

بررسی چگونگی تأثیر قطع لیگامنت متقاطع قدامی بر ویژگی‌های بیومکانیکی و بافت‌شناسی غضروف مفصلی زانو در خرگوش

زهرا سادات رضائیان^۱، گیتی ترکمان^{۲*}، علیرضا صباغیان^۳، علی استکی^۴، رویا رواند^۵،
معصومه دادپی^۵

چکیده

مقدمه: لیگامنت متقاطع قدامی (ACL یا Anterior cruciate ligament) یکی از مهم‌ترین عوامل ثبات و کنترل حرکت در مفصل زانو می‌باشد که آسیب آن عوارض جدی حرکتی برای فرد به دنبال دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر قطع کامل این لیگامنت در زانوی خرگوش بر خواص بافت‌شناسی و بیومکانیکی غضروف مفصل مبتلا انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۱۰ سر خرگوش نر بالغ سفید از نژاد Dutch در دو گروه تقسیم شدند. در گروه جراحی، لیگامنت متقاطع قدامی زانوی چپ حیوان با جراحی قطع شد. اطلاعات بافت‌شناسی، ویژگی‌های بیومکانیکی و ضخامت غضروف فمور و تیبیای زانوی چپ پس از ۶۲ روز از انجام جراحی ثبت شد. در گروه سالم، حیوان در این مدت تحت هیچ گونه مداخله‌ای قرار نگرفت. مشخصات بیومکانیکی پلاتوی داخلی تیبیا و کندیل داخلی فمور چپ در تست تنش-استراحت (Stress-relaxation) دو فازه (Biphasic) بررسی گردید. با استفاده از داده‌های استخراج شده، حداکثر نیرو، ضریب الاستیک، نیروی تعادلی و ضریب تعادلی محاسبه گردیدند. مقایسه داده‌ها با آزمون Man-Whitney U صورت گرفت. برای جلوگیری از خطای ناشی از انجام تست بیومکانیکی، مطالعه بافت‌شناسی در پلاتوی خارجی تیبیا و کندیل خارجی فمور انجام شد.

یافته‌ها: در گروه جراحی، غضروف مفصلی فمور و تیبیای چپ هر دو تخریب شدند؛ در حالی که تنها ضخامت غضروف فمور کاهش معنی‌داری نسبت به گروه سالم نشان داد ($P = 0/009$). کلیه پارامترهای بیومکانیکی فمور در گروه جراحی نسبت به گروه سالم کاهش نشان دادند ($P < 0/05$). تنها استثنا در این زمینه ضریب تعادلی (Aggregate modulus) بود که مقدار آن در دو گروه به طور تقریبی یکسان بود. مشخصات بیومکانیکی غضروف تیبیا تفاوت خاصی در دو گروه نشان نداد.

نتیجه‌گیری: در ۹ هفته اول پس از قطع کامل لیگامنت متقاطع قدامی، در حالی که شدت تغییرات ساختاری در غضروف مفصلی فمور تا حدودی کمتر از تیبیا است، تغییرات عملکردی اغلب در غضروف فمور مشاهده شد. اما غضروف تیبیا با وجود تخریب قابل ملاحظه، همچنان خواص بیومکانیکی خود را حفظ نمود. تغییرات گزارش شده در این مقاله می‌تواند مدرک مضاعفی باشد دال بر اینکه این مدل حیوانی، تغییرات خاص ناشی از استئوآرتریت را به خوبی نشان می‌دهد.

کلید واژه‌ها: قطع لیگامنت متقاطع قدامی، غضروف مفصلی، بیومکانیک، استئوآرتریت ثانویه، خرگوش

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۱۷

* استاد، گروه فیزیوتراپی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

Email: torkamg@modares.ac.ir

۱- دانشجوی دکتری فیزیوتراپی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- متخصص و جراح ارتوپد، بیمارستان اختر، تهران، ایران

۳- استاد بیومکانیک، گروه فیزیک پزشکی و مهندسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دکتری فیزیوتراپی، مرکز جامع درمان هموفیلی، تهران، ایران

۵- استادیار پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

مقدمه

مفاصل واحدهای عملکردی هستند که نیروها را با کمک اجزای مختلف خود مانند غضروف مفصلی، استخوان، عضلات، لیگامنت، تاندون و اعصاب بین استخوان‌های شرکت کننده در مفصل انتقال می‌دهند (۱). اختلال در عملکرد هر یک از این اجزا می‌تواند باعث اختلال در عملکرد مفصل و در نتیجه افزایش آسیب به سایر اجزای مفصل گردد (۱). آسیب لیگامنت متقاطع قدامی یکی از شایع‌ترین آسیب‌های ورزشی است و ارتباط مستقیمی با تغییرات ساختاری میکروسکوپی و ماکروسکوپی غضروف مفصلی دارد. با گذشت زمان، تغییر سطح تماس غضروف مفصلی و بنابراین تغییر الگوی توزیع فشار در مفصل آسیب دیده، باعث تخریب غضروف و در نهایت بروز استئوآرتریت (OA یا Osteoarthritis) می‌گردد (۲).

در زنان، یکی از مهم‌ترین دلایل استئوآرتریت ثانویه، Laxity غیر طبیعی مفصل به دنبال آسیب لیگامنتی است (۳) به نحوی که به طور تقریبی، تمام مبتلایان به پارگی ACL با گذشت زمان دچار استئوآرتریت می‌شوند (۴).

مدل‌های حیوانی، جایگزین ارزشمندی برای مطالعه و شناسایی جنبه‌های مختلف استئوآرتریت در انسان می‌باشند (۵، ۶). در مدل‌های تجربی در حیوانات، اغلب با استفاده از تداخلات بیومکانیکی در مفصل، مراحل اولیه استئوآرتریت شبیه‌سازی می‌شود (۷). یکی از پرکاربردترین روش‌های القای بی‌ثباتی در مفصل زانو و بنابراین استئوآرتریت، بریدن لیگامنت متقاطع قدامی (Anterior cruciate ligament transection) یا ACLT است (۷-۱۰). زانوی خرگوش یک مدل پذیرفته شده برای مطالعه بافت شناسی، بیوشیمیایی و بیومکانیکی غضروف و استخوان در شرایط *In vivo* و *In vitro* است. شرایط *In vivo* عبارت است از زمانی که ارزیابی بافت در شرایط آزمایشگاهی مشابه شرایط درون بدن انجام می‌شود. به عنوان مثال در بررسی اصطکاک مفصل، کپسول مفصلی باز نمی‌شود و حرکت دو سطح شرکت کننده در مفصل بررسی می‌شود. در این جا عضلات اطراف مفصل، عصب‌دهی ساختارهای مفصلی، مقدار نیروی وارد بر مفصل و ... با شرایط طبیعی فرق دارد یا اثر آن‌ها حذف شده است، اما محیط

حرکتی غضروف‌های مفصلی تا حد زیادی حفظ شده است. شرایط *In vitro* عبارت است از زمانی که ارزیابی بافت در شرایط آزمایشگاهی متفاوت با شرایط درون بدن انجام می‌شود. به عنوان مثال در بررسی اصطکاک مفصل، غضروف مفصلی در برابر یک سطح مسطح شیشه‌ای یا فولادی در جهت معینی حرکت داده می‌شود و بین آن‌ها مایع مفصلی گاو یا سرم فیزیولوژی که از نظر خواص تاحدودی شبیه مایع سینویال انسان است، قرار داده می‌شود (۱۳-۱۰، ۸). هر چند این مدل حیوانی کاربرد وسیعی در مطالعات غضروف دارد، اما در مورد ویژگی‌های غضروف سالم و مبتلا به استئوآرتریت خرگوش اختلاف نظر زیادی بین محققان وجود دارد (۱۵، ۱۴، ۱۲، ۹، ۸).

