

## The Effect of Endurance Training and Ozone Therapy on the Expression Levels of FLS and VEGF Genes in Knee Tissue of Rats with Osteoarthritis

Niknam K<sup>1</sup>, Barari A\*<sup>1</sup>, Abdi A<sup>1</sup>, Farzanegi P<sup>2</sup>

1. Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

2. Department of Sport Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

\* *Corresponding author.* Tel: +9843217126, Fax: +981143217009, E-mail: alireza54.barari@gmail.com

Received: Jul 15, 2020 Accepted: Nov 20, 2020

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Osteoarthritis as a result of the destruction of articular cartilage, leads to joint pain and stiffness. The purpose of this study was to investigate the effect of endurance and ozone therapy on the expression levels of FLS and VEGF genes in the knee tissue of rats with knee osteoarthritis.

**Methods:** Subjects were male Wistar rats that were randomly divided into 5 groups after two weeks of adaptation, including: control-healthy, control-patient, patient-ozone, patient-exercise and patient-sport. For adapting the rats to exercise and treadmill, walking program was performed before exercise program. The training program consisted of 30 minutes of running on a treadmill with no slope at a speed of 16 m/min for the first week and one m/min added weekly until it reached 22 m/min in the eighth week. Ozone was injected into the knee through the tibiofemoral articular line at a concentration of 20 µg/ml once a week for 3 weeks at 9 o'clock in the morning. Expression levels of FLS and VEGF genes were measured by Real Time PCR. One way ANOVA and Tukey's method were used to determine the difference between groups.

**Results:** The results showed that the expression levels of FLS and VEGF genes were significantly increased in rats with osteoarthritis. It was also shown that physical training and ozone therapy led to a decrease in FLS and VEGF gene expression levels in osteoarthritic rats. VEGF and its receptors are expressed in OA cartilage and indicating the possibility that VEGF is involved in the elimination of OA articular cartilage by increasing MMP production.

**Conclusion:** The results of this study are promising for the role of VEGF as a diagnostic marker. VEGF can participate in early OA changes and a treatment modality by modulating VEGF production, which can be considered in future.

**Keywords:** Endurance Training; Ozone Therapy; VEGF; Knee Osteoarthritis

## اثر تمرینات استقامتی و ازن درمانی بر بیان ژن FLS و VEGF در بافت زانو در موش‌های مبتلا به استئوآرتریت

خدیجه نیکنام<sup>۱</sup>، علیرضا براری<sup>۱\*</sup>، احمد عبدی<sup>۱</sup>، پروین فرزانی<sup>۲</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۱۱۴۳۲۱۷۱۲۶ فاکس: ۰۱۱۴۳۲۱۷۰۰۹ پست الکترونیک: alireza54.barari@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** استئوآرتریت یک بیماری است که در نتیجه تخریب غضروف مفصلی بروز می‌کند و منجر به درد و سفتی مفاصل می‌گردد. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تمرینات استقامتی و ازن درمانی بر بیان ژن FLS و VEGF در بافت زانو موش‌های مبتلا به استئوآرتریت زانو می‌باشد.

**روش کار:** آزمودنی‌ها شامل موش‌های صحرایی نر ویستار بودند که پس از سازگاری دو هفته‌ای به صورت تصادفی به ۵ گروه شامل گروه‌های: کنترل- سالم، کنترل- بیمار، بیمار- ازن، بیمار- ورزش و بیمار- ورزش- ازن تقسیم شدند. برای سازگاری موش‌ها با ورزش و تردمیل، قبل از ورزش، برنامه پیاده روی انجام گردید. برنامه تمرین شامل ۳۰ دقیقه دویدن روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه برای هفته اول بود و هر هفته یک متر بر دقیقه اضافه شد تا در هفته هشتم به ۲۲ متر بر دقیقه رسید. ازن از طریق خط مفصل تیبیوفمورال با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر، یک بار در هفته و در ساعت ۹ صبح و به مدت ۳ هفته به زانو تزریق شد. سطح بیان ژن‌های FLS و VEGF توسط Real Time PCR اندازه گیری شد. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از روش ANOVA و توکی استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از تحلیل آماری نشان داد که سطح بیان ژن FLS و VEGF در موش‌های مبتلا به استئوآرتریت افزایش معناداری داشت. همچنین نشان داده شد که تمرینات بدنی و ازن درمانی موجب روند کاهشی سطح تغییرات بیان ژن FLS و VEGF در موش‌های مبتلا به استئوآرتریت شد. VEGF و گیرنده‌های آن در غضروف OA بیان شده است و این احتمال را نشان می‌دهد که VEGF برای از بین بردن غضروف مفصلی OA از طریق افزایش تولید MMP نقش دارد.

**نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه امیدوارانه در مورد نقش VEGF به عنوان یک نشانگر تشخیصی است. VEGF می‌تواند در تغییرات اولیه OA شرکت کند و یک روش درمانی با تعدیل تولید VEGF می‌تواند یک امکان برای آینده باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرینات استقامتی، ازن درمانی، VEGF، استئوآرتریت زانو

دریافت: ۱۳۹۹/۴/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۳۰

### مقدمه

استئوآرتریت شایع‌ترین اختلال مفصلی است که مطالعات نشان می‌دهد اکثر افراد در طول ۶۵ سالگی دارای شواهد رادیولوژیک و یا علایم بالینی آرتروز هستند [۱]. مکانیسم ایجاد استئوآرتریت خیلی پیچیده

است، ولی محققین معتقدند بالانس بین مکانیسم‌های آنابولیک و متابولیک نگه‌دارنده هموستاز ماتریکس خارج سلولی در غضروف مفصلی می‌تواند باعث دژنراسیون غضروف مفصل شده و با ایجاد استئوآرتریت در ارتباط است [۲]. هرچند بسیاری از

جزئیات پاتوژنز استئوآرتریت در انسان ناشناخته مانده است به نظر می‌رسد که این بیماری یک کمپلکس چندعاملی بوده که فرآیند کاتابولیسم و آنابولیسم غضروف و تغییرات در دیگر بافت‌های مفصل را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۳]. بر این اساس فرض بر این است که عواملی همچون افزایش فشار مکانیکی و تغییر در فاکتورهای بیوشیمیایی در مفصل مبتلا از دلایل اولیه پیشرفت بیماری باشد [۴]. در شرایط عادی، سلول‌های غضروف مفصلی تعادل پویا بین سنتز و تخریب اجزای ECM، از جمله فیبرهای کلاژن نوع II و پروتئوگلیکان (PG) تشکیل می‌دهند. سینوویوسیت‌های شبه فیبروبلاست (FLS)، همچنین به عنوان فیبروبلاست سینوویال یا سینوویوسیت‌های نوع B شناخته می‌شود، نوع سلول غالب تشکیل ساختار درونی سینوویال است. آنها در دو تا سه لایه سلول سازماندهی شده اند و ۷۵-۸۰ از کل سینوویوسیت‌ها در سینوویوم طبیعی انسان را تشکیل می‌دهند [۵]، بلکه در گونه‌های دیگر مانند خرگوش و موش نیز وجود دارند [۶]. FLS و ماتریکس خارج سلولی (ECM) از طریق مولکول‌های مختلف از جمله اینتگرین  $\alpha1\beta1$ ، اینتگرین  $\alpha2\beta1$  یک مولکول چسبندگی وابسته به کلسیم ایجاد شده که یک لایه طبیعی ظاهر می‌شود [۷]. در این بین، ماکروفاژهای سینوویال یا سینوویوسیت‌های نوع A در این شبکه سلولی استروما قرار دارند. به تازگی ثابت شد که FLS یک عامل اساسی در تشکیل روکش سینوویال به طور منظم سازمان یافته است. آنها ظرفیت ذاتی برای ایجاد یک معماری سه بعدی سینوویال پیچیده دارند که با سازماندهی چند سلولی آستر جمع شده سینوویال و تولید ترکیبات مایع سینوویال (SF) تشکیل می‌شود [۸]. هاپرپلازی FLS منجر به تکثیر بیش از حد بافت سینوویال و در نتیجه افزایش مصرف اکسیژن در سینوویوم می‌شود و بدین ترتیب محیط هیپوکسیک را تشکیل می‌دهد [۹]. حالت هیپوکسیک منجر به فعال شدن HIF می‌شود، که بیان ژن‌های وابسته به

HIF از جمله فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) را فعال می‌کند، که در فرآیندهای رگ‌زایی سینوویوم و تداوم RA مهم هستند [۱۰]. VEGF و سایر فاکتورهای رشد مهم برای رگ‌زایی، مانند آنژیوپوتین ۲، فاکتورهای رشد جفت یا فاکتورهای رشد فیبروبلاست، توسط FLS ترشح می‌شوند و ماکروفاژهای سینوویالی فعال می‌شوند. چندین مولکول و فاکتورهای رشد، مانند PDGF، برای تشکیل ساختارهای تهاجمی تخریب کننده ECM و تهاجم غضروف ضروری است و چندین مسیر سیگنالینگ از جمله مسیر PI3K/AKT، که به‌عنوان بالادست متابولیسم گلوکز شناخته شده است، فعال می‌شوند [۱۱].

