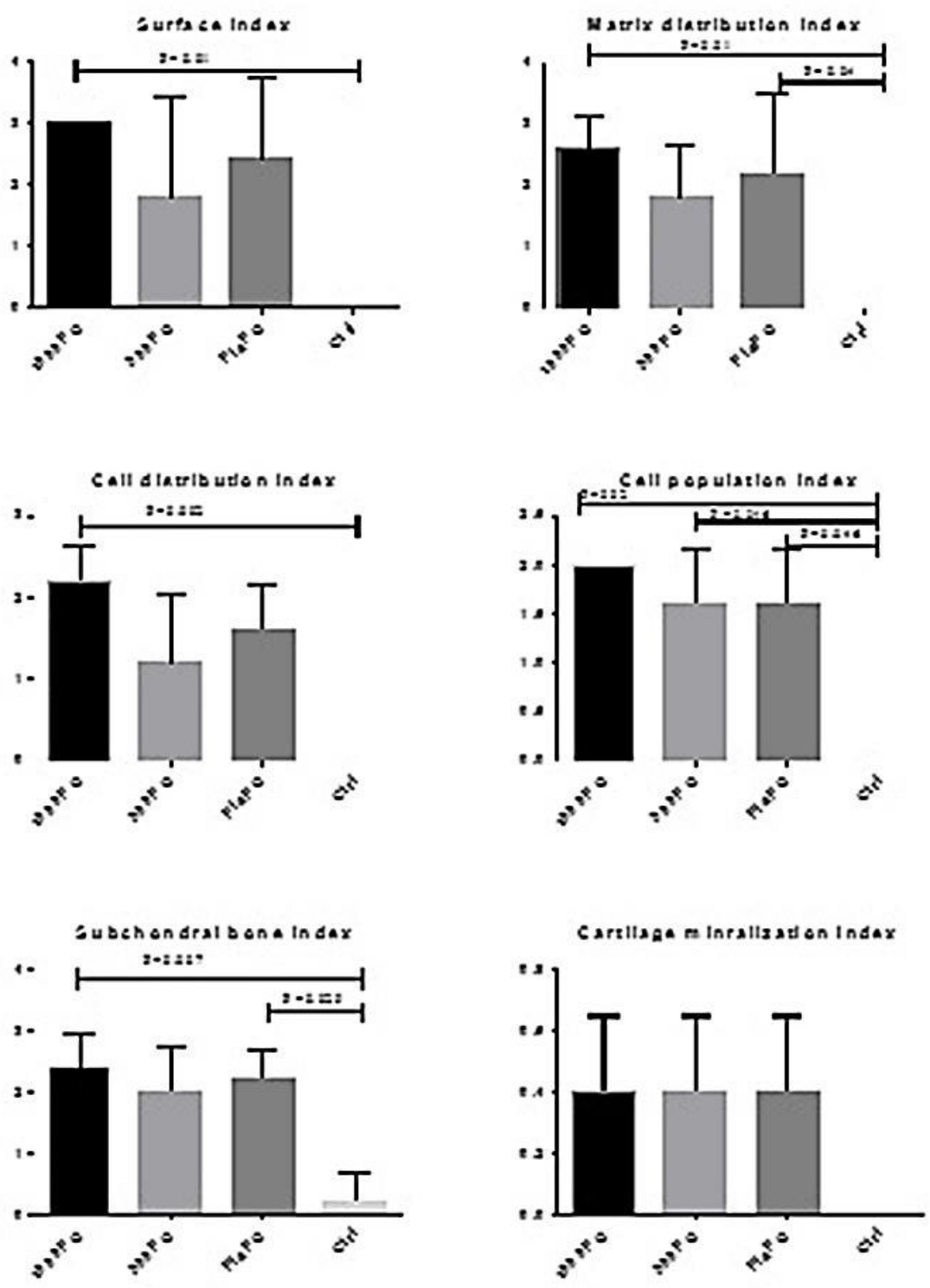
12. distal femoral
13. proximal tibial plateau
14. Yanai
15. matrix

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

شکل ۲. نمودار منشوری نمرات بافت‌شناسی بر اساس معیارهای جامعه بین المللی ترمیم غضروف.