تاکنون خواص مادی (Material properties) غضروف مفصلی با روش‌های مختلف مانند اعمال بار فشاری در شرایط Confound/unconfound و ایندنتاسیون (Indentation) (۱۵) در مدل‌های حیوانی بررسی شده است (۱۶) و از این میان استفاده از ایندنتاسیون به عنوان یک روش غیر تخریبی (۱۸، ۱۷) با کاربرد آسان، شایع‌تر از سایر روش‌ها است (شرایط Confound/unconfound دو روش تست بیومکانیکی فشاری است. در روش Confound نمونه درون یک استوانه توخالی قرار داده می‌شود و بنابراین در صورت اعمال فشار نمی‌تواند پهن شود و تغییر شکل آن تنها به صورت کاهش ارتفاع خواهد بود. در این حالت، دیواره‌های استوانه باعث اعمال نیروی فشاری از محیط به نمونه می‌شوند. به عبارتی، نمونه به صورت سه بعدی فشرده می‌شود. در روش Unconfound این استوانه وجود ندارد و بنابراین هم‌زمان با اعمال فشار، جسم می‌تواند پهن شود).

در مطالعه حاضر با استفاده از مدل ACLT خرگوش تغییرات بیومکانیکی ایجاد شده در غضروف مفصلی بررسی و با حیوان سالم مقایسه گردید؛ در حالی که در سایر مطالعات برای صرفه‌جویی در هزینه‌ها و زمان، اغلب به جای گروه کنترل از مفصل مقابل که مورد جراحی قرار نگرفته باشد، استفاده می‌شود. بر اساس مطالعات بافت شناسی و مورفومتریک موجود، عمده تغییرات تخریبی ناشی از بی‌ثباتی مفصل، ظرف ۸ هفته اول پس از جراحی در غضروف ظاهر می‌شوند

تعیین مشخصات غضروف سالم قربانی شد. مراحل مختلف انجام این تحقیق مورد تأیید کمیته اخلاق در نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد.

عمل جراحی

ترکیب بی‌هوشی به نسبت وزنی ۱ به ۱ شامل ۵۸/۳۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کتامین (Ketamine HCl) ساخت شرکت Alfasan Co. (وردن، هلند) و ۵۸/۳۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن زایلازین (Xylazine HCl) ساخت شرکت Alfasan Co. (وردن، هلند) تهیه شد. حیوان با تزریق زیرپوستی یک میلی‌لیتر از ترکیب در ناحیه بین دو استخوان کتف، کرخت شد. در این زمان ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن جنتامایسین (GentaDic) ساخت شرکت کاسپین تمیم، رشت، ایران) و دو میلی‌لیتر پنی‌سیلین جی پروکائین (ساخت شرکت زکریا، تبریز، ایران) با هدف پیشگیری از وقوع عفونت (Prophylaxy) و به صورت جداگانه در عضله همسترینگ پای راست تزریق شد. دو دقیقه پس از انجام بی‌هوشی سطحی، ۲/۵ میلی‌لیتر از ترکیب بی‌هوشی در عضله همسترینگ پای راست حیوان تزریق شد.

عمل جراحی برای تمام حیوانات به وسیله یک جراح صورت گرفت. موهای زانوی چپ تراشیده شدند. پوست ابتدا به وسیله الکل سفید تمیز و سپس با استفاده از بتادین ضد عفونی شد. مفصل با یک برش یک سانتی‌متری در سمت داخل زانو، حد فاصل تاندون پتلا و لیگامنت جانبی داخلی (Medial collateral ligament)، ۲-۳ میلی‌متر داخل به تاندون پتلا مفصل باز شد. سپس کشکک با شست به سمت خارج فرستاده و زانو ۹۰ درجه خم شد. لیگامنت متقاطع قدامی مشاهده و به کمک قیچی مخصوص (۸۳ mm micro scissor) با دسته فنی و تیغه منحنی) به طور کامل از بخش میانی لیگامنت بریده شد. برای اطمینان از قطع کامل لیگامنت تست Anterior drawer انجام شد و البته پس از قربانی کردن حیوان در پایان مطالعه، با مشاهده مفصل بر صحت عمل انجام گرفته، صحه گذاشته شد. درون مفصل با سرم فیزیولوژی استریل شست‌وشو داده شد. سپس زانو چند بار باز و بسته شد تا مابع استفاده شده از داخل مفصل خارج گردد.

بنابراین مفاصل حیوانات ۹ هفته پس از انجام جراحی، زمانی که به طور حتم تغییرات بیوشیمیایی و مورفومتریک در غضروف اتفاق افتاده‌اند، از لحاظ بیومکانیکی بررسی شدند و مشخصات غضروف در پای جراحی شده با پای حیوانات سالم هم‌سن با گروه مطالعه در زمان انجام جراحی، مقایسه گردید. این طرح به بهترین شکل پارگی ACL در زانوی انسان را که به طور معمول به صورت یک طرفه اتفاق می‌افتد، شبیه‌سازی می‌کند.

مواد و روش‌ها

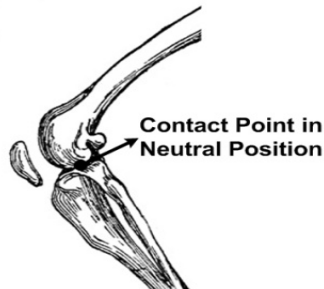
این مطالعه یک مطالعه پایه تجربی- مداخله‌ای (Basic experimental-interventional study) بود که روی دو گروه ۵ تایی خرگوش نر بالغ سفید نژاد Dutch (گروه جراحی و گروه سالم) انجام شد. تا زمان انجام پژوهش، مطالعه‌ای که در آن هم‌زمان از هر دو جنس در نمونه‌گیری استفاده شده باشد وجود نداشت. با وجود این، برای جلوگیری از تأثیر احتمالی جنس و تفاوت‌های هورمونی، تمام حیوانات نر انتخاب شدند. در مطالعات موجود، توجهی به تفاوت احتمالی میان دو جنس نشده بود و نتایج به دست آمده در هر جنس، به هر دو تعمیم داده می‌شود.

نمونه‌گیری

تعداد ۱۰ سر خرگوش (میانگین وزن $0.47 \pm 1/74$ کیلوگرم) از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی کرج به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند و به صورت انفرادی در قفس‌هایی به ابعاد $0/54 \times 0/4 \times 0/37$ (طول \times عرض \times ارتفاع) با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص خرگوش و امکان تحرک آزادانه نگهداری شدند. دمای اتاق حیوانات ۲۰-۱۴ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی- خاموشی ۱۲/۱۲ ساعت تنظیم گردید (۲۲).

