

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

### چکیده

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

مرکز تحقیقات روماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی  
تهران

\*نویسنده مسئول: تهران، بلوار شهید تندگویان،  
بیمارستان امیر المومنین تلفن: ۵۵۳۴۶۳۵۰-۵۵۳۴۶۳۳  
email: samadi\_rheu@yahoo.com

### مقدمه

پروتئین شوک حرارتی (Heat shock protein) اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط Ritossa معرفی شد. Ritossa نشان داد که در اثر حرارت باز آرای کروماتین حشره میوه به نام *Drosophila buschii* ایجاد می شود و نتیجه گیری نمود که ژن های سنتز کننده این ماده در اثر حرارت فعال می شوند لذا آن را پروتئین شوک حرارتی نامید.<sup>۱</sup> پروتئین شوک حرارتی در سلول های نرمال وجود داشته و از ایجاد ساختمان فضایی نادرست که در اثر چین خوردن غلط پروتئین ها ایجاد می شود جلوگیری می کند<sup>۲</sup> ولی در اثر استرس های بیولوژیک و مواد شیمیایی سمی و التهاب افزایش یافته در حفاظت سلول در برابر استرس ها مفید است.<sup>۳</sup> این پروتئین ها ایمونوزن قوی بوده و می توانند در پاتوزن بیماری های اتوایمیون مانند دیابت، آرتریت روماتوئید و

زمینه و هدف: بافت سینویال بیماران آرتریت روماتوئید به صورت پروسه التهابی مزمن است که سبب تغییر در هموستاز سلولی شده که به آسیب بافتی منجر می شود اگر چه سلول T و آنتی بادی علیه HSP60 در پاتوزن آرتریت روماتوئید دخیل است ولی نقش پروتئین شوک حرارتی - ۷۰ هنوز کاملاً واضح نمی باشد. در این مطالعه سطح پروتئین شوک حرارتی در مایع سینویال بیماران آرتریت روماتوئید و اوستئوآرتریت مقایسه می گردد. روش بررسی: مایع سینویال مفصل زانو ۳۴ بیمار مبتلا به اوستئوآرتریت با میانگین سنی ۵۹/۵۹±۹/۰۱ (۲۱ زن و ۱۳ مرد) که دارای افیوژن زانو می باشند و از یک ماه قبل داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف نموده اند و ۳۴ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید ساکن تهران با میانگین سنی ۴۹/۲۴±۱۲/۴۶ سال (۲۵ زن و ۹ مرد) که تحت درمان با متوترکسات و کلروکین و پردنیزولون دوز کمتر از ۱۵ میلی گرم بوده و داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف نموده اند، مورد بررسی قرار گرفت. یافته ها: میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در مایع مفصلی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید به طور قابل توجهی از بیماران مبتلا به اوستئوآرتریت بالاتر بوده است و سطح ماده فوق در بیماران دچار دردهای مکانیکال زانو توام با افیوژن غیر التهابی بوده مشابه بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید می باشد. نتیجه گیری: سطح پروتئین شوک حرارتی در اوستئوآرتریت پائین تر است که بیانگر فقدان نقش این ماده در پاتوزن اوستئوآرتریت می باشد. با توجه به اینکه سطح این پروتئین در مایع مفصل مبتلایان به آرتریت روماتوئید مشابه سطح بیماران مبتلا به اوستئوآرتریت می باشد نقش عوامل سیتوکین را در افزایش ماده فوق مطرح می سازد.

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

لوپوس دخیل باشند.<sup>۴</sup> در اثر بیماری آرتریت روماتوئید پروسه التهابی مزمنی ایجاد می گردد که منجر به تغییر هموستاز سلولی گردیده و در نهایت باعث آسیب بافتی می گردد. در بافت سینویال ملتهب بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید عوامل استرسور متفاوتی وجود دارد که هر کدام قادر به ایجاد واکنش استرس و نمایش پروتئین شوک حرارتی می شوند.<sup>۵</sup> از جمله این عوامل سیتوکین های پیش التهابی مثل IL-1 TNF- $\alpha$  می باشند که در بروز پدیده التهاب و تخریب نقش دارند. آزادی مداوم سیتوکین های پیش التهابی و نیز داروهای ضد التهابی سبب رخداد شرایط غیرنرمال برای سلول سینویال شده که منجر به نمایش پروتئین های شوک حرارتی می گردد<sup>۶</sup> علاوه بر این سلول های سینویال مانند سلول اندوتلیال در معرض شدت بالای استرس های مکانیکی ناشی از حرکت مفصل می باشد استرس های

