بررسی تاثیر بور بر ترمیم غضروف مفصلی در موش های بزرگ آزمایشگاهی

مسعود باقری [۱](M.D Student)، غلامرضا کاکا [۲*](Ph.D)، سید همایون صدرایی [۳](Ph.D)، سید سعید رضایی [۱](M.D Student)، محمود مفید [۳](M.Sc)، محمدرضا نقیئی [۲](Ph.D)

۱- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

۲- گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

۳- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: استئوآرتریت شایع‌ترین اختلال مفصلی در جوامع امروزی است. بور به عنوان عنصری مکمل می‌تواند از تاثیر موثر کلسیم، منیزیم و ویتامین D در بدن حمایت کند. هدف از این تحقیق بررسی اثر بور بر ترمیم غضروف مفصل آسیب‌دیده زانو در موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Sprague Dawley که به‌طور تصادفی به پنج گروه مساوی تقسیم شدند: گروه شاهد بدون هیچ مداخله‌ای، گروه شم میزان ۵۰ میکرولیتر سالین در داخل فضای مفصل زانوی راست تزریق شد، گروه مونو سدیم استات (MIA) مقدار ۳mg جهت ایجاد آسیب غضروف مفصلی تزریق شد، گروه درمان با بور از هفته سوم بعد از تزریق MIA و گروه پیشگیری با بور از روز اول تزریق MIA میزان ۱۵ mg/kg بور را روزانه در آب خوراکی دریافت کردند. بعد از هفت هفته از تزریق حیوانات کشته شده و پس از فیکساسیون و دکلسیفیکاسیون مقاطع ۵ میکرونی تهیه و تحت رنگ‌آمیزی Safranin O + Fast Green قرار گرفتند. میزان آسیب و درمان غضروف مفصلی بر اساس سیستم درجه‌بندی منکین (Modified Mankin's grading system) بر اساس مقدار رنگ‌پذیری غضروف مفصلی، ساختار، تعداد و کلونی کندروسیت‌ها در غضروف بود بررسی شد.

یافته‌ها: میزان رنگ‌پذیری غضروف مفصلی، ساختار، تعداد و کلونی کندروسیت‌ها در غضروف مفصلی گروه MIA و هر دو گروه درمان و پیشگیری در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش یافته بود که نشان‌دهنده آسیب غضروف مفصلی بود. اما این متغیرها در گروه‌های درمان و پیشگیری به‌صورت معناداری نسبت به گروه MIA افزایش یافته است ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: بور علاوه بر کاهش اثرات زیان‌بار و مخرب MIA بر روی غضروف مفصلی، تاثیر درمانی خوبی در جلوگیری از تخریب غضروف مفصلی در مدل استئوآرتریت نشان داده است.

واژه‌های کلیدی: التهاب استخوان و مفصل، بور، غضروف مفصلی، موش‌های صحرایی

مقدمه

استئوآرتریت (Osteoarthritis) شایع‌ترین اختلال مفصلی در بزرگسالان است [۱]. تمام مردم جهان صرف نظر از عواملی مثل جنس، نژاد، سطح بهداشت و وضعیت اقتصادی در معرض ابتلا به آن هستند. این بیماری اساساً غضروف مفاصل سینویال را درگیر می‌کند [۳،۲]. خطر از کار افتادگی به دلیل

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۴۸۴۳۸۹۷

Email: gh_kaka@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۲۳

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

استئوآرتریت زانو به تنهایی با بیماری‌های قلبی- عروقی یکسان است. با توجه به این‌که استئوآرتریت یک بیماری وابسته به سن است و با افزایش سن میزان ابتلا به آن افزایش می‌یابد، نیاز به مداخلات پزشکی و جراحی می‌تواند هزینه‌های اقتصادی- اجتماعی بالایی بر جامعه تحمیل می‌کند [۴]. شیوع این بیماری در آسیا و به‌ویژه ایران خصوصاً در افراد بالای ۶۵ سال به میزان بالایی گزارش شده است [۵]. مفصل زانو از شایع‌ترین مفاصلی است که در استئوآرتریت درگیر می‌شود [۶]. تغییرات متعددی که در طی ابتلا به استئوآرتریت رخ می‌دهند عامل ایجاد درد و ناتوانی شدید در بیماران می‌گردد که از جمله این تغییرات می‌توان به ضخیم شدن کپسول مفصلی، التهاب و تغییرات استخوانی، کاهش فضای مفصلی و هم‌چنین درگیری عضلات مجاور مفصل اشاره کرد. در نهایت این تغییرات باعث مختل شدن حرکت مفصل و محدودیت حرکت آن می‌شود [۶،۲]. معمولاً استئوآرتریت با آسیب‌دیدگی غضروف مفصلی شروع می‌شود [۷،۶]. سطح غضروف مفصلی در شرایط طبیعی صاف و یک‌دست است ولی با بروز استئوآرتریت، به تدریج دچار تغییراتی مانند ناصاف شدن سطح گردیده و شکاف‌های عمیق در آن ایجاد می‌شود. در نهایت غضروف مفصلی به تدریج و به طور پیش‌رونده از بین رفته و استخوان زیر غضروف کاملاً پدیدار گشته [۲] و بافت‌های نرم اطراف مفصل مانند پرده سینوویال، لیگامنت‌ها و عضلات نیز درگیر شده و درجات مختلفی از سینوویت ایجاد می‌شود [۸،۷]. تاکنون برای درمان استئوآرتریت داروهایی نظیر استامینوفن و ناپروکسن به خاطر خاصیت ضدالتهابی آن‌ها مورد استفاده قرار گرفته شده است [۹].