حیوانات به طور تصادفی در دو گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه جراحی یک روز پس از انتقال به آزمایشگاه مورد عمل جراحی ACLT روی زانوی چپ قرار گرفت و پس از ۹ هفته از تاریخ عمل برای تعیین تغییرات بیومکانیکی، بافت شناسی و ضخامت غضروف قربانی شد. گروه سالم در این مدت تحت هیچ مداخله‌ای قرار نگرفت و هم‌زمان با گروه جراحی برای

محل انجام تست در تمام نمونه‌ها نقطه مرکزی پلاتوی داخلی تیبیا و قله قوس کندیل داخلی فمور (شکل ۱) تعریف شد (۲۷، ۱۱، ۹). در خرگوشی که در قفس نگهداری می‌شود، این نقطه در بیشتر ساعات روز به دلیل وضعیت چمباتمه (Squatting position) تحت بار فشاری قرار دارد (۱۱).



شکل ۱. نقطه سیاه رنگ، محل تماس در وضعیت چمباتمه در خرگوش را نشان می‌دهد. محل قرار گرفتن ایندنتور روی پلاتوی داخلی تیبیا و کندیل داخلی فمور نیز همین نقطه است.

ابتدا Preload برابر با ۰/۰۱ نیوتن برای ثابت کردن Indentor روی غضروف اعمال شد، سپس ۲۵ درصد کرنش (Strain) با نرخ ثابت ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه اعمال و به مدت ۱۰۰۰ ثانیه ثابت حفظ شد تا آب میان بافتی غضروف به درون استخوان فرستاده شود و غضروف به وضعیت تعادل برسد (۲۸-۳۰، ۲۵). از آنجا که بر اساس منابع موجود ضخامت غضروف خرگوش به طور متوسط ۰/۴ میلی‌متر است، این میزان کرنش، به طور تقریبی ۰/۱ میلی‌متر جا به جایی در غضروف ایجاد می‌کند. در پایان ۱۰۰۰ ثانیه و رسیدن به تعادل، یک بار دیگر تست تنش-استراحت تا رسیدن به تنش شش مگاپاسکال انجام شد تا بر اساس آن ضریب تعادل (Aggregate modulus) محاسبه شود. در این مرحله، مایع میان بافتی از غضروف به بیرون رانده شده است و رابطه نیرو و تغییر شکل، تنها به خواص الاستیک مادی بخش جامد غضروف بستگی دارد (۲۰). داده‌های ثبت شده در طی این تست در نرم‌افزار Matlab (a) ۲۰۰۹ R، ساخت شرکت The math works، ناتیگ: ایالت ماساچوست، آمریکا) پردازش شدند. پارامترهای استخراج شده عبارت از نیروی

کپسول و غشای سینیال با همدیگر و با نخ بخیه ۳-۰ کرومیک به روش پیوسته بسته شدند. پوست با بخیه تشکی و سپس منقطع با استفاده از نخ ۳-۰ کرومیک بخیه شد (۲۳، ۲۱، ۲۰، ۹، ۸).

پس از انجام عمل حیوانات درون قفس حرکت آزادانه بدون اعمال بی‌حرکتی مفصلی و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. حیوانات به دقت تحت نظر بودند تا از هر گونه عفونت یا عوارض عمل مصون بمانند. محل زخم به طور مرتب بررسی شد. تزریق آنتی بیوتیک تا دو روز پس از عمل هر ۲۴ ساعت یک بار، به همان روشی که در زمان عمل صورت گرفت، ادامه یافت (۲۱، ۹-۸). در این دو روز هر ۶ ساعت یک بار، محل زخم ابتدا با بتادین و سپس با اسپری اکسی تتراسایکل (Oxytetracyclin یا OTC) ضد عفونی گردید. پس از ۶۲ روز از انجام جراحی، حیوانات با تزریق زیرپوستی ۵ میلی‌لیتر ترکیب بی‌هوشی بین دو استخوان کتف بی‌هوش و سپس با قرار گرفتن در محفظه کلروفورم کشته شدند.

تست بیومکانیک استاتیک

روش تست بیومکانیک به طور دقیق مطابق با مطالعه انجام شده در همین آزمایشگاه روی زانوی خرگوش مبتلا به هم‌آرتروز بود (۲۵). تمام تست‌ها در محیطی با دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰-۵۰ درصد انجام شد. بر اساس مقالات موجود، در استئوآرتروز کمپارتمان داخلی زانو بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۲۶، ۹) به همین دلیل ارزیابی‌های بیومکانیکی روی غضروف پلاتوی داخلی تیبیا و کندیل داخلی فمور انجام شد. تست تنش-استراحت دو فازه در شرایط In vitro به روش Unconfined compression با استفاده از لودسل یکصد نیوتنی و ایندنتور ناتراوا (Impervious indenter) به قطر ۱/۴۶ میلی‌متر و سطح تماس مسطح انجام گردید (Zwick universal testing machine; zwick ۲/۵) شرکت Zwick/ Roell GmbH & Co، الم، آلمان). در تمام مدت تست، با استفاده از سرنگ هر ۱۰۰ ثانیه ۱ سی‌سی سرم فیزیولوژیک روی غضروف ریخته شد تا غضروف به دلیل مجاورت با هوا خشک نشود.

شدند. برای افزایش سرعت این فرایند، اسید فرمیک مورد استفاده روزانه تعویض شد. از آنجا که مشخصات بیومکانیکی و ضخامت غضروف مفصلی در پلاتوی داخلی بررسی گردید، برای به حداقل رساندن شانس خطا در تعیین نمره بافت شناسی نمونه‌ها، پلاتوی داخلی تیبیا جدا و پلاتوی خارجی برای آماده‌سازی بافت شناسی به آزمایشگاه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی ارتش فرستاده شد. این نمونه‌ها در پارافین بلوک شد و برش‌های شش میکرومتری استتوکندرال در راستای سائیتال و با برش عمود بر سطح غضروف از آن‌ها تهیه شد. برش‌ها سپس با هماتوکسیلین - ائوزین (H & E) یا Hematoxylin and eosin) رنگ‌آمیزی شدند (۳۲، ۱۱، ۹).

برای اطمینان از صحت رده‌بندی بافت شناسی، دو کارشناس متخصص در تحلیل بافت شناسی غضروف به صورت جداگانه و مستقل از هم، برش‌های کدگذاری شده به روش تصادفی را بر اساس دو سیستم مختلف ارزیابی نمودند. این دو سیستم در جدول ۱ و جدول ۳ (۶) آورده شده است. نمره گزارش شده برای هر نمونه در هر یک از این دو سیستم میانگین نمره اعلام شده توسط دو کارشناس است.