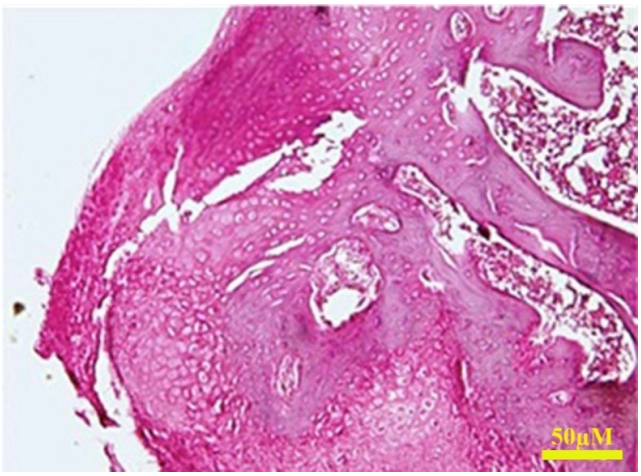
مقادیر نشان داده شده به عنوان متوسط و بین قشر. اختلافات معنی‌دار با p<۰/۰۵ نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

شکل ۳. بررسی بافت شناسی غضروف مفصلی زانو موش صحرایی در گروه کنترل، سطح گروه کنترل دارای بی نظمی بود و سلول‌ها در خوشه‌ها قرار داده شدند (H&E × 100)



نتایج حاکی از همبستگی قوی بین فعالیت‌های ضداکسیدانی و ترکیب فنلی است، و نشان می‌دهد که احتمالاً فعالیت‌های آنتی اکسیدانی گوآوا پسیدیوم به علت ترکیبات فنلی است.

یافته‌های بافت شناسی غضروف مفصلی استخوان ران و فلات استخوان ران مبدأ، ۸ هفته پس از شروع درمان، در شکل های ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است.

شاخص بهبود سطح مفصلی و شاخص توزیع محل پیدایش در گروه آزمایشی که ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم دریافت کرده‌اند نسبت به گروه کنترلی از نظر آماری تفاوت معنی داری داشتند (P-value=۰/۰۱).

کانی سازی شاخص غضروف مفصلی استخوان ران و فلات استخوان ران مبدأ در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت.

نمره توزیع سلولی غضروف استخوان ران و فلات استخوان ران مبدأ در گروه آزمایش با دوز بالا (۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود (P-value=۰/۰۲)

همچنین، شاخص جمعیت زنده سلول غضروف استخوان ران و فلات استخوان ران مبدأ در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. با این حال، دوز بالای عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دارای P-value قابل توجه‌تری بود (P-value=۰/۰۲).

به طور کلی، یافته‌های پاتولوژیک در سطح مفصلی استخوان ران و فلات استخوان ران مبدأ بهبودی بهتری در گروه درمانی نشان

شکل ۴. بررسی هیستوپاتولوژیک غضروف مفصلی زانو موش صحرایی پس از تجویز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم داخل مفصلی که ترمیم با سطح مفصلی صاف و پیوسته همراه با توزیع سلول ستونی است (H&E × 100).

داد (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). یافته‌های رادیولوژیکی مشابه ارزیابی بافت شناسی بود که در آن بهبود غضروف مفصلی در گروه آزمایش(۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل بسیار بهتر بود (شکل ۵).

شاخص استئوفیت استخوان ران و فلات استخوان ران مبدأ در دوز بالا (۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود (به ترتیب ۰/۰۰۹ ، P-value=۰/۰۰۳). با این‌حال، شاخص استئوفیت فبلار میانی[16] فقط در گروه‌های کنترلی تجویز خوراکی پیاسکیلیدین و گروه کنترلی P-value معنی‌داری نشان داد (P-value=۰/۰۱۲).

شاخص عرض فضای مشترک در بین همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشت، در حالی که دوز بالای عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم (۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) P-value بهتری را نشان داد(P-value=۰/۰۰۲).

عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم را می‌توان به عنوان یک درمان مکمل عالی برای آرتروز زانو در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی در نظر گرفت.

بحث

مطالعهٔ حاضر به منظور مقایسهٔ اثربخشی عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم در بهبودی آرتروز طی یک دورهٔ

16. Medial febellar

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

هشت‌هفته‌ای آرتروز انجام شده است. نتایج نشان‌دهنده اثر درمانی بیشتر عصارهٔ هیدروالکلی میوهٔ گوآوا پسیدیوم بود. عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم را می‌توان به عنوان یک درمان مکمل و جایگزین مؤثر برای بهبود آرتروز زانو در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی در نظر گرفت.