مطالعات گسترده ژنوم نشان می‌دهد که فاکتور رشد اندوتلیال عروقی A (VEGF) با استئوآرتریت (OA) همراه است و افزایش بیان VEGF با افزایش شدت بیماری ارتباط دارد. VEGF همچنین یک عامل بقاء سلول‌های غضروفی در طول پیشرفت OA است و برای تشکیل استخوان، رشد اسکلتی و هموستاز پس از تولد ضروری است. این سولاتی را ایجاد می‌کند که چگونه می‌توان عملکردهای مهم جنینی و بعد از تولد VEGF را با نقشی ظاهراً مخرب در OA ربط داد. در OA ناشی از جراحی در موش، یک مدل از OA پس از آسیب در انسان، افزایش بیان VEGF با فرآیندهای کاتابولیک در سلول‌های غضروفی و سلول‌های سینوویال همراه است. آنتی‌بادی ضد VEGF داخل مفصلی پیشرفت OA را سرکوب می‌کند، سطح VEGFR2 فسفریله شده در سلول‌های غضروفی مفصلی و سلول‌های سینوویال را کاهش می‌دهد و سطح VEGFR1 فسفریله شده در کانگلیون ریشه پشتی را کاهش می‌دهد. سرانجام، تجویز خوراکی مهارکننده VEGFR2 باعث کاهش پیشرفت OA می‌شود [۱۲]. در پیشرفت OA، VEGF به عنوان یک عامل بقا در سلول‌های غضروفی صفحه رشد و به عنوان یک عامل تمایز در سلول‌های

OA مشخص نیست. با توجه به موارد یادشده تحقیق حاضر به دنبال پاسخ به این سوال بود که ازن درمانی همراه با تمرین استقامتی بر بیان ژن FLS و VEGF در استخوان زانو موش‌های مبتلا به آستئوآرتریت چه تاثیری دارد؟

### روش کار

در این طرح تجربی ۳۵ موش نر نژاد ویستار (میانگین سنی ۱۲-۸ هفته و وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم) از مرکز تحقیقات آزمایشگاه حیوانی دانشگاه آزاد ساری انتخاب شدند. این پژوهش توسط کمیته مراقبت از حیوانات در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تصویب شد. موش‌ها به صورت گروه‌های ۳ تایی در هر قفس در شرایط اتاق (قفس‌هایی از جنس پلی کربنات شفاف به ابعاد ۱۵×۲۶/۵×۴۲، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵±۵۰ درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب) نگهداری شدند. در طول این تحقیق موش‌ها با غذا و آب استاندارد تغذیه شدند. آستئوآرتریت به روش جراحی همانطور که قبلاً توسط ناگائو و همکاران شرح داده شد، القا شد [۱۲]. به طور مختصر، ابتدا موش‌ها با داروی کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. بعد از شیو کردن زانوی پای راست توسط تیغ بیستوری یک برش افقی یک سانتی‌متری در بخش داخلی مفصل زانو ایجاد شد. مفصل زانو بالاافاصله از طریق دررفتگی جانبی کشکک و رباط کشککی باز شد. پس از کنار زدن پوست لیگامان داخلی جانبی زانو کنار زده می‌شود تا مینیسک داخلی مشاهده شود. سپس با ایجاد یک برش به صورت ناقص منجر به پارگی و ایجاد آسیب در مینیسک می‌شود و در آخر ناحیه به روش استریل بخیه زده می‌شود. موش‌های مبتلا به آستئوآرتریت به ۴ گروه شم (کنترل- بیمار)، تمرین، ازن درمانی، تمرین- ازن درمانی تقسیم شدند. گروه کنترل مفصل زانو

غضروف مفصلی عمل می‌کند. در آستئوآرتریت، درمان ضد VEGF، هدف قرار دادن سلول‌های بنیادی Col2-Cre، پیشرفت آرتروز ناشی از عمل در مفاصل زانو را مهار می‌کند [۱۲]. دنگ و همکاران در پژوهشی عنوان داشتند که تزریق داخل مفصلی موضعی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی باعث تخریب غضروف مفصلی در مدل آرتروز موش می‌شود. در پاتوفیزیولوژی آستئوآرتریت (OA)، تخریب غضروف مفصلی نقش مهمی را نشان می‌دهد. فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) به عنوان یک عامل موثر در رگ‌زایی و تنظیم‌کننده مهم انحطاط غضروف مفصلی در توسعه OA در نظر گرفته می‌شود. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که VEGF با از بین بردن ماتریس غضروف مفصلی می‌تواند نقش مهمی در توسعه OA نشان دهد [۱۳]. علیرغم اینکه ماهیت و علایم آستئوآرتریت به خوبی مشخص شده است و عوامل خطرزای مرتبط با آن نیز به دقت مورد مطالعه قرار گرفته است، اما تاکنون هیچ درمان قطعی برای این بیماری تعیین نشده است. در دهه‌های اخیر، ازن درمانی به طور گسترده‌ای در درمان بالینی درد التهابی حاد و مزمن از جمله درد ستون فقرات، OA و آسیب بافت نرم مورد استفاده قرار گرفته است [۱۴]. اسدی و همکاران در پژوهشی به بررسی تاثیر فعالیت ازن درمانی و سلول‌های بنیادی بر بیان IL-10 و TNF- $\alpha$  در بافت غضروف موش‌های مبتلا به آستئوآرتریت زانو پرداختند. ازن درمانی به طور معنی‌داری مؤثرتر از تمرین و درمان با MSCs برای بهبود OA زانو در موش‌های صحرائی بود [۱۵]. برخی محققان نشان داده‌اند که ازن سیستم‌های محافظت‌کننده آنتی‌اکسیدان را برای القاء فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی، مانند مسیر سیگنالینگ AMPK، برای کاهش ضعف مزمن انسداد (CCI) فعال می‌کند [۱۶]. فقط برخی از نکات فنی برای انجام ازن درمانی در حال حاضر موجود هستند اما مکانیسم خاص درمان ازن خصوصاً برای