در ارزیابی اصلاح شده منکین بر اساس مشاهدات برش‌های بافت با میکروسکوپ نوری، در هر یک از بخش‌های فوق امتیازهایی به نمونه داده شد و نمره کل حاصل جمع این امتیازها در سه بخش ساختار، سلول‌ها و تایید مارک تعیین شد. تفسیر بالینی نتایج نمره کل در مقیاس اصلاح شده منکین در جدول ۲ آورده شده است (۳۳).

روش‌های آماری

در مطالعه حاضر توزیع نمونه در تمام گروه‌ها بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov نرمال تعیین گردید. این آزمون برای حجم نمونه بیش از ۲۰۰۰ طراحی شده است و از آنجا که حجم نمونه در مطالعه حاضر اندک بود (۵ نمونه در هر گروه)، چندان نمی‌توان به نتایج آزمون اطمینان نمود. به همین دلیل، توزیع داده‌ها با استفاده از تست Shapiro-Wilk که برای حجم نمونه کمتر از ۵۰ طراحی شده است، بررسی گردید. بر این اساس، تمام متغیرها دارای توزیع نرمال بودند ولی با توجه به انحراف معیار زیاد، از روش‌های تحلیل غیر پارامتری استفاده

بیشینه: حداکثر بار به ازای تغییر شکل تحمیل شده (۱ میلی‌متر)، ضریب یانگ یا الاستیک: شیب خطی منحنی تنش - کرنش اول برای رسیدن به تغییر شکل مورد نظر، نیروی تعادلی: مقدار بار در شرایط تعادل درست قبل از آغاز تست دوم (پس از ۱۰۰۰ ثانیه) و ضریب تعادلی: شیب خطی منحنی تنش - کرنش دوم بین ۳۰ تا ۷۰ درصد تنش بیشینه (شش مگاپاسکال) بودند.

اندازه‌گیری ضخامت غضروف

پس از پایان تست ایندنتاسیون، ضخامت با استفاده از یک تست فشاری با تکنیک Needle probing با سوزنی به قطر ۰/۱۲ میلی‌متر غضروف در ۵ تا ۷ نقطه مختلف در اطراف محل تست تنش - استراحت با سرعت ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه اندازه‌گیری و گزارش شد (۲۵). بر اساس مقالات موجود اگر ایندنتور سوزنی با ۰/۵ میلی‌متر در ثانیه به غضروف وارد شود، میزان تنش در بافت با نفوذ سوزن در بافت به تدریج افزایش می‌یابد. این افزایش از یک منحنی لگاریتمی تبعیت می‌کند. با استفاده از لودسل، لحظه‌ای که سوزن با سطح غضروف تماس برقرار می‌کند و نیز زمانی که پس از طی ضخامت غضروف به ناحیه کلسیفه (Calcified zone) می‌رسد، به راحتی قابل تشخیص است. از آنجا که قدرت (Strength) بافت استخوانی بسیار بیشتر از غضروف است، سوزن پس از رسیدن به استخوان قادر به نفوذ در آن نیست و شیب منحنی نیرو - جا به جایی به سرعت افزایش می‌یابد. فاصله بین نقطه تماس سوزن با سطح غضروف و محل افزایش سریع و ناگهانی شیب منحنی نیرو - جابه جایی، ضخامت غضروف را نشان می‌دهد (۳۱، ۲۵، ۲۰، ۱۴، ۱۱). تکرار پذیری روش فوق در اندازه‌گیری ضخامت برای هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت. همچنین با اسپری سرم فیزیولوژیک روی غضروف در طی انجام تست، نمونه مرطوب نگه داشته شد (۲۰، ۱۱).

ارزیابی بافتی

نمونه‌ها مدت ۷ روز در فرمالین ۱۰٪ (ساخت شرکت Merk، دارمستاد، آلمان) با PH خنثی قرار داده شدند (۲۲، ۱۱، ۹). سپس با اسید فرمیک ۱۰ درصد (ساخت شرکت Merk، دارمستاد، آلمان) به مدت ۷ روز دکلسیفه (Decalcified)

ضریب همبستگی بین دسته‌های (Interclass correlation coefficient) برای تعیین تکرارپذیری داده‌های ضخامت و آزمون Mann-Whitney U با سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ برای مقایسه تیپا و فمور چپ در دو گروه بود (۳۴).

جدول ۳. راهنمای درجه‌بندی استئوآرتروز در مقیاس OARSI (Osteoarthritis research society)

نمره	مشخصات بافت شناسی
۰	ماتریکس: سطح سالم (ساختار طبیعی) سلول‌ها: سالم با آرایش مطلوب
۱	ماتریکس: ناحیه سطحی سالم است فیبریلاسیون (سایش یا Abrasion)
۲	سلول‌ها: مرگ سلولی موارد فوق:
	ماتریکس: ناپوستگی (Discontinuity) ناحیه سطحی (فیبریلاسیون عمقی)
±	از بین رفتن رنگ پذیری پروتئوگلیکان در یک سوم فوقانی غضروف
±	افزایش Perichondral رنگ پذیری پروتئوگلیکان به صورت کانون‌های پراکنده در ناحیه میانی
±	به هم ریختگی در ستون‌های کندرونی
۳	موارد فوق:
	ماتریکس: شکاف‌های عمودی به درون ناحیه میانی و شکاف‌های چند شاخه
±	از بین رفتن رنگ پذیری پروتئوگلیکان در دو سوم تحتانی غضروف
±	ایجاد کلژن جدید
	سلول‌ها: مرگ سلولی، Regeneration، هیپرتروفی مناطق مختلف غضروف
۴	موارد فوق
	از بین رفتن ماتریکس به همراه ورقه ورقه شدن (Delaminating) ناحیه سطحی
	ایجاد حفره (Excavation) با حذف ماتریکس از ناحیه سطحی تا میانی
±	ایجاد سیست‌هایی در ناحیه میانی
۵	از بین رفتن کامل ماتریکس به همراه پدیدار شدن استخوان زیر غضروف اسکروتیک یا Fibrocartilage
±	شکستگی‌های میکروسکوپی و ترمیم آن‌ها تنها در حد سطح استخوان
۶	وقوع Remodeling در استخوان - فراتر از ایجاد استئوفایت‌ها (زوائد استخوانی) - همراه با شکستگی‌های میکروسکوپی، Fibrocartilage و ترمیم استخوانی روی سطح قبلی

جدول ۱. مقیاس اصلاح شده Menkin

(Modified mankin scale) برای استئوآرتروز

مشخصه مورد بررسی	نمره	مشخصات بافت شناسی
ساختار غضروف	۰	طبیعی
	۱	فیبریلاسیون سطحی (Superficial یا Tangential zone layer)
	۲	مشاهده پانوس و فیبریلاسیون سطحی
	۳	شکاف‌هایی که تا ناحیه میانی (Middle layer یا Transitional zone) ادامه یافته‌اند
	۴	شکاف‌هایی که تا ناحیه عمقی (Deep یا Radiate zone) ادامه یافته‌اند
	۵	شکاف‌هایی که تا ناحیه کلسیفه ادامه یافته‌اند
	۶	به هم ریختگی کامل نظم ساختاری (Complete disorganization) غضروف
کندروسیت‌ها	۰	طبیعی
	۱	پرسلولی پراکنده (Diffuse hypercellularity)
	۲	خوشه‌های سلولی (Cell Clusters)
	۳	کم سلولی (Hypocellularity)
Tide mark	۰	طبیعی
	۱	عروق در تاید مارک نفوذ کرده‌اند