بور پنجمین عنصر در جدول تناوبی عناصر است. بور به عنوان عنصر مکمل سبب افزایش تاثیر کلسیم، منیزیم و ویتامین D در بدن می‌شود و به همین دلیل از نظر بالینی مورد توجه قرار گرفته شده است [۱۱،۱۰]. تحقیقات نشان داده است که استفاده از بور در سوخت و ساز حقیقی ویتامین‌ها و مواد معدنی مرتبط با رشد استخوان‌ها مانند کلسیم، مس، منیزیم و ویتامین D موثر است [۱۵-۱۲]. علاوه بر این، بور بر روی استروژن و احتمالاً تستوسترون و نیز هورمون‌هایی که در سلامت استخوان موثرند تاثیر می‌گذارد [۱۶،۱۲،۱۳]. لذا پیشنهاد شده که بور برای جلوگیری یا درمان پوکی استخوان مورد استفاده قرار گیرد. اگرچه هیچ مطالعه بالینی جهت ارزیابی اثرات مفید و بالقوه مکمل بور در ارتباط با استخوان وجود ندارد ولی بر اساس شواهد نه چندان قوی بور اغلب به عنوان مکمل برای درمان استئوآرتریت مورد استفاده قرار میگیرد [۱۷]. هم‌چنین به سبب اثر بور بر روی هورمون‌ها، استفاده از آن به عنوان مکمل تغذیه ورزشی توصیه شده است [۱۸]. در عین حال، تحقیقات متعدد موفق به یافتن شواهدی دال بر افزایش توده عضلانی و یا عمل‌کرد آن توسط بور نشده‌اند [۲۰،۱۹]. شواهد اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که در مناطقی از جهان که در آن مناطق، مردم مصرف مقادیر نسبتاً بالایی از بور (بین ۳ تا ۱۰ میلی‌گرم در روز) داشته‌اند بروز آرتریت بین صفر تا ۱۰ درصد بوده است و بالعکس در مناطقی که مردم، بور کم‌تری در رژیم غذایی خود) ۱ میلی‌گرم یا کم‌تر در روز) داشته‌اند بروز آرتریت بسیار بالاتر یعنی بین ۲۰ تا ۷۰ درصد بوده است [۱۷]. به طور کلی تغذیه نقش مهمی در استحکام و سلامت استخوان دارد [۲۱] و عدم تعادل در تنظیم فرآیند بازسازی استخوان که نیازمند کلسیم و سایر مواد معدنی از جمله بور است، می‌تواند منجر به ایجاد استئوآرتریت شود [۲۲]. علاوه بر این، ابتلا به آرتروز یا استئوآرتریت در افرادی که بور کم‌تری مصرف کرده‌اند در مقایسه با افرادی که در رژیم غذایی خود از بور بیش‌تری استفاده کرده‌اند شایع‌تر بوده است. این مشاهدات منجر به پیدایش این فرضیه شده است که مکمل بور می‌تواند برای افرادی که از استئوآرتریت رنج می‌برند مفید واقع شده و مصرف فراوان آن در رژیم غذایی به حفاظت از مفاصل در برابر پیشرفت استئوآرتریت منجر شود [۲۳]. با این وجود هنوز نتوانسته‌اند برای بور خاصیت آنتی‌اکسیدانی که بتواند مانع آزاد شدن رادیکال‌های آزاد از سلول‌های آسیب‌دیده گردد قائل شوند [۲۴]. اما تحقیقات نشان داده‌اند که مکمل بور

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

ممکن است بتواند ترمیم و سنتز غضروف آسیب‌دیده را تحریک کند. شاهد این مطلب گزارشی است که نشان می‌دهد مصرف مکمل بور بین ۶ تا ۹ میلی‌گرم در روز باعث بهبودی علائم آرتریت در ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به استئوآرتریت، آرتریت روماتوئید و آرتریت روماتوئید نوجوانان گردیده است [۲۵]، اگرچه مدارک و دلائل بالینی مستحکم اثبات‌کننده تاثیر بور بر بهبود غضروف مفصلی وجود ندارد. با توجه به مطالب ذکر شده، انجام مطالعات تجربی به منظور بررسی اثر بور بر محافظت و یا بهبود غضروف مفصلی ضروری به نظر می‌رسد. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثر محافظتی و درمانی مکمل غذایی بور بر ترمیم غضروف مفصل زانو و تغییرات هیستوپاتولوژیکی آن، با ایجاد استئوآرتریت در مدل تجربی در زانوی موش صحرایی با استفاده از مونو سدیم یدو استات می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی استفاده شده در این تحقیق موش‌های رت بالغ نژاد Sprague Dawley با وزن ۳۰±۲۰۰ گرم بودند که از بخش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) تهیه شد. موش‌ها در یک محیط کنترل شده، در دمای ۲۶-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵-۴۵درصد و ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. تمام موش‌ها به مدت یک هفته برای سازش با محیط در حیوان‌خانه دانشگاه بقیه الله (عج) نگه‌داری و با غذای استاندارد تغذیه شدند. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) انجام شد. این مطالعه تجربی در مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) تهران انجام شد.

در این تحقیق تعداد ۳۰ سر موش صحرایی به‌طور تصادفی به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند: گروه اول: گروه شاهد یاControl که هیچ ماده‌ای دریافت نکردند. گروه دوم: گروهSaline که ۵۰ میکرولیتر سالین به صورت داخل مفصلی در زانوی راست تزریق شد. گروه سوم: گروه تجربی مونو سدیم یدو استات (MIA) که به مقدار mg ۳ از این ماده جهت ایجاد آسیب غضروف مفصلی در داخل فضای مفصل زانوی راست تزریق گردید. گروه چهارم: گروه درمان با بور یا BT که از هفته سوم بعد از تزریق MIA، میزان mg/kg ۱۵ بور را روزانه (به صورت محلول خوراکی در آب) دریافت کردند. گروه پنجم: گروه پیشگیری با بور یا BP که از روز اول تزریق MIA، میزان mg/kg ۱۵ بور را روزانه (به صورت محلول خوراکی در آب) دریافت کردند. دوزهای بور به کار رفته در این تحقیق مطابق با مطالعه قبلی نقیئی و همکاران انتخاب گردیده است [۳۶].