بنابراین، برای افزایش ایمنی و اثربخشی درمان علائم و تأثیر مطلوب بر روند بیماری رویکردهای جدیدی مورد نیاز است. برخی موادی که به طور طبیعی در بدن وجود دارند ممکن است برای پیشگیری و یا درمان آرتروز ارزشمند باشند. اگرچه بیشتر تحقیقات در مراحل اولیه هستند، اما امکان استفاده از مواد طبیعی برای بهبودی آسیب‌ها و یا تسریع ترمیم غضروف مشترک وجود دارد. محبوبیت زیاد در استفاده از داروهای مکمل و جایگزین می‌تواند به دلیل مزایای آن از جمله در دسترس بودن گسترده، عدم عوارض جانبی یا عوارض جانبی کم، اثر بخشی مناسب و هزینهٔ پایین در مقایسه با داروهای سنتزی باشد.

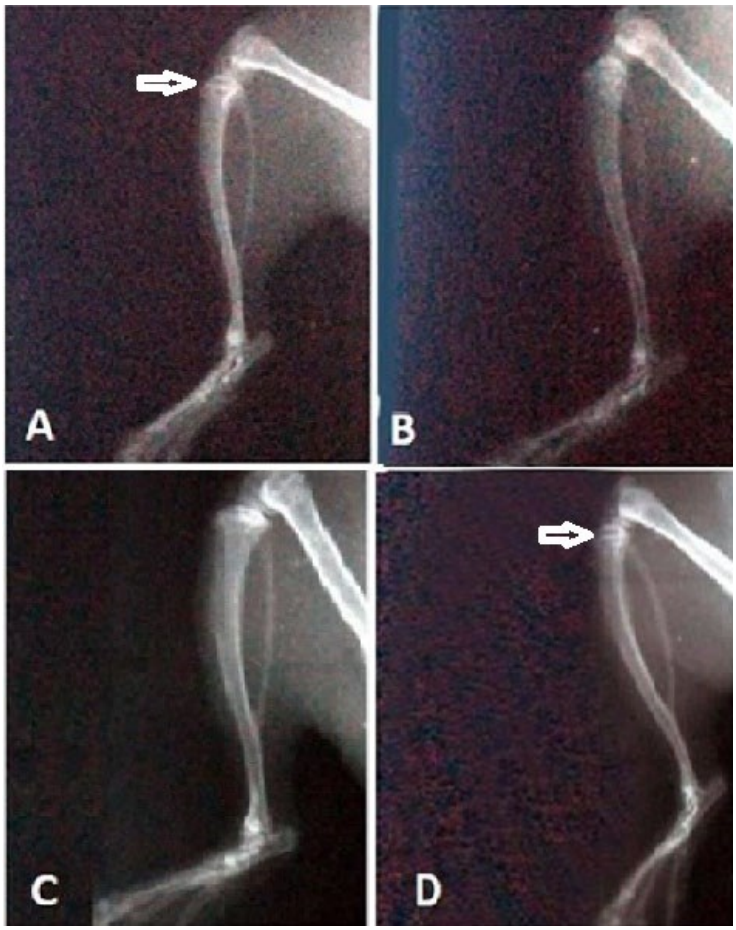
از آنجایی که آرتروز یک بیماری التهابی است که با تخریب مفصل همراه است، سیتوکین[17]های تعدیل‌گر و اکسید نیتریک تولید شده توسط کندروسیت‌ها نقش اساسی در پیشرفت بیماری دارند.

عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم دارای فعالیت‌های ضددرد، ضدالتهابی، ضد میکروبی، کبدی و محافظت کنندهٔ آنتی‌اکسیدان است. بنابراین، گوآوا پسیدیوم می‌تواند جایگزین مناسبی برای سایر داروها و روش‌ها باشد.

جیمنز- اسکرین[18] و همکاران. و پتاماکانوکپورن[19] و همکاران از وجود مقادیر بیشتری از ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی اکسیدانی در برگ‌های گوآوا سفید[20] و گوآوا قرمز[21] در مقایسه با سایر گونه‌های این گیاه گزارش دادند.