جدول ۲. تطبیق مقیاس منکین اصلاح شده با وضعیت بالینی

نمره کل منکین	وضعیت بالینی
۰-۱	طبیعی (سالم)
۲-۴	استئوآرتروز خفیف (Mild OA)
۵-۷	استئوآرتروز متوسط (Moderate OA)
>۷	استئوآرتروز شدید (Sever OA)

شد (۳۴). وجود داده‌های پرت با استفاده از نمودار استم - لیف (Stem and leaf plots) در نرم‌افزار SPSS_{۱۷} (ساخت شرکت SPSS، شیکاگو؛ ایالت ایلینویز، آمریکا) بررسی گردید؛ هر چند داده‌ای حذف نشد. آزمون‌های انجام شده شامل محاسبه مقایسه Chronbach's alpha در تست Consistency.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر از مدل حیوانی خرگوش استفاده گردید. دو گروه از لحاظ وزن تفاوت معنی‌داری در ابتدا و انتهای مطالعه نداشتند (جدول ۴).

جدول ۴. میانگین وزن دو گروه در زمان آغاز و پایان مطالعه

گروه	میانگین وزن آغازین (کیلوگرم) ± انحراف معیار	میانگین وزن پایانی (کیلوگرم) ± انحراف معیار
جراحی	۱/۶۹ ± ۰/۰۷۵	۲/۲۰ ± ۰/۲۵۲
سالم	۱/۸۰ ± ۰/۱۹۰	۲/۰۵ ± ۰/۱۸۱

ارزیابی بافت شناسی

در بررسی بافت شناسی از آنجا که نمره گزارش شده توسط دو کارشناس برای هر نمونه در هر یک از این دو سیستم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت، میانگین نمره اعلام شده توسط دو کارشناس به عنوان نمره نهایی بافت در نظر گرفته شد. در گروه کنترل مشخصات بافت شناسی غضروف‌های فمور و تیبیا، چه از لحاظ مقیاس منکین و چه از لحاظ مقیاس OARSI (Osteoarthritis research society) طبیعی بود و در گروه جراحی غضروف تیبیا و فمور هر دو با درجات تقریبی یکسان تخریب ناشی از ابتلا به استئوآرتریت شدید بودند (جدول ۵). در گروه جراحی، آرایش سلول‌های سطحی به هم خورده بود

و این سلول‌ها به صورت پهن (Flat) به موازات سطح غضروف نبودند، بلکه اغلب گرد دیده شدند. از سوی دیگر، در برخی بخش‌های نمونه، هیچ سلولی در مجاورت با سطح دیده نشد. در برخی نواحی، سطح غضروف دچار Fibrillation شده بود. به عبارتی، در این نمونه‌ها لایه سطحی به طور کامل از بین رفته بود و امکان تمایز این لایه از لایه میانی وجود نداشت (شکل ۲).

در لایه میانی آرایش سلول‌ها بسیار بی‌نظم گزارش شد. این سلول‌ها به صورت کلاسترهای عتایی یا بیشتر در ضخامت غضروف پراکنده بودند که در موارد وجود شکاف‌های عمقی‌تر (غضروف تیبیا)، تراکم آن‌ها در طرفین شکاف بیشتر بود. به این ترتیب، گروه جراحی در هر یک از سه بخش ساختار، سلول و Tide mark مقیاس منکین، در نمره کل در مقیاس منکین و در مقیاس OARSI تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P \leq 0/05$).

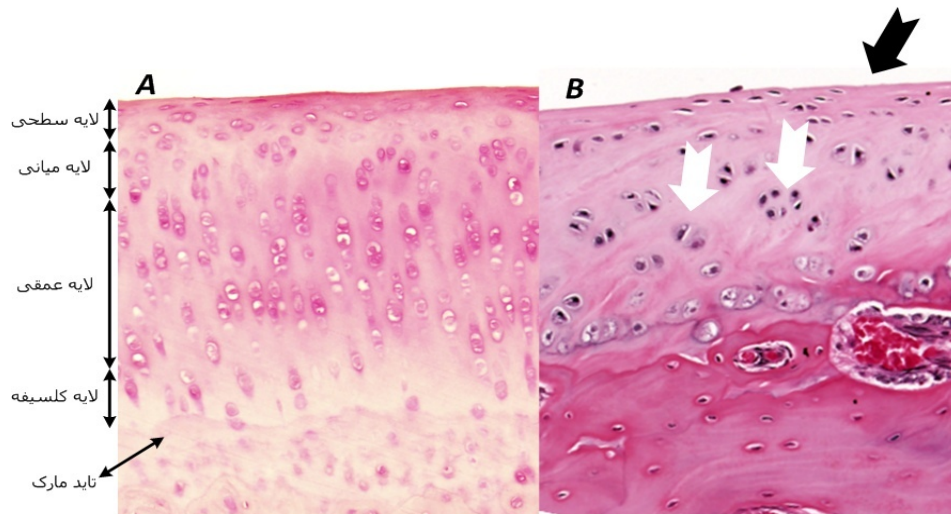
ضخامت غضروف

ضخامت غضروف در هر نمونه حداقل در پنج نقطه مختلف اندازه‌گیری شد. تکرار پذیری ضخامت غضروف در اندازه‌گیری به روش Needle probing با $\alpha \geq 0/80$ در نمونه‌های شاهد و جراحی تأیید شد. به دنبال ACLT، ضخامت غضروف در هر دو استخوان تیبیا و فمور کاهش یافت (نمودار ۱) که این کاهش تنها در غضروف فمور معنی‌دار بود ($P = 0/009$) به نحوی که به طور تقریبی به نصف ضخامت آن در گروه شاهد رسید.

جدول ۵. میانگین ویژگی‌های بافت شناسی غضروف تیبیا و فمور چپ بر اساس مقیاس اصلاح شده منکین و مقیاس OARSI (Osteoarthritis research society) در دو گروه

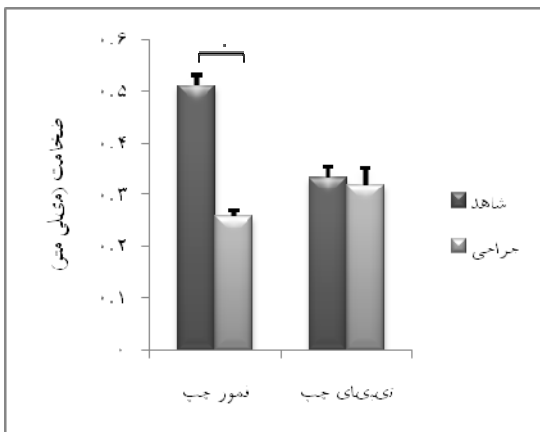
نمونه مورد بررسی	گروه	Modified mankin		
		ساختار	سلول	Tide mark
تیبیا چپ	شاهد	۰	۰	۰
جراحی	۶*	۳*	۱*	۱۰*
فمور چپ	شاهد	۰	۰	۰
جراحی	۴*	۳*	۱*	۸*

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد می‌باشد ($P \leq 0/05$).