روش ایجاد استئوآرتریت. ابتدا حیوانات با استفاده از ترکیب Ketamine با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و Xylazin با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شدند. پس از shaving پوست محل زانوی راست، مفصل زانو را به میزان ۹۰ درجه خم کرده، سپس(MIA (Sigma, Aldrich را با استفاده از محلول نرمال سالین حل نموده و در نهایت Lμ ۵۰ از MIA با دوز mg ۳ به صورت تک دوز در داخل مفصل زانوی راست موش‌های گروه‌های تجربی با استفاده از سوزن gauge ۲۶- تزریق انجام شد. لازم به ذکر است در ابتدا برای اثبات ایجاد استئوآرتریت و تخریب غضروف مفصلی زانو، ۷ سر موش صحرایی به صورت گروه پایلوت و آزمایشی تحت تزریق MIAدر مفصل زانوی راست قرار گرفتند. بعد از ۲۱ روز حیوانات را کشته و مفصل زانو مورد بررسی هیستوپاتولوژیک قرار گرفت و تخریب غضروف مفصلی و ایجاد استئوآرتریت مورد تأیید قرار گرفت.

نمونه‌برداری و مطالعه بافتی. حیوانات را پس از هفت هفته با استفاده از دوز بالای کلروفورم کشته و از پائین انتهای فوقانی استخوان تیبیا و از بالا انتهای تحتانی فمور را قطع کرده و مفصل زانوی موش‌ها را به مدت دو هفته در محلول فرمالین و اسید فرمیک ۱۰درصد قرار داده تا عمل فیکساسیون و دکلسیفیکاسیون انجام شود. پس از پردازش بافتی، برای تهیه برش‌های بافتی از میکروتوم (Microtome Rotary MR 2258 Histi Line Laboratories S.r.l.,

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

(Milano, MI, Italy) استفاده گردید و برش‌هایی با ضخامت پنج میکرون از مفصل زانو تهیه شد. این مقاطع با استفاده از رنگ‌آمیزی Safranin O + Fast Green رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ (DM R Microscope and Infinity digital imaging system Leica Microsystems, Wetzlar GmbH, Germany) مورد بررسی بافتی قرار گرفتند. این رنگ‌آمیزی، میزان رنگ‌پذیری غضروف را نشان می‌دهد و طبیعی است که کاهش میزان رنگ‌پذیری غضروف یکی از علائم سیر قهقرایی آن می‌باشد. عکس‌برداری از مقاطع بافتی توسط سیستم سخت‌افزاری و نرم‌افزاری موتیک با بزرگنمایی‌های x ۴۰ و x ۱۰۰ انجام شد. میزان آسیب غضروف مفصلی بر اساس روش اصلاح شده درجه‌بندی منکین (Modified Mankin's grading system) (جدول ۱). بر اساس شدت رنگ‌پذیری غضروف مفصلی، ساختار، تعداد و کلونی کندروسیت‌های غضروف نمره‌دهی شدند.

جدول ۱. روش اصلاح شده درجه بندی منکین نمره صفر حالت طبیعی و اعداد بالاتر تخریب بیشتر

شدت یا میزان رنگ پذیری غضروف مفصلی	رنگ پذیری شدید غضروف یعنی غضروف طبیعی=۰ کاهش رنگ پذیری در لایه سطحی=۲-۱ * کاهش رنگ پذیری در لایه سطحی و میانی=۴-۳ * کاهش رنگ پذیری در هر سه لایه=۶-۵ *
میانگین تعداد کندروسیتها	عدم کاهش=۰ کاهش خفیف=۱ کاهش متوسط=۲ کاهش شدید=۳ کاهش بسیار شدید=۴
ساختار غضروف مفصلی	طبیعی=۰ نامنظم بودن سطح=۱ وجود شکاف= بر اساس عمق و تعداد لایه از ۲ تا ۸
تعداد کلونی های سلولهای غضروفی	طبیعی=۰ خفیف=۱ (کمتر از ۴ کلونی) متوسط=۲ (بین ۴ تا ۸ کلونی) شدید=۳ (بیشتر از ۸ کلونی)

*بر اساس میزان رنگ پذیری غضروف که کمتر از نصف عمق غضروف روی کندیل رنگ گرفته باشد یا بیشتر از نصف آن

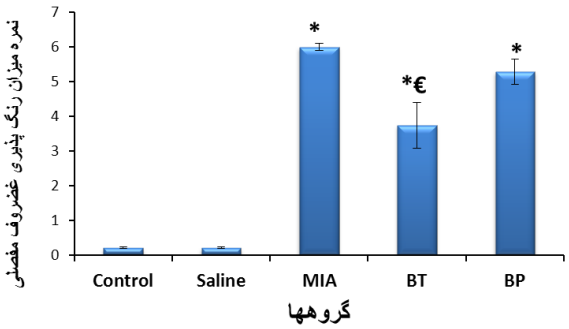
تجزیه و تحلیل آماری. داده‌های به دست آمده در نرم‌افزار Spss ویراست ۱۸ وارد شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تمام مقادیر بر حسب Mean±SEM ارائه شد. با توجه به این‌که پنج گروه مورد بررسی قرار گرفت اطلاعات به دست آمده توسط روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی Tukey مقایسه شد. سطح معنی‌داری کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