مشابه با مطالعه تجربی گذشته که اثر روغن اسانس برگ گوآوا پسیدیوم بر آرتروز القا شده در زانوی موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی را ارزیابی می‌کند، شاخص‌های پاتولوژیک مربوط به آرتروز زانو مانند جمعیت سلولی، توزیع سلولی و سطح مفصلی در موش‌های مبتلا به آرتروز که دوز بالایی از عصاره هیدروالکلی میوه را (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت می‌کردند، درمان و بهبودی بهتری را با سطح مفصلی صاف و پیوسته با توزیع ستونی سلول‌ها نشان داد. سطح مفصلی تخریبی منجر به اختلال در متابولیسم غضروف و استخوان می‌شود که باعث تحریک غدهٔ خارج استخوانی، درد، محدودیت حرکت، ورم و اختلال در عملکرد بیماران می‌شود.

شکل ۵. ارزیابی روش‌های مختلف درمان آرتروز در موش با استفاده از کلاژناز نوع ۲ توسط فیلم‌های اشعه ایکس در روز ۴۲.



(A): حیوانات شاهد بدون درمان، آرتروز شدید را به صورت خط سفید در فضای مشترک بالای استخوان نی (پیکان) نشان دادند.

(B): حیوانات تحت درمان با داروی استاندارد «پیاسکیلیدین».

(C): حیوانات تحت درمان با ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم.

(D): حیوانات تحت درمان با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره هیدروالکلی میوهٔ گوآوا پسیدیوم آرتروز خفیف را به شکل خط سفید در فضای مشترک بالای استخوان نی (پیکان) نشان دادند.

17. cytokine
18. Jimenez-Escrig
19. Patthamakanokporn
20. Psidium Guajavavar. pyrifera
21. Psidium Guajavavar. pomifer

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

همچنین، چن[22] و همکاران اسید گالیک، کاتچین، اپیکاتچین، روتین، نارینژنین و کائمپرفرول را در برگ‌ها یافتند. اجزای اصلی روغن برگ گوآوا اسیدهای چرب حاوی مولکول گلیسرول، معروف به اسیدهای چرب غیر اشباع (MUFA) هستند که شامل ۹۵ تا ۹۸ درصد روغن بوده و باقی مواد تشکیل دهنده شامل فنل‌ها و استرول‌ها هستند.

از مهمترین مزایای درمانی روغن گوآوا، غلظت بالای اسیدهای چرب تک اشباع نشده (که عمدتاً اسید اولئیک است) می‌باشد. علاوه بر این، دانشمندان دریافتند که ماده اصلی فنولیک مسئول خواص ضدالتهابی در روغن خالص گوآوا است. این مواد تازه کشف شده به عنوان یک ماده ضد التهابی طبیعی عمل می‌کنند، مشابه ماده ایبوپروفن که در معالجه ورم مفاصل استفاده می‌شود. مشخص شده است که این ترکیب مانند ایبوپروفن، عملکرد آنزیم‌های سیکلواکسیژناز-۱ (COX-1) و آنزیم سیکلواکسیژناز -۲ (COX-2) را در مسیرهای بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها مهار می‌کند. پروستاگلاندین‌ها باعث ایجاد التهاب در بیماران آرتروز می‌شوند و از این رو مهار بیوسنتز آن به کاهش التهاب و درد ناشی از این بیماری کمک می‌کند.

تحقیقات درون کشتگاهی و درون جانداری اثرات مهاری قابل توجه اکسید نیتریک (NO) را در سلول‌های کندروسیکلسکولاژن و سنتز پروتئوگلیکان نشان داد.

آزمایشی اثرات مثبت اولئوکانتال و ترکیب فنلی موجود در روغن خالص برگ گوآوا را در کاهش سنتز NO (NOS_2) ناشی از لیپوپلی ساکارید در سلول‌های غضروفی و اثرات مضر بر روی زنده ماندن سلولی را نشان داد.

علاوه بر این، به نظر می‌رسد که تیروزول و هیدروکسیل تیروزول، مؤلفه فنولیک، عامل مقادیر بیشتر کلسیم خون در حیوانات آزمایشگاهی با مصرف روغن برگ گوآوا هستند.

مهار جذب مجدد استخوان یکی از اصلی ترین ملزومات در به حداقل رساندن علائم آرتروز است. ثابت شده است که گوآوا با مسدود کردن NF-kβ در درمان این بیماری بسیار مفید است.