شکل ۲. تصاویر هیستوپاتولوژی نمونه گروه جراحی و سالم (رنگ آمیزی H & E و بزرگ‌نمایی ۱۰۰ برابر). به کاهش سلول‌ها به ویژه در ناحیه سطحی، از بین رفتن آرایش تیپیک سلول‌ها در لایه‌های سه گانه غضروف، ناپدید شدن ستون‌های کندرونی‌ها، ایجاد خوشه‌های سلولی (فلش‌های سفید)، کاهش رنگ پذیری ماده زمینه و کاهش ضخامت بافت توجه نمایید.

ضخامت و ویژگی‌های عملکردی در غضروف فمور دو گروه به طور کامل با یکدیگر متفاوت بود؛ اما این تفاوت در غضروف تیبیا معنی‌دار نشد؛ در حالی که بر اساس شواهد بافت شناسی، شدت آسیب غضروف فمور و تیبیا در گروه جراحی به طور تقریبی مشابه و حتی در غضروف تیبیا شدیدتر از غضروف فمور بود.



نمودار ۱. مقایسه ضخامت غضروف فمور و تیبیا در دو گروه جراحی و سالم.

$P \leq 0.05^*$

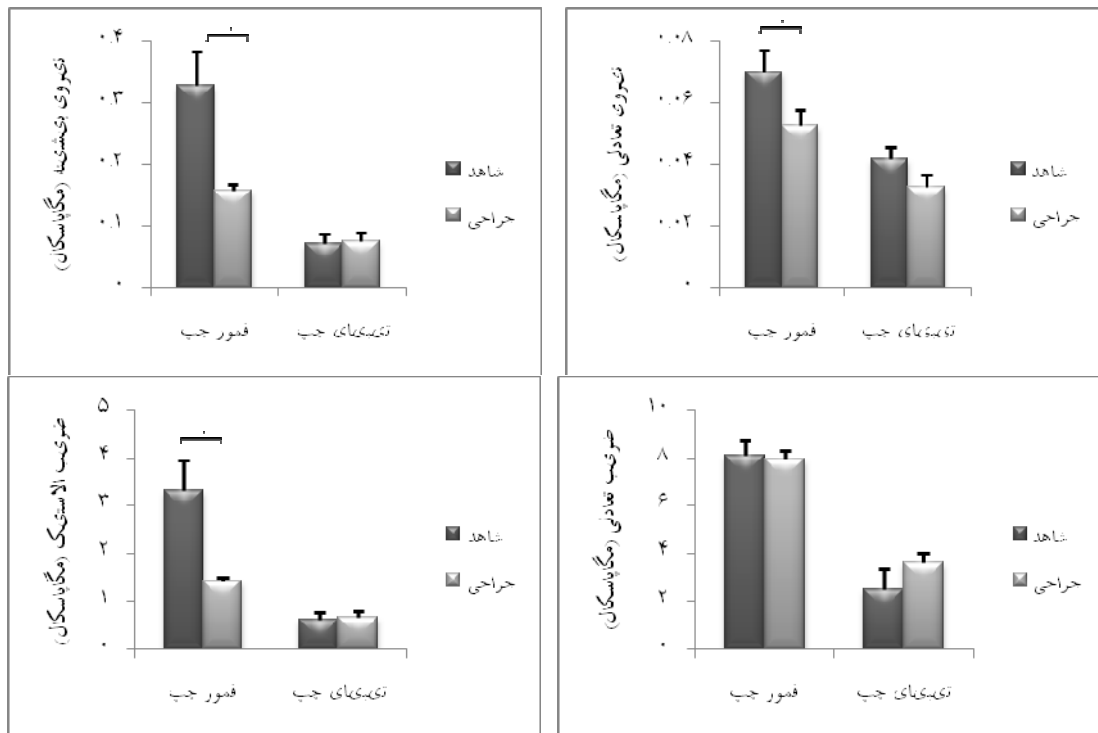
ویژگی‌های بیومکانیکی

نیروی بیشینه و ضریب الاستیک فمور در گروه جراحی به طور متوسط ۵۰ درصد نسبت به گروه سالم کاهش نشان داد ($P = 0.016$). همچنین نیروی تعادلی در این گروه با ۲۵ درصد کاهش نسبت به گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری با این گروه نشان داد ($P = 0.047$)؛ در حالی که مقدار ضریب تعادلی در دو گروه به طور تقریبی یکسان بود.

مشخصات بیومکانیکی غضروف تیبیا تفاوت خاصی در دو گروه نشان نداد و کاهش ۱۵ درصدی نیروی تعادلی و افزایش ۴۸ درصدی ضریب تعادلی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (به ترتیب $P = 0.251$ و $P = 0.076$). تفاوت ویژگی‌های بیومکانیکی گروه جراحی و گروه شاهد در نمودار ۲ نمایش داده شده است.

بحث

هدف این مطالعه مقایسه پارامترهای بیومکانیکی استاتیک در غضروف مفصلی فمور و تیبیای خرگوش سالم با غضروف فمور و تیبیای مفصل خرگوش ۲ ماه (۶۲ روز) پس از قطع کامل ACL بود. پس از ۹ هفته از انجام عمل جراحی،



نمودار ۲. مقایسه ویژگی‌های بیومکانیکی غضروف فمور و تیبیا چپ در گروه جراحی و سالم

$P \leq 0.05^*$

تغییرات وزن

در حیوانات کوچک، رشد و تغییرات وزن اهمیت زیادی در خواص مکانیکی غضروف دارند (۳۵). در مطالعه حاضر، وزن یک متغیر مستقل بود که تعیین الگوی تغییرات آن هدف این مطالعه تعریف نشد. وزن در حیوانات آزمایشگاهی شاخصی از وضعیت سلامت حیوان است و همواره در تناسب با سن حیوان می‌باشد. بنابراین، توجه به تغییرات وزن برای اطمینان از سلامت حیوانات ضروری بود. سه روز پس از جراحی، وزن گروه جراحی به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) کمتر از گروه کنترل بود که البته در روز دهم پس از جراحی، تا حدودی به مقدار طبیعی در گروه کنترل بازگشت. درد شدید، تنش ناشی از جراحی و تزریق‌های مکرر به ویژه در سه روز اول پس از ACLT می‌تواند علت این نوسان وزن باشد.

در سایر مطالعات، محقق به تغییرات وزن حیوان در طی مدت مطالعه توجه نداشت و تنها هم‌سان بودن وزن در آغاز

مطالعه با هدف هم‌سان‌سازی وضعیت پایه نمونه‌ها مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات محدودی که به تغییرات وزن خرگوش توجه داشتند، گزارش کردند که اختلاف گروه‌های جراحی و شاهد در ابتدا و انتهای مطالعه معنی‌دار نبوده است (۹، ۳۶).