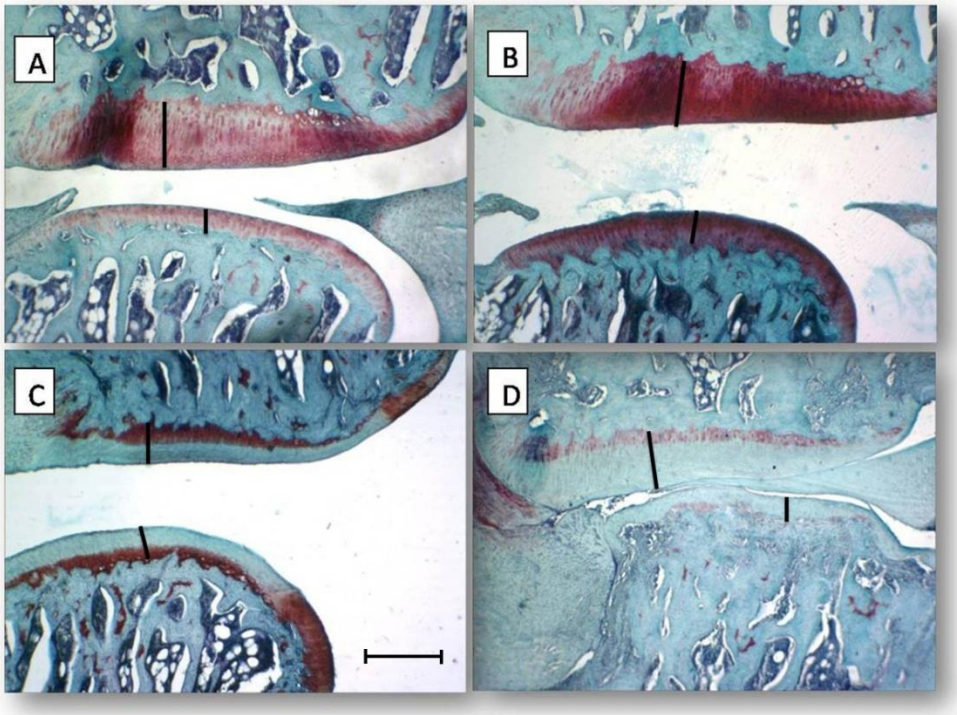
در بررسی انجام شده هیچ اختلاف مشخصی بین گروه‌های شاهد و شم یا سالین دیده نشد. میانگین شدت رنگ‌پذیری غضروف مفصلی در گروه‌های MIA (۶)، درمان (۰/۶۵±۳/۷۴) و پیشگیری (۰/۳۶±۵/۱۹) نسبت به گروه شاهد (۰) به طور معناداری کاهش یافته بود (P=۰/۰۰۰۱) که بیانگر آسیب غضروف مفصلی در هر سه گروه دریافت‌کننده MIA می‌باشد. میانگین شدت رنگ‌پذیری غضروف مفصلی در

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

گروه درمان نسبت به گروه MIA از کاهش معناداری برخوردار بود (P=۰/۰۰۰۵) (تصویر و نمودار ۱). میانگین تعداد کندروسیت‌ها در گروه‌های MIA (۰/۰۷±۳/۸۵)، درمان (۰/۱۴±۱/۴۴) و پیشگیری (۰/۱۳±۱/۹۸) نسبت به گروه شاهد (۰) به صورت معناداری کاهش یافته بود. اما میانگین تعداد کندروسیت‌های غضروف مفصلی در گروه درمان نسبت به گروه MIA از کاهش معنادار کم‌تری برخوردار بود (P=۰/۰۰۰۱) (تصویر و نمودار ۲). میانگین هموار بودن (Regularity) سطح غضروف مفصلی در گروه‌های MIA(۰/۱۴±۱/۱۲)، درمان (۰/۰۷±۰/۵۴) و پیشگیری (۰/۰۷±۰/۵۴) نسبت به گروه شاهد (۰) به طور معناداری کاهش یافته بود (P=۰/۰۰۰۱) البته میزان هموار بودن سطح مفصلی در گروه‌های درمان و پیشگیری نسبت به گروه MIA به شکل معناداری بهتر بود. میانگین تعداد کلونی سلول‌های غضروفی در گروه MIA (۰) به میزان معناداری نسبت به گروه شاهد (۰/۱۲±۱/۵) کاهش یافته بود (P=۰/۰۰۰۱). اما این میزان در گروه‌های درمان (۰/۰۹±۱/۴۵) و پیشگیری (۰/۰۸±۱/۴۹) نسبت به گروه MIA از کاهش معناداری برخوردار بود (P=۰/۰۰۰۱).