بسیاری از موارد استفاده سنتی توسط تحقیقات علمی تأیید شده است. مطالعات سم‌شناسی در موش‌ها و سایر مدل‌های حیوانی و همچنین مطالعات کنترل شده از انسان نشان می‌دهد که هم برگ و هم میوهٔ آن بدون عوارض جانبی بوده و ایمن هستند.

به عنوان مثال، دیانات[23] و همکاران (۲۰۱۸) تحقیقاتی در مورد ۶۰ موش بزرگ سفید آزمایشگاهی ماده بدون تخمدان[24] انجام دادند تا اثرات ضد پوکی استخوان عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم را بررسی کند. عصارهٔ هیدروالکلی میوهٔ گوآوا پسیدیوم باعث افزایش وزن و حجم استخوان ران، تراکم خاکستر استخوان ران، تعداد استئوسیت‌ها و استئوبلاست‌ها و حجم ترابکولار استخوان‌ها در مقایسه با گروهی شد که فقط به صورت وابسته به دوز برداشت تخمدان داشته‌اند.

مطالعهٔ دیگری که توسط سیتی بالکیس بودین[25] در سال ۲۰۱۳ انجام شد، نشان داد که میوهٔ گوآوا پسیدیوم اثر آنتی اکسیدان قابل توجهی در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی دیابتی دارد. این مطالعه نشان داد که سطح سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون (GSH) در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($p<0/05$).

کرتی جاهاگیردار[26] در سال ۲۰۱۰، اثر ضد آرتریتیکی زیادی از عصارهٔ هیدروالکلی موجود در گوآوا پسیدیوم در سه دوز مختلف در ناحیهٔ پشت پنجهٔ عقب موش‌ها نشان داد. اندازهٔ پنجه، وزن بدن، قطر مفصل تیبیوتارسال و تعداد کل لکوسیت‌ها در خون اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دهندهٔ بهبود قابل توجه و وابسته به دوز مصرفی بود.

کوو[27] و کین[28] مطالعه‌ای انجام دادند که برای کشف مکانیسم‌های دفاعی ترکیب آب‌میوهٔ گوآوا با ترهالوز[29] در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ طراحی شده بود. نتایج نشان داد که ترکیب آب‌میوهٔ گوآوا و ترهالوز دارای اثرات محافظتی بیشتری در لوزالمعده و کلیه در برابر التهاب ناشی از هایپرگلیسمی و آسیب اکسیداتیو است.

متأسفانه، مطالعهٔ ما با ارزیابی محدود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، نشانگرهای ضد التهابی و برخی از بیان ژن‌های التهابی، کاستی‌هایی دارد.

تنیده[30] و همکاران (۲۰۱۸) اثر قابل توجه روغن برگ گوآوا پسیدیوم را در فضای بین مفصل و کاهش استئوفیدها گزارش دادند که تأیید کنندهٔ یافته‌های رادیوگرافی ما است. رادیوگرافی نشان داد که تنگی فضای مفاصل به همراه افزایش تشکیل

22. Chen

23. Diyanat
24. ovariectomized
25. Siti Balkis Budin
26. Kirti Jahagirdar
27. Kuo
28. Chien
29. trehalose
30. Tanideh

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

استئوفید در موش‌های مبتلا به آرتروز در مقایسه با موش‌های تحت درمان با عصارهٔ هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم خصوصا در دوز بالا (۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیشتر بوده است. کاهش فضای مشترک با تخریب غضروف مفصلی هیالین[31] ارتباط دارد.

مشابه یافته‌های ارزیابی مطالعه قبلی ما درباره ارزیابی اثر روغن برگ گوآوا پسیدیوم برای آرتروز القایی در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی، نتایج هیستوپاتولوژیک و رادیوگرافی این مطالعه نشان داد که بین گروه با روش درمانی به کمک عصاره هیدروالکلی میوه گوآوا پسیدیوم (۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل به ترتیب از نظر سطح، توزیع محل پیدایش، جمعیت سلولی، شاخص‌های توزیع استخوان و سلول‌های تحت کنترل و عرض فضای بین‌مفصلی، استئوفیدهای کاندیل تیبیال میانه‌ای[32] و استئوفیدهای کاندیل فمورال میانه‌ای[33] تفاوت معناداری وجود دارد.