تغییرات بافت شناسی

تغییرات ساختاری غضروف را می‌توان در برش‌های بافت شناسی با جزئیات بیشتری مطالعه نمود. در حال حاضر با وجود انواع تکنیک‌های پیشرفته از جمله MRI، شاخص (Gold standard) تعیین شدت این بیماری، ارزیابی‌های بافت شناسی و ماکروسکوپی می‌باشد (۳۷، ۳۳). هر چند، به طور طبیعی تفاوت‌های جزئی در نتایج این ارزیابی‌ها مشاهده شده است (۹).

سیستم رتبه‌بندی منکین در ارزیابی استئوآرتروز کاربرد بسیار وسیعی دارد و بی‌شک بسیار کارآمد است (۳۸)؛ اما

در عملکرد بیومکانیکی غضروف، تحمل بارهای فشاری و حفظ توان آب‌گیری بافت ایفا می‌کند (۳۹، ۱۸، ۱).
 بروز استئوآرتروز در زانوی جراحی شده خرگوش، ۳ تا ۶ هفته بعد از عمل، با افزایش تعداد کندروسیت‌ها، فیبریل‌اسیون و ایجاد شکاف‌های سطحی از لحاظ بافت شناسی تأیید می‌گردد (۴۱، ۸). تغییرات ساختاری از سطح غضروف و به دلیل تغییر ترکیب و ساختار ملکولی کلاژن و پروتئوگلیکان‌ها، کاهش پیش‌رونده پروتئوگلیکان‌ها، جدا شدن و به هم‌ریختگی فیبریل‌های سطحی کلاژن و تغییر اتصالات عرضی (Cross-link) کلاژن آغاز می‌شوند (۴۲، ۳۹، ۲۶، ۱۸، ۱). نظم ساختاری پروتئوگلیکان‌ها و فیبریل‌های کلاژن از بین می‌رود و غضروف متحمل تغییرات متابولیک و بیوشیمیایی شامل افزایش میزان آب بافت، افزایش Turn over پروتئوگلیکان و کلاژن و تغییر ساختار ملکولی پروتئوگلیکان‌ها می‌گردد (۴۱، ۸). احتمال می‌رود تغییر وضعیت تعادلی بین تمایل به تورم (Swelling tendency) در پروتئوگلیکان‌ها و نیروهای محدود کننده (Restraining forces) اعمال شده از سوی شبکه کلاژنی، باعث افزایش محتوی مایع در غضروف آسیب دیده گردد (۸)، که نتیجه آن کاهش رنگ پذیری ماتریکس و نرم شدن غضروف است. تخریب غضروف با گذشت زمان پیشرفت می‌کند و به غضروف حیوان ویژگی‌هایی شبیه به ویژگی‌های غضروف مبتلا به استئوآرتروز در انسان می‌دهد (۴۱).
 شدت تغییرات بافت شناسی در مطالعه حاضر به نسبت خفیف‌تر از مطالعات مشابه بود. در هیچ نمونه‌ای خوردگی (Erosion) هر چند نسبی (Partial) دیده نشد. یک عامل بسیار مهم که باعث کاهش شدت تغییرات میکروسکوپی در مطالعه حاضر شد، تفاوت در محل تهیه نمونه بود. به طور طبیعی شدت آسیب در سطوح غضروفی مفصل زانو به این ترتیب است: پلاتوی داخلی، پلاتوی خارجی، کندیل داخلی فمور و کندیل خارجی فمور (۴۳). در مطالعه حاضر، کمپارتمان داخلی زانو برای ارزیابی بیومکانیکی و کمپارتمان خارجی برای ارزیابی بافت شناسی مورد استفاده قرار گرفت. در حالی که به دلیل درگیری شدیدتر کمپارتمان داخلی زانو در

نمی‌تواند وسعت و پهنای آسیب غضروف را مشخص نماید. به علاوه، از آنجا که یک مقیاس رتبه‌ای است، احتمال خطای فردی (Subjective) در تفسیر رتبه‌های آن وجود دارد (۹). به همین دلیل، برای به حداقل رساندن خطا در کنار این مقیاس، از مقیاس OARSI استفاده گردید و رتبه‌ها بر اساس نظر دو کارشناس مستقل تعیین شد.

غضروف یک ماده بیولوژیکی است که از دو بخش اصلی تشکیل شده است: بخش جامد یا ماتریکس خارج سلولی و مایع میان بافتی آن به عنوان بخش مایع (۳۹، ۱). بخش اصلی ماتریکس جامد یک شبکه سه بعدی کلاژن به ویژه کلاژن تیپ II، پروتئوگلیکان‌های دارای بار منفی که یک یا چند زنجیره گلوکوزآمینوگلیکان به آن متصل می‌شود، پروتئین‌های غیر کلاژنی و کندروسیت‌ها می‌باشد. بخش مایع به طور عمده شامل آب و درصدی از الکترولیت‌ها و سایر مواد محلول می‌باشد (۴۰، ۳۹، ۲۷، ۲۲، ۱۸، ۱).

آرایش فیبریل‌ها در شبکه کلاژنی منحصر به فرد و وابسته به عمق آن‌ها در ضخامت غضروف (Depth-dependent fibrillar organization) می‌باشد (۲۲) که حاصل آن ناهمگون (Inhomogeneity) یا Heterogeneity شدن ساختار و ترکیب غضروف مفصلی است (۴۰). از آنجا که مایع میان بافتی در لایه‌لای شبکه کلاژنی وجود دارد و این شبکه پروتئوگلیکان‌های دارای بار منفی را احاطه نموده است، غضروف مفصلی یک بافت باردار و به شدت آب دوست با چگالی بار ثابت (Fixed charge density) بالا است (۳۹، ۱۸). تعاملات الکترواستاتیک بین الکترولیت‌های مایع میان بافتی و زنجیره‌های به شدت سولفات‌ه گلوکوز آمینوگلیکان به ماتریکس اجازه می‌دهد مقدار بسیار زیادی آب در خود ذخیره کند و به این وسیله با اعمال یک نیروی الکترومکانیکی به شبکه کلاژنی، نیروهای کششی تولید شده در این شبکه را موازنه نماید (۳۹، ۱۲، ۱). این نیرو با نام فشار اسمزی دوان شناخته می‌شود و باعث می‌گردد فیبریل‌های کلاژنی حتی در شرایط بدون بار، همواره تحت کشش ملایمی باشند و به علاوه به عنوان یکی از علل اصلی تورم غضروف نقش مهمی

آمده اثر می‌گذارد.