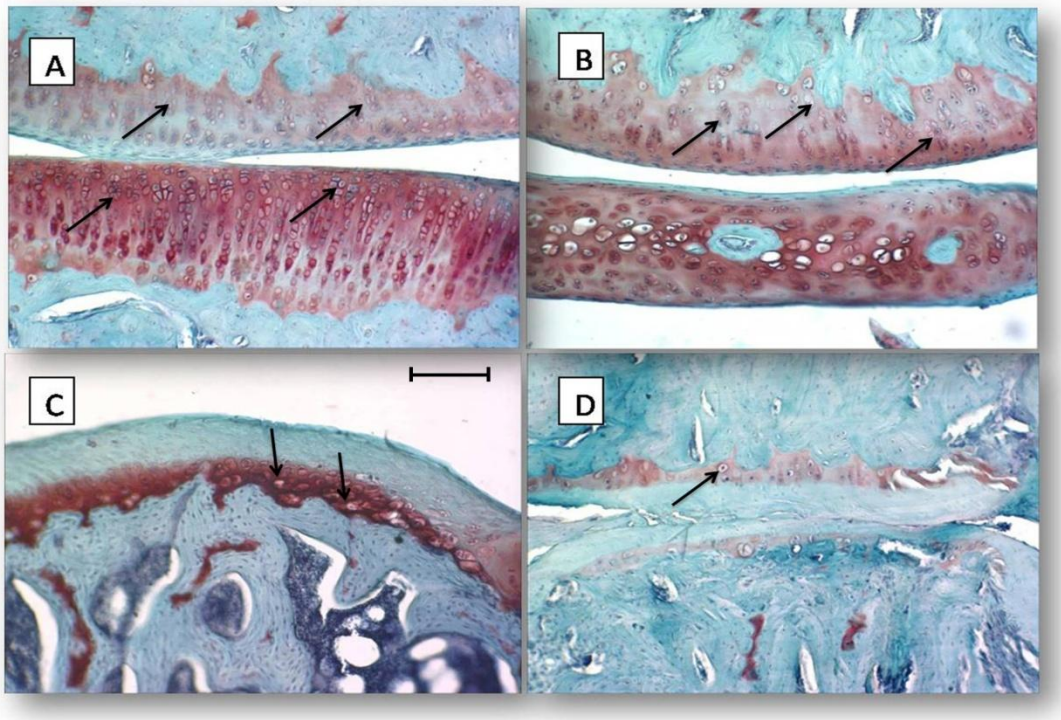


شکل ۱. میزان شدت رنگ پذیری غضروف مفصلی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. افزایش شدت رنگ پذیری در گروه شاهد با نمره پایین نسبت به گروه‌های تجربی با غضروف آسیب دیده. * نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه شاهد. € نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه مونو سدیم یدو استات(MIA). BT: گروه درمان با بور. BP: گروه پیش‌گیری با بور

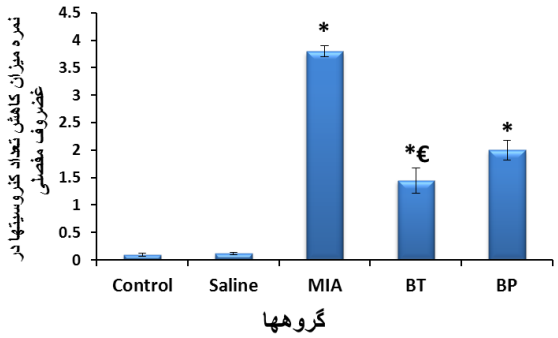


شکل ۲. رنگ پذیری غضروف مفصل زانو (در سطوح غضروفی سالم ضخامت غضروف کامل رنگ گرفته ولی در نواحی آسیب دیده رنگ پذیری کامل نیست. ضخامت غضروف با خطی مشکی در تصاویر نشان داده شده است.) در گروه شاهد شدت رنگ پذیری زیاد و شدید است (A). در گروه درمان با بور شدت رنگ پذیری نزدیک به طبیعی است و نسبت به گروه MIA افزایش معناداری دارد (B). درگروه پیشگیری با بور شدت رنگ پذیری متوسط است (C). درگروه مونو سدیم یدو استات یا MIA شدت رنگ پذیری کاملا ضعیف است (D). بزرگنمایی 40x و رنگ آمیزی Safranin O+ Fast Green طول بار ۴۰۰ میکرومتر.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]



شکل ۳. میانگین تعداد کندروسیت‌های غضروف مفصل زانو (کندروسیت‌ها با فلش در تصاویر نشان داده شده است). در گروه شاهد میانگین تعداد کندروسیت‌ها کاملا زیاد و مشخص است (A). درگروه درمان با بور میانگین تعداد کندروسیت‌ها نزدیک به طبیعی است و اختلاف معناداری با گروه MIA دارد (B). درگروه پیش‌گیری با بور میانگین تعداد کندروسیت‌ها کم شده است (C). درگروه مونو سدیم یدو استات یا MIA میانگین تعداد کندروسیت ها بسیار کم و ضعیف است (D). بزرگنمایی 100x و رنگ آمیزی Safranin O+ Fast Green طول بار ۱۰۰ میکرومتر.



شکل ۴. میانگین تعداد کندروسیت‌های غضروف مفصلی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. میانگین تعداد کندروسیت‌ها در گروه شاهد با نمره پایین نسبت به گروه‌های تجربی با غضروف آسیب دیده. * نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه شاهد. € نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه مونو سدیم یدو استات (MIA). BT: گروه درمان با بور. BP: گروه پیش‌گیری با بور.

بحث و نتیجه‌گیری

استئوآرتریت شایع‌ترین اختلال مفصلی است که به‌علت آسیب غضروف مفصلی شروع می‌شود [۶]. سطح غضروف مفصلی در شرایط طبیعی صاف و یک‌نواخت است که با بروز استئوآرتریت به تدریج ناصاف و آسیب‌پذیر می‌شود و به طور پیش‌رونده از بین رفته و در نهایت استخوان زیر غضروف مبتلا می‌شود [۲] و بافت‌های نرم اطراف مفصل مانند پرده سینوویال، لیگامنت‌ها و عضلات نیز درگیر می‌شوند [۸]. جهت درمان استئوآرتریت داروهایی نظیر استامینوفن و ناپروکسن مورد استفاده قرار گرفته است [۹]. عناصر کمیاب در فرآیندهای حیاتی مختلف مرتبط با سلامت نقش دارند [۲۶]. بور یک عنصر کمیاب محلول در آب است که در سلامت نقشی بسیار مهم دارد. بور فعالیت بسیاری از آنزیم‌های متابولیک، هورمون‌های استروئیدی و هم‌چنین ریزمغذی‌هایی مثل کلسیم، منیزیم و ویتامین D را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۷]. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان رنگ‌پذیری غضروف مفصلی، ساختار، تعداد و کلونی کندروسیت‌ها در غضروف مفصلی گروه MIA و هر دو گروه درمان و پیشگیری