در سال‌های اخیر، تأکید تحقیقات بر استفاده از داروهای سنتی است که سابقهٔ طولانی و اثبات شده‌ای در درمان بیماری‌های مختلف دارند. در این راستا، برای کشف پتانسیل موجود در میوهٔ گوآوا در معالجهٔ بیماری‌های مفصلی، لازم است مطالعات بیشتری انجام گیرد. ارزیابی استریولوژیکی و استفاده از فرم ژل به جای عصارهٔ هیدروالکلی می‌تواند محدودیت مطالعه حاضر باشد.

نتیجه‌گیری

عصارهٔ هیدروالکلی میوهٔ گوآوا پسیدیوم در تمام شاخص‌های بافت‌شناسی به جز شاخص کانی‌سازی غضروف، اثر معنی‌داری را نشان داد. علاوه بر این، نتایج رادیوگرافی نشان می‌دهد که نتیجهٔ بهتری از شاخص عرض فضای بین‌مفصلی، شاخص استئوفیدهای کاندیل تیبیال میانه‌ای و استئوفیدهای کاندیل فمورال میانه‌ای داخلی فمور در گروه دوز بالا در مقایسه با موش‌های گروه کنترلی دارد.

منابع

1. Lawrence EA, Kague E, Aggleton JA, Harniman RL, Roddy KA, Hammond CL. The mechanical impact of col11a2 loss on joints; col11a2 mutant zebrafish show changes to joint development and function, which leads to early-onset osteoarthritis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2018;373(1759):20170335.
2. Gauffin H, Filbay S, Andersson C, Ardern C, Kvist J. Radiographic osteoarthritis and knee symptoms 32-37 years following acute anterior cruciate ligament injury. Osteoarthritis Cartilage. 2019;27:S230-S1.
3. Rosenberg JH, Rai V, Dilisio MF, Agrawal DK. Damage-associated molecular patterns in the pathogenesis of osteoarthritis: potentially novel therapeutic targets. Mol Cell Biochem. 2017;434(1-2):171-9.
4. Hunter DJ, Schofield D, Callander E. The individual and socioeconomic impact of osteoarthritis. Nat Rev Rheumatol. 2014;10(7):437-41.
5. Yarmola E, Partain B, Shah Y, Figueras J, Dobson J, Allen K. Intra-articular levels of five biomarkers assessed via magnetic capture in a rat knee model of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2019;27:S71.
6. Chevalier X, Ravaud P, Maheu E, Baron G, Rialland A, Vergnaud P, et al. Adalimumab in patients with hand osteoarthritis refractory to analgesics and NSAIDs: a randomised, multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Rheum Dis. 2015;74(9):1697-705.
7. Shehata AE, Fareed ME. Effect of cold, warm or contrast therapy on controlling knee osteoarthritis associated problems. Int J Med Health Pharm Biomed Eng. 2013;7:259-65.
8. Ayhan E, Kesmezacar H, Akgun I. Intraarticular injections (corticosteroid, hyaluronic acid, platelet rich plasma) for the knee osteoarthritis. World J Orthop. 2014;5(3):351-61.
9. Orozco L, Munar A, Soler R, Alberca M, Soler F, Huguet M, et al. Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: a pilot study. Transplantation. 2013;95(12):1535-41.
10. El-Ahmady SH, Ashour ML, Wink M. Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of Psidium guajava fruits and leaves. Journal of Essential Oil Research. 2013;25(6):475-81.
11. Tanideh N, Nasab MAR, Hasssanpour I, Hosseinabadi OK, Moiahed M, Nabavizadeh SS. Evaluation of Psidium Guajava L. leaf oil extract effect on induced osteoarthritis in male rats. Iranian Journal of Orthopaedic Surgery. 2018;16(2):230-8.
12. Rishika D, Sharma R. An update of pharmacological activity of Psidium guajava in the management of various disorders. Int J Pharm Sci Res. 2012;3(10):3577.