طبیعی داشتند و هیچ مورد درمانی دریافت نکردند. بدین منظور موش‌ها در این مرحله ۵ روز، یک بار در هفته به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و شیب صفر درصد بر روی تردمیل فعالیت کردند. برنامه تمرینی با ۳۰ دقیقه دویدن بر روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه در هفته اول شروع شد که به تدریج به ۵۰ دقیقه در هفته سوم رسید. گرم کردن و سرد کردن در مدت زمان ۵ دقیقه در ابتدا و انتهای تمرین انجام شد. هشت هفته پس از اجرای تحقیق تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات (جهت حذف اثرات حاد تمرین و مکمل)، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۵۰-۳۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم) و زایلوزین (۵-۳ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن) بی‌هوش و کشته شدند. بافت‌های غضروفی در نمک بافر فسفات (0.01 M; pH 7.0) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جدا و همگن شدند.

طبیعی داشتند و هیچ مورد درمانی دریافت نکردند. بدین منظور موش‌ها در این مرحله ۵ روز، یک بار در هفته به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و شیب صفر درصد بر روی تردمیل فعالیت کردند. برنامه تمرینی با ۳۰ دقیقه دویدن بر روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه در هفته اول شروع شد که به تدریج به ۵۰ دقیقه در هفته سوم رسید. گرم کردن و سرد کردن در مدت زمان ۵ دقیقه در ابتدا و انتهای تمرین انجام شد. هشت هفته پس از اجرای تحقیق تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات (جهت حذف اثرات حاد تمرین و مکمل)، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۵۰-۳۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم) و زایلوزین (۵-۳ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن) بی‌هوش و کشته شدند. بافت‌های غضروفی در نمک بافر فسفات (0.01 M; pH 7.0) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جدا و همگن شدند.

FLS: 5'-CCCCTGCCCATTCGGAGGAAGAG-3'(forward)  
5'-TTGGCCACCTTGACGCTGCGGTG-3'(reverse)  
VEGF: 5'-ATCAATCAGCCCAGATGGAC-3'(forward)  
5'-TTCACGGGCAGAAAGGTACT-3'(reverse)

با  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS-20 انجام گرفت.

Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$[\Delta Ct = CT(\text{target}) - CT]$$

سطح بیان ژن با روش  $2^{-\Delta Ct}$  تعیین شد.

**یافته‌ها**  
نتایج نشان داد که بیشترین سطح بیان ژن FLS و VEGF در گروه سالیین و کمترین سطوح آن در گروه سالم بود (جدول ۱).

جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک راهه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده گردید. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات

<sup>1</sup> Reverse Transcriptase

جدول ۱. ویژگی‌های توصیفی متغیرهای تحقیق (میانگین ± انحراف معیار)