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش یافته بود که نشان‌دهنده آسیب غضروف مفصلی بود. اما این متغیرها در گروه‌های درمان و پیشگیری به‌صورت معناداری نسبت به گروه MIA افزایش یافته است ($p<۰/۰۵$). شواهد اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که بر اساس آمار در مناطقی از جهان که در آن مناطق، مردم مصرف مقادیر نسبتاً بالایی از بور (بین ۳ تا ۱۰ میلی‌گرم در روز) داشته‌اند بروز آرتریت بین صفر تا ۱۰ درصد بوده است. و بالعکس در مناطقی که مردم آن مناطق بور کم‌تری در رژیم غذایی خود) ۱ میلی‌گرم یا کم‌تر در روز) داشته‌اند بروز آرتریت بسیار بالاتر یعنی بین ۲۰ تا ۷۰ درصد بوده است [۱۷]. در این تحقیق اثر محافظتی درمانی مکمل غذایی بور بر ترمیم غضروف مفصلی مطالعه گردید و تغییرات هیستوپاتولوژیکی متعاقب آن در مدل تجربی استئوآرتریت (ناشی از مونوسدیم یدو استات) در زانوی موش صحرایی نر مورد مطالعه قرار گرفت. تزریق داخل مفصلی مونوسدیم یدو استات (MIA) که فعالیت گلیسرآلدهید ۳ – فسفات دهیدروژناز را در کندروسیت‌ها مهار می‌کند، منجر به اختلال در گلیکولیز و در نهایت مرگ سلولی می‌شود. کاهش پیش‌رونده کندروسیت‌ها منجر به تغییرات هیستولوژیک و مورفولوژیکی در غضروف مفصلی می‌شود که دقیقاً الگوی استئوآرتریت در انسان را تقلید می‌کند [۳۴،۳۳]. اعتقاد بر این است که تخریب غضروف مفصلی در استئوآرتریت ناشی از اعمال نیروهای مکانیکال شدید، تغییرات وابسته به افزایش سن و عدم تعادل متابولیکی در بافت است [۲۸]. ویژگی پاتولوژیک استئوآرتریت در تخریب غضروف وابسته به تغییرات استخوان ساب کندرال شامل اسکلروز، کلاپس استخوان، کیست و استئوفیت است [۲۹]. فیبریلاسیون سطحی غضروف مرتبط با فقدان پروتئوگلیکان‌های کوچک است که به شدت به فیبریل‌های کوچک کلاژن می‌چسبند [۳۰]. از دست دادن این مولکول‌ها موجب افزایش شکسته شدن کلاژن نوع II توسط کلاژنازها می‌شود. در استئوآرتریت تخریب ماتریکس خارج سلولی بیش از سنتز آن است که این امر موجب کاهش ماتریکس می‌گردد. علت اولیه این روند بر اثر افزایش آنزیم‌های پروتئولیتیک است. ماتریکس متالوپروتیئنازها (MMPs) در تخریب ماتریکس غضروف در استئوآرتریت مشاهده شده است. هم‌چنین بیان فراوان چندین ژن MMPs در غضروف بیماران مبتلا به استئوآرتریت گزارش شده است [۳۲،۳۱]. نتایج تحقیق ما نشان داد که میزان رنگ‌پذیری غضروف مفصلی، ساختار، تعداد و کلونی کندروسیت‌ها در غضروف مفصلی هم در گروه MIA و هم در هر دو گروه درمان و پیشگیری با بور به‌طور معناداری نسبت به گروه شاهد کاهش یافته بود که نشان‌دهنده آسیب غضروف مفصلی در هر سه گروهی که MIA دریافت کرده‌اند بود. گرچه این متغیرها در گروه‌های درمان و پیشگیری با بور به‌صورت معناداری نسبت به گروه MIA افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$). به عبارت دیگر بور توانسته است تا حد زیادی از اثرات سوء MIA کاسته و از آسیب غضروف مفصلی جلوگیری نماید. با توجه به این‌که مطالعه‌ای در مورد اثر بور بر غضروف مفصلی صورت نگرفته است نمی‌توان یافته‌های مطالعه حاضر را با سایر یافته‌های محققین دیگر مقایسه کرد ولی نتایج حاصل از مطالعات Armstrong و همکاران (۲۰۰۱) و نقی‌ئی و همکاران (۲۰۰۶) در رابطه با اثر بور بر بافت‌های استخوانی و نقش مفید و مثبت مکمل‌سازی بورون به تنهایی بر خواص مکانیکی استخوان قابل استناد است [۳۷،۳۶]. هم‌چنین مطالعه Nielsen(۲۰۰۹) نیز نشان‌دهنده کاهش حداکثر استحکام فمور به دنبال کمبود بور است [۳۵]. از آن‌جا که بور به عنوان عنصر مکمل سبب افزایش تاثیر کلسیم، منیزیم و ویتامین D در بدن می‌شود از نقطه نظر بالینی مورد توجه قرار گرفته است [۱۱،۱۰]. دیگر تحقیقات نشان داده است که استفاده از بور در سوخت و ساز حقیقی ویتامین‌ها و مواد معدنی مرتبط با رشد استخوان‌ها مانند کلسیم، مس، منیزیم و ویتامین D موثر است [۱۵–۱۲]. علاوه بر این، بور بر روی استروژن و احتمالا تستوسترون و نیز هورمون‌هایی که در سلامت استخوان موثرند تاثیر می‌گذارد [۱۶،۱۲،۱۳]. لذا پیشنهاد شده که بور برای جلوگیری یا درمان پوکی استخوان مورد استفاده قرار گیرد. اگر چه هیچ مطالعه