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

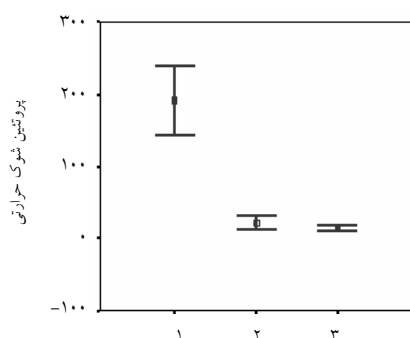
### یافته‌ها

۳۴ بیمار آرتريت روماتوئید با میانگین سنی  $49/24 \pm 12/46$  سال (۲۵ زن و ۹ مرد) با ۳۴ بیمار مبتلا به اوستئوآرتريت زانو با میانگین سنی  $59/59 \pm 9/01$  (۲۱ زن و ۱۳ مرد) مقایسه گردیدند. میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی  $70$  در مایع مفصلی بیماران آرتريت روماتوئید  $156/30 \pm 128/51$  و در اوستئوآرتريت  $14/98 \pm 11/58$  بود که براساس آزمون آماری independent t-test با هم اختلاف قابل توجه ( $p < 0/0001$ ) دارند (نمودارهای ۱ و ۲). در بین بیماران آرتريت روماتوئید هفت بیمار دچار دردهای مکانیکال زانو توام با افیوژن غیر التهابی بودند که میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی  $70$ - مایع مفصلی بیماران فوق  $21/93 \pm 10/06$  بود و در ۲۷ بیمار دچار عود التهابی مفصل زانو که میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی  $70$ - مایع مفصلی  $191/14 \pm 121/73$  بود. از طرفی در ۳۴ بیمار اوستئوآرتريت میانگین سطح پروتئین شوک حرارتی  $70$ - معادل  $14/98 \pm 11/58$  به‌دست آمد. در ارزیابی ارتباط بین متغیرهای فوق با استفاده از آزمون one-way ANOVA و آزمون تکمیلی Dunnett' C بین گروه‌های دردهای مکانیکال و التهابی زانو در بیماران آرتريت روماتوئید اختلاف معنی‌دار می‌باشد. ( $p < 0/0001$ ) از طرفی در بین سطح پروتئین شوک

مکانیکی اثر عمیقی بر روی متابولیسم سلول سینویال دارد.<sup>۷</sup> این مطالعه جهت مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید و اوستئوآرتريت انجام گردید.

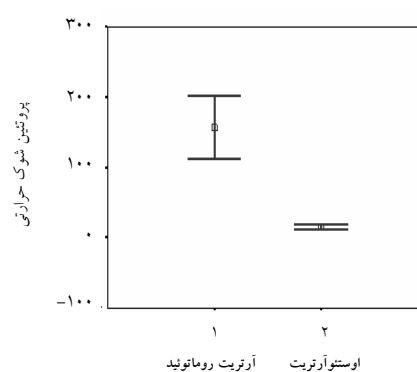
### روش بررسی

جهت مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی مایع مفصل بیماران مبتلا به اوستئوآرتريت و آرتريت روماتوئید مطالعه فوق به‌روش موردی-شاهدی انجام شد. ۳۴ بیمار مبتلا به اوستئوآرتريت ساکن تهران (طبق معیار ACR) که دارای مایع مفصلی زانو می‌باشند و از یک‌ماه قبل داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف ننموده‌اند و ۳۴ بیمار مبتلا به آرتريت روماتوئید ساکن تهران که تحت درمان با داروهای زمینه و پردنیزولون دوز کمتر از ۱۵ میلی‌گرم بوده و داروی ضد التهابی غیر استروئیدی مصرف ننموده‌اند. مایع سینویال از مفصل زانو از ناحیه سوپرا پاتلار با تکنیک استریل درناژ گردید. آنالیز مایع مفصلی از نظر شمارش گلبول‌های سفید مایع سینویال با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ انجام شد سپس مایع مفصلی در درجه حرارت مناسب نگهداری شد و پس از اتمام جمع‌آوری نمونه‌ها سنجش سطح پروتئین شوک حرارتی  $70$  با روش الیزا توسط کیت StressXpress از کارخانه Stressgen Biotechnologies کانادا انجام گردید. نتایج با برنامه نرم افزار آماری SPSS ویراست دهم آنالیز گردید. مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی  $70$  در بیماران اوستئوآرتريت و آرتريت روماتوئید با روش t-test انجام شد و سایر موارد که مقایسه چند گروهی بود با روش ANOVA و روش‌های تکمیلی آزمون تکمیلی Dunnett' C آنالیز گردید. در ابتدای کار پس از توضیح کامل در مورد



نمودار ۱- مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی در مایع مفصلی مکانیکی و التهابی بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید و اوستئوآرتريت

نمودار ۲- مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی در مایع مفصلی مکانیکی و التهابی بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید و اوستئوآرتريت



نمودار ۱- مقایسه سطح پروتئین شوک حرارتی  $70$  در بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید و اوستئوآرتريت

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

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

## بحث

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

## References

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

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

### Abstract

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

Rheumatology research center,  
Tehran University of Medical  
Sciences

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

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

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

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

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

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