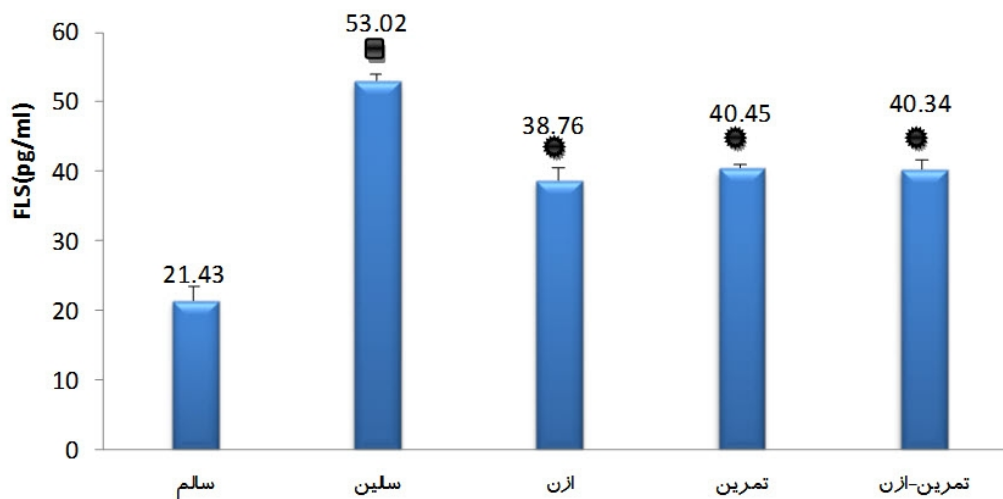
گروه	متغیر	
	VEGF	FLS
سالم	۲۱/۸۸±۰/۶۶	۲۱/۴۳±۳/۲۷
سالمین	۲۶/۹۴±۰/۳۹	۵۳/۰۲±۲/۱۱
ازن درمانی	۲۴/۵۵±۱/۱۹	۳۸/۷۶±۴/۵۷
تمرین	۲۵/۸۴±۱/۸۷	۴۰/۴۵±۰/۶۴
تمرین- ازن درمانی	۲۴/۰۵±۰/۳۴	۴۰/۳۴±۰/۹۶

تعیینی نشان داده شد که سطح تغییرات بیان ژن FLS در گروه شم نسبت به گروه سالم افزایش معناداری داشت؛ در حالی که تمرینات بدنی و ازن درمانی موجب کاهش معنادار سطح FLS در گروه‌های تجربی شد (جدول ۲، نمودار ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تمرینات بدنی و ازن درمانی بر بیان ژن FLS و VEGF موش‌های مبتلا به استئوآرتریت در گروه‌های مختلف تفاوت معناداری دارد ( $p=0/000$ ). با استفاده از آزمون

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به بیان ژن FLS در گروه‌های مختلف

متغیر	مجموع مجذورات	درجات آزادی	میانگین مجذورات	نسبت F	سطح معناداری
بین گروه‌ها	۲۵۴۵/۲۰۴	۴	۶۳۶/۳۰۱	۸۴/۸۵۹	
FLS درون گروه	۱۴۹/۹۶۷	۲۰	۷/۴۹۸		* ۰/۰۰۰
مجموع	۲۶۹۵/۱۷۱	۲۴			



نمودار ۱. تغییرات سطح FLS در گروه‌های مختلف تحقیق

تفاوت معنادار با گروه سالمین (☆) تفاوت معنادار با گروه کنترل (■)

دارد ( $p=0/000$ ). با استفاده از آزمون تعقیبی نشان داده شد که سطح تغییرات بیان ژن VEGF در گروه شم نسبت به گروه سالم افزایش معناداری داشت؛

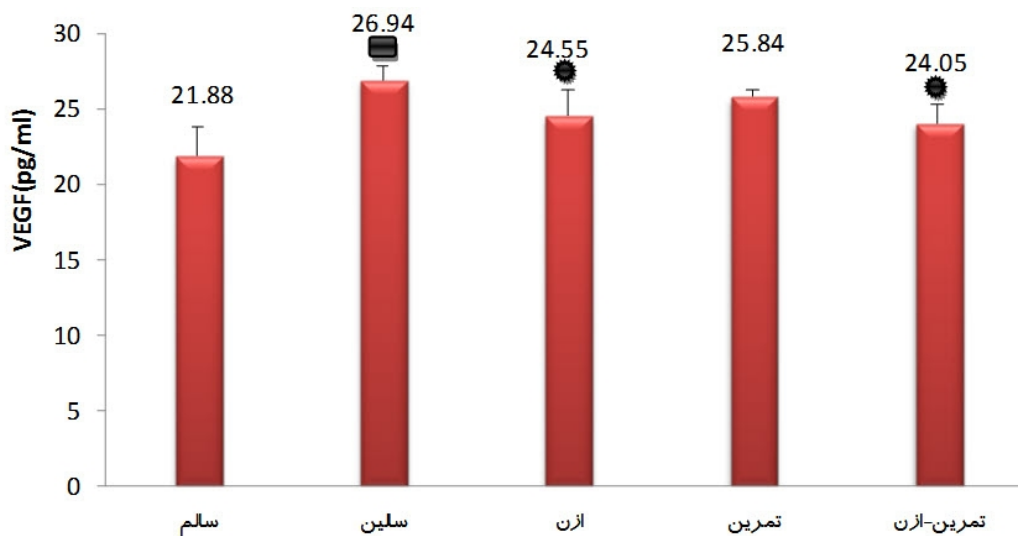
تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تمرینات بدنی و ازن درمانی بر بیان ژن VEGF موش‌های مبتلا به استئوآرتریت در گروه‌های مختلف تفاوت معناداری

درحالی که تمرینات بدنی و ازن درمانی موجب کاهش معنادار سطح VEGF در گروه‌های ازن و ازن + تمرین شد. در گروه تمرین روند کاهشی

مشاهده شد، ولی به سطح معناداری نرسید (جدول ۳، نمودار ۲).