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

بالینی جهت ارزیابی اثرات مفید و بالقوه مکمل بور در ارتباط با استخوان در انسان وجود ندارد ولی بر اساس شواهد نه چندان قوی بور اغلب به عنوان مکمل برای درمان استئوآرتریت مورد استفاده قرار میگیرد [۱۷]. هم‌چنین به سبب اثر بور بر روی هورمون‌ها، استفاده از آن به عنوان مکمل تغذیه ورزشی توصیه شده است [۱۸]. در عین حال، تحقیقات متعدد موفق به یافتن شواهدی دال بر افزایش توده عضلانی و یا عمل‌کرد آن توسط بور نشده‌اند [۲۰،۱۹]. احتمال می‌رود که بور بتواند ترمیم و سنتز غضروف آسیب‌دیده را تحریک کند، گرچه مدارک و دلائل بالینی و پایه مستحکمی وجود ندارد که اثبات‌کننده تاثیر بور بر بهبود غضروف مفصلی باشد. علاوه بر این، ابتلاء به آرتروز یا استئوآرتریت در افرادی که بور کم‌تری مصرف کرده‌اند در مقایسه با افرادی که در رژیم غذایی خود از بور بیش‌تری استفاده کرده‌اند شایع‌تر بوده است. این مشاهدات منجر به پیدایش این فرضیه شده است که مکمل بور می‌تواند برای افرادی که از آرتروز رنج می‌برند مفید واقع شده [۲۳] و مصرف فراوان بور در رژیم غذایی می‌تواند به حفاظت از مفاصل در برابر پیشرفت استئوآرتریت منجر شود. گرچه هنوز نتوانسته‌اند برای بور خاصیت آنتی‌اکسیدانی (که بتواند مانع آزاد شدن رادیکال‌های آزاد از سلول‌های آسیب‌دیده گردد) قائل شوند [۲۴]. گر چه امروزه از بعضی از مکمل‌های غذایی در تسکین درد و التهاب در بیماری استئوارتریت استفاده می‌شود [۳۹،۳۸] اما مکانیسم تاثیر آن‌ها در مفصل نظیر محافظت از کندروسیت‌ها یا ترمیم غضروف مفصلی و نهایتاً بهبود عمل‌کرد مفصل، هم‌چنان ناشناخته است [۴۰].

در نتیجه‌گیری نهایی می‌توان گفت که بور تا حد زیادی از اثرات سوء MIA کاسته و از آسیب غضروف مفصلی جلوگیری نموده است بدین ترتیب که میزان رنگ‌پذیری غضروف مفصلی، ساختار، تعداد و کلونی کندروسیت‌ها در غضروف مفصلی در گروه‌های درمان و پیشگیری با بور به‌طور معناداری نسبت به گروه MIA افزایش یافته و تاثیر درمانی نسبتاً قابل قبولی برای جلوگیری از تخریب غضروف مفصلی در مدل استئوآرتریت نشان داده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) بخاطر مساعدت جهت انجام این تحقیق تشکر و قدر دانی می‌گردد.

منابع

[1] Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet 2012; 380: 2163-2196.

[2] Eerola I, Salminen H, Lammi P, Lammi M, von der Mark K, Vuorio E, Saamanen AM. Type X collagen, a natural component of mouse articular cartilage: association with growth, aging, and osteoarthritis. Arthritis Rheum 1998; 41: 1287-1295.

[3] Young AA, Appleyard RC, Smith MM, Melrose J, Little CB. Dynamic biomechanics correlate with histopathology in human tibial cartilage: a preliminary study. Clin Orthop Relat Res 2007; 462: 212-220.

[4] Brosseau L, Wells G, Marchand S, Gaboury I, Stokes B, Morin M, et al. Randomized controlled trial on low level laser therapy (LLLT) in the treatment of osteoarthritis (OA) of the hand. Lasers Surg Med 2005; 36: 210-219.

[5] Davatchi F, Tehrani Banihashemi A, Gholami J, Faezi ST, Forouzanfar MH, Salesi M, et al. The prevalence of musculoskeletal complaints in a rural area in Iran: a WHO-ILAR COPCORD study (stage 1, rural study) in Iran. Clin Rheum 2009; 28: 1267-1274.

[6] Walker JM, Helewa A. Physical Rehabilitation in Arthritis. St. Louis: Saunders, 2004.

[7] Litwic A, Edwards MH, Dennison EM, Cooper C. Epidemiology and burden of osteoarthritis. Br Med Bull 2013; 105: 185-199.

[8] Abramson SB, Attur M. Developments in the scientific understanding of osteoarthritis. Arthritis Res Ther 2009; 11: 227.

[9] 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. Toxicol Pathol 2003; 31: 619-624.

[10] Naghii MR, Samman S. The role of boron in nutrition and metabolism. Prog Food Nutr Sci 1993; 17: 331-349.

[11] Miljkovic D, Miljkovic N, McCarty MF. Up-regulatory impact of boron on vitamin D function -- does it reflect inhibition of 24-hydroxylase? Med Hypotheses 2004; 63: 1054-1056.

[12] Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR. Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. FASEB J 1987; 1: 394-397.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

[13] Beattie JH, Peace HS. The influence of a low-boron diet and boron supplementation on bone, major mineral and sex steroid metabolism in postmenopausal women. Br J Nutr 1993; 69: 871-884.

[14] Benderdour M, Bui-Van T, Dicko A, Belleville F. In vivo and in vitro effects of boron and boronated compounds. J Trace Elem Med Biol 1998; 12: 2-7.

[15] Hunt CD, Herbel JL, Nielsen FH. Metabolic responses of postmenopausal women to supplemental dietary boron and aluminum during usual and low magnesium intake: boron, calcium, and magnesium absorption and retention and blood mineral concentrations. Am J Clin Nutr 1997; 65: 803-813.

[16] Samman S, Naghii MR, Lyons Wall PM, Verus AP. The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. Biol Trace Elem Res 1998; 66: 227-235.

[17] Newnham RE. Essentiality of boron for healthy bones and joints. Environ Health Perspect 1994; 102: 83-85.

[18] Naghii MR. The significance of dietary boron, with particular reference to athletes. Nutr Health 1999; 13: 31-37.

[19] Kreider RB. Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise. Sports Med 1999; 27: 97-110.

[20] Ferrando AA, Green NR. The effect of boron supplementation on lean body mass, plasma testosterone levels, and strength in male bodybuilders. Intern J Sport Nutr 1993; 3: 140-149.

[21] Cole JH, van der Meulen MC. Whole bone mechanics and bone quality. Clin Orthop Relat Res 2011; 469: 2139-2149.

[22] Wheeless CR, Editor. Duke orthopedics: Wheeless' textbook of orthopaedics. Last updated by Data Trace Staff on Friday, November 18, 2011.