31. hyaline
32. medial tibial condyle
33. medial femoral condyle

www.SID.ir

Archive of SID

13. Tanideh N, Bahrani M, Khoshnood-Mansoorkhani MJ, Mehrabani D, Firoozi D, Koohi-Hosseinabadi O, et al. Evaluating the effect of melillotus officinalis L. Aqueous extracts on healing of acetic acid-induced ulcerative colitis in male rats. Ann colorectal res. 2016;4(4):e42856.
14. Dabbaghmanesh MH, Noorafshan A, Talezadeh P, Tanideh N, Koohpeyma F, Iraji A, et al. Stereological investigation of the effect of Elaeagnus angustifolia fruit hydroalcoholic extract on osteoporosis in ovariectomized rats. Avicenna J Phytomed. 2017;7(3):261-74.
15. Yanai T, Ishii T, Chang F, Ochiai N. Repair of large full-thickness articular cartilage defects in the rabbit: the effects of joint distraction and autologous bone-marrow-derived mesenchymal cell transplantation. J Bone Joint Surg Br. 2005;87(5):721-9.
16. Yang M, Jiang L, Wang Q, Chen H, Xu G. Traditional Chinese medicine for knee osteoarthritis: An overview of systematic review. PloS one. 2017;12(12):e0189884.
17. Liu-Bryan R, Terkeltaub R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis. Nat Rev Rheumatol. 2015;11(1):35-44.
18. Liu X, Yan X, Bi J, Liu J, Zhou M, Wu X, et al. Determination of phenolic compounds and antioxidant activities from peel, flesh, seed of guava (Psidium guajava L.). Electrophoresis. 2018;39(13):1654-62.
19. Jiménez-Escrig A, Rincón M, Pulido R, Saura-Calixto F. Guava fruit (Psidium guajava L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. J Agric Food Chem. 2001;49(11):5489-93.
20. Patthamakanokporn O, Puwastien P, Nitithamyong A, Sirichakwal PP. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. J Food Compost Anal. 2008;21(3):241-8.
21. Chen KC, Chuang CM, Lin LY, Chiu WT, Wang HE, Hsieh CL, et al. The polyphenolics in the aqueous extract of Psidium guajava kinetically reveal an inhibition model on LDL glycation. Pharm Biol. 2010;48(1):23-31.
22. Alshami AM. Knee osteoarthritis related pain: a narrative review of diagnosis and treatment. Int J Health Sci (Qassim). 2014;8(1):85-104.
23. Sakthivel K, Guruvayoorappan C. Amentoflavone inhibits iNOS, COX-2 expression and modulates cytokine profile, NF-κB signal transduction pathways in rats with ulcerative colitis. Int Immunopharmacol. 2013;17(3):907-16.
24. Zhao X-Z, Li X-W, Jin Y-R, Yu X-F, Qu S-C, Sui D-Y. Hypolipidemic effects of kaempferide-7-O-(4''-O-acetylrhamnosyl)-3-O-rutinoside in hyperlipidemic rats induced by a high-fat diet. Mol Med Rep. 2012;5(3):837-41.
25. van der Kraan PM, van den Berg WB. Osteoarthritis in the context of ageing and evolution: Loss of chondrocyte differentiation block during ageing. Ageing Res Rev. 2008;7(2):106-13.
26. Martel-Pelletier J, Boileau C, Pelletier J-P, Roughley PJ. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2008;22(2):351-84.
27. Ravi K, Divyashree P. Psidium guajava: A review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease. Pharmacogn Rev. 2014;8(16):96-100.
28. Fasola TR, Oloyede GK, Aponjolosun BS. Chemical composition, toxicity and antioxidant activities of essential oils of stem bark of Nigerian species of guava (Psidium guajava Linn.). EXCLI J. 2011;10:34-43.
29. iyanat S, Salehi M, Koohi-Hosseinabadi O, Tanideh N, Dehghani F, Koohpeyma F, et al. Effects of the Hydroalcoholic Extract of the Psidium guajava Fruit on Osteoporosis Prevention in Ovariectomized Rats. Iran J Med Sci. 2018;43(6):623-32.
30. Budin SB, Ismail H, Chong PL. Psidium guajava fruit peel extract reduces oxidative stress of pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats. Sains Malays. 2013;42(6):707-13.
31. Jahagirdar K, Ghosh P, Adil SM, Ziyaurrahman A. Effect of hydroalcoholic extract of Psidium guyava Linn. on complete Freund's adjuvant induced arthritis in laboratory animals. Pharmacologyonline. 2010;3:706-19.
32. Kuo Y-T, Chien C-T. Protective function of guava (Psidium guajava) juice combined with trehalose in kidney and pancreas in type 2 diabetic rats. The FASEB Journal. 2015;29(1_supplement).

Downloaded from ijos.ir at 17:51 +0330 on Thursday March 4th 2021

www.SID.ir