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به بیان ژن VEGF در گروه‌های مختلف

متغیر	مجموع مجذورات	درجات آزادی	میانگین مجذورات	نسبت F	سطح معناداری
بین گروه‌ها	۷۳/۴۰۵	۴	۱۸/۳۵۱		
درون گروه	۲۲/۶۶۲	۲۰	۱/۱۳۳	۱۶/۱۹۶	* / ...
مجموع	۹۶/۰۶۷	۲۴			



نمودار ۲. تغییرات سطح VEGF در گروه‌های مختلف تحقیق

تفاوت معنادار با گروه سالیین (نماد گلخانه‌ای) تفاوت معنادار با گروه کنترل (نماد مربع)

بحث

نتایج نشان داد که سطح بیان ژن FLS و VEGF در موش‌های مبتلا به استئوآرتریت افزایش معناداری داشت. همچنین نشان داده شد که تمرینات بدنی و ازن درمانی موجب روند کاهشی سطح تغییرات بیان ژن FLS و VEGF در موش‌های مبتلا به استئوآرتریت شد. به تازگی ثابت شد که FLS یک عامل اساسی در تشکیل روکش سینوویال به طور منظم سازمان یافته است [۸]. هاپیرپلازی FLS منجر به تکثیر بیش از حد بافت سینوویال و در نتیجه افزایش مصرف اکسیژن در سینوویوم می‌شود و

بدین ترتیب محیط هیپوکسیک را تشکیل می‌دهد [۹]. حالت هیپوکسیک منجر به فعال شدن HIF می‌شود، که بیان ژن‌های وابسته به HIF- از جمله فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) را فعال می‌کند، که در فرآیندهای رگ‌زایی سینوویوم و تداوم RA مهم هستند [۱۰]. VEGF و سایر فاکتورهای رشد مهم برای رگ‌زایی، مانند آنژیوپوتین ۲، فاکتورهای رشد جفت یا فاکتورهای رشد فیبروبلاست، توسط FLS ترشح می‌شوند و ماکروفاژهای سینوویالی فعال می‌شوند. نکته مهمتر اینکه هیپوکسی باعث تحریک گلیکولیز و آنزیم‌های خاص گلیکولیتیک از جمله

VEGF با افزایش شدت بیماری ارتباط دارد. VEGF به عنوان یک عامل بقا در سلول‌های غضروفی صفحه رشد در طول توسعه عمل می‌کند. در پیشرفت OA VEGF به عنوان یک عامل بقا در سلول‌های غضروفی صفحه رشد و به عنوان یک عامل تمایز در سلول‌های غضروف مفصلی عمل می‌کند [۱۷]. دنگ و همکاران در پژوهشی عنوان داشتند که تزریق داخل مفصلی موضعی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی باعث تخریب غضروف مفصلی در مدل آرتروز موش می‌شود. فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) به عنوان یک عامل موثر در رگ‌زایی و تنظیم‌کننده مهم انحطاط غضروف مفصلی در توسعه OA در نظر گرفته می‌شود. نشان داده شد که VEGF با از بین بردن ماتریکس غضروف مفصلی می‌تواند نقش مهمی در توسعه OA داشته باشد [۱۳]. ایناموتو و همکاران در پژوهشی عنوان داشتند که ایزوفرم‌های فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده‌های آنها در غضروف استخوان انسانی بیان شده است. نتایج نشان می‌دهد که VEGF و گیرنده‌های آن در غضروف OA بیان شده است و این احتمال را نشان می‌دهد که VEGF برای از بین بردن غضروف مفصلی OA از طریق افزایش تولید MMP نقش دارد [۲۱]. نتایج این مطالعه امیدوارانه در مورد نقش VEGF به عنوان یک نشانگر تشخیصی است. VEGF می‌تواند در تغییرات اولیه OA شرکت کند. یک روش درمانی با تعدیل تولید VEGF می‌تواند یک امکان برای آینده باشد [۲۲]. در حالی که VEGF نقش مهمی در بازسازی بافت دارد، تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که VEGF به عنوان یک عامل کلیدی در پیشرفت استئوآرتریت است. تولید آن عمدتاً توسط بار اضافی مکانیکی ناشی می‌شود و متالوپروتئینازهای ماتریکس ۱، ۳ و ۳ را افزایش می‌دهد. بیان بدون تغییر VEGF در سطح پروتئینی تحت تحریک مکانیکی اعمال شده بیانگر ماهیت متوسط و تعدیل شده تحریک مکانیکی است. تحت شرایط غیر استئوآرتریت