[23] Watson-Clark RA, Banquerigo ML, Shelly K, Hawthorne MF, Brahn E. Model studies directed toward the application of boron neutron capture therapy to rheumatoid arthritis: boron delivery by liposomes in rat collagen-induced arthritis. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95: 2531-2534.

[24] Bliddal H, Christensen R. The treatment and prevention of knee osteoarthritis: a tool for clinical decision-making. Exper Opin Oharmacother 2009; 10: 1793-1804.

[25] Newnham RE. Arthritis or skeletal fluorosis and boron. Intern Clin Nutr Rev J 1991; 11: 68-70.

[26] Pasha Q, Malik SA, Shaheen N, Shah MH. Investigation of trace metals in the blood plasma and scalp hair of gastrointestinal cancer patients in comparison with controls. Clin Chim Acta 2010; 411: 531-539.

[27] Al-Rawi ZS, Gorial FI, Al-Shammary WA, Muhsin F, Al-Naaimi AS, Sa, Kareem a. Serum boron concentration in rheumatoid arthritis: correlation with disease activity, functional class, and rheumatoid factor. J Exp Integr Med 2013; 3: 9-15.

[28] Poole AR, Nelson F, Dahlberg L, Tchetina E, Kobayashi M, Yasuda T, et al. Proteolysis of the collagen fibril in osteoarthritis. Biochem Soc Symp 2003; 70: 115-123.

[29] Iannone F, Lapadula G. The pathophysiology of osteoarthritis. Aging Clin Exp Res 2003; 15: 364-372.

[30] Poole AR, Rosenberg LC, Reiner A, Ionescu M, Bogoch E, Roughley PJ. Contents and distributions of the proteoglycans decorin and biglycan in normal and osteoarthritic human articular cartilage. J Orthop Res 1996; 14: 681-689.

[31] Nagase H, Kashiwagi M. Aggrecanases and cartilage matrix degradation. Arthr Res Ther 2003; 5: 94-103.

[32] Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, Terlain B, Netter P, Gillet P. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. Arthr Rheum 1997; 40: 1670-1679.

[33] Dumond H, Presle N, Pottie P, Pacquelet S, Terlain B, Netter P, et al. Site specific changes in gene expression and cartilage metabolism during early experimental osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage 2004; 12: 284-295.

[34] Kobayashi K, Imaizumi R, Sumichika H, Tanaka H, Goda M, Fukunari A, Komatsu H. Sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis and associated pain model in rats. J Vet Med Sci 2003; 65: 1195-1199.

[35] Nielsen FH, Stoecker BJ. Boron and fish oil have different beneficial effects on strength and trabecular microarchitecture of bone. J Trace Elem Med Biol 2009; 23: 195-203.

[36] Naghii MR, Torkaman G, Mofid M. Effects of boron and calcium supplementation on mechanical properties of bone in rats. Biofactors 2006; 28: 195-201.

[37] Armstrong TA, Spears JW. Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. J Anim Sci 2001; 79: 3120-3127.

[38] Wang Y, Prentice LF, Vitetta L, Wluka AE, Cicuttini FM. The effect of nutritional supplements on osteoarthritis. Altern Med Rev 2004; 9: 275-296.

[39] Hungerford DS, Jones LC. Glucosamine and chondroitin sulfate are effective in the management of osteoarthritis. J Arthroplasty 2003; 18: 5-9.

[40] Biggee BA, McAlindon T. Glucosamine for osteoarthritis: part II, biologic and metabolic controversies. Med Health R I 2004; 87: 180-181.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]

Boron effect on articular cartilage repair in rat

Masoud Bagheri (M.D Student)[1], Gholamreza Kaka (Ph.D)* [2], Seyed Homayoon Sadraie (Ph.D)[2], Seyed Saeed Rezaei (M.D Student)[1], Mahmoud Mofid (M.Sc)[2], Mohammad Reza Naghii (Ph.D)[3]
1- Medical student of Baqiyatallah University of Medical Sciences (a.s), Tehran, Iran
2- Department of Anatomy, Baqiyatallah University of Medical Sciences (a.s), Tehran, Iran
3- Faculty of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences (a.s), Tehran, Iran

(Received: 29 Apr 2015; Accepted: 13 May 2015)

Introduction: Osteoarthritis is the most common joint disorder in modern societies. Elemental boron supplementation can support the influential effect of calcium, magnesium and vitamin D in the body. In that regard, the purpose of this study was to investigate the effect of boron on damaged knee joint cartilage in rats.

Materials and Methods: In this study 30 adult Sprague Dawley male rats were randomly divided into five groups: Control group with no intervention, Sham group with 50 ml saline (vehicle) injection into the right knee joint space, Mono- sodium acetate (MIA) group with 3 mg MIA injection into articular space, prophylactic group with 3 mg MIA injection into articular space and 15 mg/kg boron in drinking water, receiving daily from the first day of injection and therapeutic group with 3 mg MIA injection into articular space and 15 mg/kg boron in drinking water, receiving daily from the third week after injection. Seven weeks after injections, the animals were killed, right knee joint were fixated, decalcified and processed. Five micrometer articular slides were stained with Safranin O + Fast Green. Articular cartilage injuries were assessed in accordance with the Modified Mankin's grading system based on the rate of articular cartilage staining and the number of chondrocyte colonies in the articular cartilage.

***Results*:** Articular cartilage staining, mean number of chondrocyte colonies and cartilage chondrocytes in MIA, therapeutic and prophylactic groups significantly reduced in compare to control. On the other hand, the degree of articular cartilage staining, mean number of chondrocyte colonies and cartilage chondrocytes were significantly increased in both therapeutic and prophylactic groups in compare to MIA group ($P<0.05$).

Conclusion: In the present study, boron could greatly reduce the effects of MIA and prevent cartilage damage. It also showed a good therapeutic effect in preventing the destruction of cartilage in this osteoarthritis model.

Keywords: Osteoarthritis, Boron, Articular cartilage, Rats

* Corresponding author. Tel: +98 09124843897
gh_kaka@yahoo.com

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-03]