ایزومراز گلوکز-۶-فسفات (G6PI) و واسطه‌های گلیکولیتیک مانند لاکتات و سوکسینات شده که محرک قوی آنژیوژنیک هستند [۱۷]. تغییرات بیان FLS ناشی از FLS در سلول‌های غضروفی به طور قابل توجهی با نقص IL-6 لغو شد، در حالی که خنثی سازی TNF- $\alpha$  باعث تغییر در بیان ژن مرتبط با همزمانی FLS با سلول‌های غضروفی می‌شود. نتایج مطالعه حاضر بیشتر نشان می‌دهد که تغییرات مشاهده شده ممکن است تنظیم ناشی از HIF-2 $\alpha$  از گیرنده‌های خاص TNF- $\alpha$  در (FLS) و IL-6 (در کندروسیت‌ها) را منعکس کند [۱۸]. لین و همکاران در پژوهشی به بررسی ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی و کموکاین‌ها در استئوآرتریت ناشی از سینوویوسیت‌های شبه فیبروبلاست پرداختند. در حال حاضر، سینوویوسیت‌های شبه فیبروبلاست (FLS) به عنوان نقش محوری در پاتوژنز و پیشرفت بیماری‌های مفاصل روماتوئید و آرتروز شناخته شده است. FLS با همه محرک‌های سایتوکاین می‌توانند باعث آزاد شدن IL-6، IL-8، MCP-1 از هر دو OA و RA FLS به جز IFN-g شوند. در مقایسه با RA FLS، OA FLS تحریک شده توسط IL-1b می‌تواند بیشتر MCP-1 کموکاین تولید کند. تحقیقات نشان می‌دهد که سایتوکاین‌ها در محیط التهابی هر دو OA و RA وجود دارد که قادر به القاء FLS برای انتشار سیتوکین‌های پیش التهابی و کموکاین‌ها است که ممکن است فعالیت التهابی را به طرز چشمگیری افزایش دهد [۱۹]. التهاب در مفاصل مفصلی همچنین می‌تواند منجر به نئوآز عروقی در غضروف شود. در چنین شرایطی، بیان فاکتورهای آنژیوژنیک، مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، نشان داده شده است که نقش مهمی را ایفا می‌کند، نه تنها کنترل آنژیوژنز بلکه متابولیسم سلول‌های غضروفی را کنترل می‌کند [۲۰]. مطالعات گسترده ژنوم نشان می‌دهد که فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) A با استئوآرتریت (OA) همراه است و افزایش بیان



[۱۳]. VEGF و گیرنده‌های آن در غضروف OA بیان شده است و این احتمال را نشان می‌دهد که VEGF برای از بین بردن غضروف مفصلی OA از طریق افزایش تولید MMP نقش دارد.

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه امیدوارانه نشان داد که نقش VEGF به عنوان یک نشانگر تشخیصی است. VEGF می‌تواند در تغییرات اولیه OA شرکت کند و یک روش درمانی با تعدیل تولید VEGF می‌تواند یک امکان برای آینده باشد.

### تشکر و قدر دانی

این پژوهش مربوط به رساله دکتری خدیجه نیکنام است، بدین وسیله از همکاران دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری که در انجام این تحقیق محققین را همراهی نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

نشان داده شد که تکثیر سلولی تقویت شده مرتبط با کاهش بیان VEGF می‌باشد، که حاکی از نقش برجسته و اصلی VEGF در افزایش رشد سلول در کندروسیت‌ها می‌باشد. موراتا و همکاران در پژوهشی به بررسی نقش احتمالی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در غضروف و چگونگی دخالت عامل آنژیوژنیک در پاتوژنز آرتروز پرداختند. هدف قراردادن عوامل آنژیوژنیک از جمله VEGF ممکن است منظر جدیدی را به سمت ایجاد استراتژی‌های درمانی علیه تخریب غضروف در OA باز کند [۲۰].

النجار و همکاران در پژوهشی به بررسی نقش فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در آرتروز زانو پرداختند. نشان داده شد که VEGF ممکن است به عنوان یک ابزار بالقوه امیدوارکننده برای ارزیابی شدت بیماری در OA خدمت کنند [۲۳].

دنگ و همکاران در پژوهشی عنوان داشتند که تزریق داخل مفصلی موضعی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی باعث تخریب غضروف مفصلی در مدل آرتروز موش می‌شود

### References

- 1- Felson DT. Clinical practice. Osteoarthritis of the knee. Erratum in: N Engl J Med. 2006 Jun; 8;354(23):2520.
- 2- Goldring MB. Osteoarthritis and cartilage: The role of cytokines. Curr Rheumatol Rep. 2000 Dec;2(6):459-65
- 3- Quasnicka HL, Anderson-MacKenzie JM, Bailey AJ. Subchondral bone and ligament changes precede cartilage degradation in guinea pig osteoarthritis. Biorheology. 2006;43(3,4):389-97.
- 4- Rousseau JC, Delmas PD. Biological markers in osteoarthritis. Nat Clin Pract Rheumatol. 2007 Jun; 3(6):346-56.
- 5- Smith MD. The normal synovium. Open Rheumatol J. 2011 Dec, 5: 100–106.
- 6- Agarwal SK, Brenner MB. Role of adhesion molecules in synovial inflammation. Curr Opin Rheumatol. 2006 May; 18(3):268-76.
- 7- Lee DM, Kiener HP, Agarwal SK, Noss EH, Watts GF, Chisaka O, et al. Cadherin-11 in synovial lining formation and pathology in arthritis. Science. 2007 Feb; 16;315(5814):1006-10.
- 8- Kiener HP, Watts GF, Cui Y, Wright J, Thornhill TS, Skold M, et al. Synovial fibroblasts self-direct multicellular lining architecture and synthetic function in three-dimensional organ culture. Arthritis Rheum. 2010 Mar; 62(3):742-52.
- 9- Tas SW, Maracle CX, Balogh E, Szekanecz Z. Targeting of proangiogenic signaling pathways in chronic inflammation. Nat Rev Rheumatol. 2016 Feb; 12(2):111-22.
- 10- Veale DJ, Fearon U. Inhibition of angiogenic pathways in rheumatoid arthritis: potential for therapeutic targeting. Best Practice Res. 2006 Oct; 20(5):941-947

- 11- Lauzier A, Lavoie RR, Charbonneau M, Gouin B, Harper K, Dubois CM. Snail is a critical mediator of invadosome formation and joint degradation in arthritis. *Am J Pathol.* 2016 Feb; 186(2):359-74.
- 12- Nagao M, Hamilton JL, Berendsen AD, Duan X, Cheong CW, Li X, et al. Vascular endothelial growth factor in cartilage development and osteoarthritis. *Sci Rep.* 2017 Oct; 7(1):13027.
- 13- Deng S, Zhou JL, Peng H, Fang HS, Liu F, Weng JQ. Local intra-articular injection of vascular endothelial growth factor accelerates articular cartilage degeneration in rat osteoarthritis model. *Mol Med Rep.* 2018. Feb; 17(5):6311–18.
- 14- Tetlow LC, Adlam DJ, Woolley DE. Matrix metalloproteinase and proinflammatory cytokine production by chondrocytes of human osteoarthritic cartilage: associations with degenerative changes. *Arthritis Rheum.* 2001 Mar; 44(3):585–594.
- 15- Asadi S, Farzanegi P, Azarbayjani MA. Effect of exercise, ozone and mesenchymal stem cells therapies on the expression of IL-10 and TNF- $\alpha$  in the cartilage tissue of rats with knee osteoarthritis. *Social Determinants of Health.* 2018 October; 4(3): 162-170.
- 16- Lu L, Pan C, Chen L. AMPK activation by peri-sciatic nerve administration of ozone attenuates CCI-induced neuropathic pain in rats. *J Mol Cell Biol.* 2017 Apr; 9(2):132-143.
- 17- Nagao M. Distinct roles of vascular endothelial growth factor in cartilage development and osteoarthritis. *Sci Rep.* 2017 Oct; 12;7(1):365-366.
- 18- Huh YH, Lee G, Song WH, Koh JT, Ryu JH. Crosstalk between FLS and chondrocytes is regulated by HIF-2 $\alpha$ -mediated cytokines in arthritis. *Exp Mol Med.* 2015 Dec; 47(12): e197.
- 19- Lin JY, Ke Z, Zhong R. The secretion of proinflammatory cytokines and chemokines and in stimulation fibroblast-like synoviocytes of osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2012 Apr;20:S54–S296.
- 20- Murata M, Yudoh K, Masuko K. The potential role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in cartilage: how the angiogenic factor could be involved in the pathogenesis of osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartil.* 2008 Mar; 16(3):279–86.
- 21- Enomoto H, Inoki I, Komiya K, Shiomi T, Ikeda E, Obata .Vascular endothelial growth factor isoforms and their receptors are expressed in human osteoarthritic cartilage. *Am J Pathol.* 2003 Jan; 162(1):171–81.
- 22- Jansen H, Meffert RH, Birkenfeld F, Petersen W ,Puf T .Detection of vascular endothelial growth factor (VEGF) in moderate osteoarthritis in a rabbit model. *Ann Anat.*2012 Sep; 194(5):452-6.
- 23- Amany R, Najjar El, Nillie E, Khalil S,Khaled M, Gerby EL and et al. Vascular endothelial growth factor and colour Doppler ultrasonography in knee osteoarthritis: relation to pain and physical function. *Egypt. Rheumatol.* 2019 Apr; 41:139-143.