ضخامت

در حال حاضر شاخص اندازه‌گیری ضخامت، انجام رادیوگرافی ساده است که در آن فضای مفصلی به طور غیر مستقیم نشان دهنده ضخامت غضروف می‌باشد. ولی این روش یک ارزیابی غیر مستقیم است و امکان تعیین دقیق ضخامت غضروف به ویژه به تفکیک سطح مفصلی در آن وجود ندارد. بنابراین، سایر روش‌ها برای اندازه‌گیری ضخامت غضروف، بیشتر کاربرد دارند (۳۷). ضخامت غضروف یک پارامتر بالینی بسیار اساسی برای بررسی صحیح ضریب الاستیک در بافت می‌باشد (۴۲، ۳۱). از جمله روش‌های موجود در اندازه‌گیری ضخامت غضروف می‌توان به روش نوری (Optical)، روش سوزنی (Needle probing) و روش فراصوتی اشاره نمود (۳۱). از این میان، روش سوزنی یک روش متداول است (۵۱، ۵۰، ۳۱، ۲۵، ۱۴) و اندازه‌های به دست آمده با آن همبستگی خطی بالایی با نتایج دو روش دیگر دارد (۳۱). در مطالعه حاضر، از این روش برای اندازه‌گیری ضخامت استفاده شد. نتایج به دست آمده به خوبی در تمام نمونه‌ها تکرار پذیر بودند.

ضخامت تیبیا در گروه جراحی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. این یافته با یافته‌های بیومکانیکی غضروف تیبیا که در ادامه به آن اشاره خواهد شد، هماهنگ است و با یافته‌های برخی محققان در مدل خرگوش (۹) و حتی در مدل ACLT گربه (۲۰) هم‌خوانی دارد. در استخوان فمور نیز تغییرات هماهنگ با تغییرات بیومکانیک بافت و هم‌سو با یافته‌های سایر محققان (۹) است. متأسفانه در اغلب مطالعات از اندام مقابل حیوان به عنوان اندام کنترل استفاده شده است و بنابراین اطلاعات زیادی برای مقایسه نتایج موجود نمی‌باشد.

ویژگی‌های بیومکانیکی

غضروف مفصلی یک بافت نرم فاقد خون‌رسانی است که امکان انجام وظایف اولیه مفصل مانند مقاومت در برابر تخریب، تحمل بار و جذب ضربه را برای آن فراهم می‌کند (۱۸، ۱۲). ساختار و ویژگی‌های غضروف سالم به بهترین صورت برای تحمل بار طراحی شده است و با محیط مکانیکی آن، یعنی بارها و تنش‌های خارجی که مرتب بر آن وارد

وزن‌اندازی، اغلب مطالعات بافت‌شناسی روی این کمپارتمان انجام می‌شوند. در مطالعه Yashioka و همکاران، آسیب‌کنندگی خارجی فمور در تمام گروه‌های مورد بررسی، خفیف‌تر از کندیل داخلی بود (۹).

همچنین، سن و وزن حیوانات در زمان شروع مطالعه نیز اهمیت دارد. در اغلب مطالعات پیشین، خرگوش‌ها در زمان جراحی حداقل ۸ ماهه بودند و یا بسته بودن اپی‌فیز آن‌ها در تصویر رادیولوژی تأیید شده است. در مطالعه حاضر، نمونه‌ها در زمان انجام جراحی ۴ ماهه بودند و در برش‌های بافت‌شناسی تیبیا نیز باز بودن اپی‌فیز تأیید شد. در ایران، تنها دو مؤسسه عهده‌دار پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی می‌باشند؛ که در هر دو مؤسسه، بیشترین سن برای نگهداری خرگوش آزمایشگاهی، ۴ ماه است.

در مطالعه روی مدل‌های تجربی استئوآرتریت اغلب از خرگوش نژاد نیوزلندی استفاده می‌شود؛ اما در مطالعه حاضر بر خلاف اغلب مطالعات قبلی از خرگوش نژاد Dutch استفاده شد. در محدود مطالعاتی که در آن‌ها بررسی روی خرگوش‌های نیوزلندی در دامنه سنی مورد استفاده در این مطالعه صورت گرفت (۴۵، ۴۴، ۳۷)، وزن نمونه‌ها به طور متوسط ۱ تا ۱/۵ کیلوگرم بیش از وزن نمونه‌ها در مطالعه حاضر بود. ساختار بافت‌شناسی، ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های مکانیکی غضروف آن با بارگذاری (Loading) مفصل ارتباط محکمی دارد (۴۶، ۲۷، ۲۲، ۲۰، ۹، ۱). این مسئله خود به خود باعث تغییر در الگوی بارهای وارد بر مفصل و تحمیل تفاوت در نتایج می‌گردد. جدا از مسئله وزن، این دو نژاد از لحاظ استخوان‌بندی و جثه به طور کامل بایکدیگر تفاوت دارند. خرگوش نژاد Dutch کوچک است و به طور معمول وزن آن ۲/۵-۱/۵ کیلوگرم است. خرگوش نژاد نیوزلندی درشت با جثه عضلانی و بدنی کشیده است و وزن آن بین ۵/۵-۴ کیلوگرم می‌باشد (۴۷). بنابراین حتی در مواردی مانند مطالعه Vignon و همکاران (۴۹، ۴۸) که حیواناتی با دامنه وزنی مشابه با مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفته بودند، تفاوت نژاد نمونه‌ها که تفاوت در ابعاد مفصل و ضخامت غضروف را به دنبال دارد، بر نتایج به دست

می‌شوند، تطابق یافته است. از سویی ساختار و ترکیب این بافت با تغییرات محیط مکانیکی آن تطابق برقرار می‌کند (۴۶)، ۲۷، ۲۲، ۲۰، ۹، ۱). از آنجا که در طول زندگی غضروف مفصلی در معرض بارهایی تا چندین برابر وزن بدن می‌باشد، لازم است از لحاظ مکانیکی در وضعیت ایده‌آل باشد (۲۷). از سوی دیگر، نقش غضروف مفصلی در عملکرد بیومکانیکی مفصل به ترکیب بیوشیمیایی آن، معماری ملکولی و ابرساختاری ماکرومولکول‌ها و توزیع ناهمگون آن‌ها و آب در سراسر عمق بافت بستگی دارد (۱۸). اختلال در محتویات، ویژگی‌ها یا تعاملات هر یک از اجزای ساختاری غضروف می‌تواند ثبات مکانیکی طبیعی این بافت را به هم بریزد و منجر به خواصی در غضروف شود که تناسبی با نیازهای مکانیکی آن در زمان بارگذاری مفصل ندارد (۱).

بی‌ثباتی مفصل و افزایش سطح تماس بر اثر قطع ACL، باعث می‌شود محل تماس در مفصل از ناحیه مرکزی که به طور طبیعی محل تحمل وزن (Weight bearing) می‌باشد، به نواحی محیطی‌تر منتقل شود که به طور طبیعی در تحمل وزن شرکت نمی‌کنند (۲۱، ۷). به این ترتیب به دلیل بارگذاری بیش از حد و غیرطبیعی، پشتوانه تغذیه‌ای و ثبات متابولیک غضروف در این نواحی دچار اختلال می‌شود (۲۱). هر یک از این مکانیسم‌ها می‌تواند وقوع و پیشرفت استئوآرتریت را در غضروف تسریع نماید؛ هر چند که بر اساس مطالعات دیگر، متوسط و حداکثر فشار تماسی و بنابراین بارگذاری در مفصل مبتلا به ACLT به صورت دفاعی و ناخودآگاه کمتر از مفصل مقابل است (۷).

در مفصل سالم، ضخامت و ویژگی‌های غضروف در بخش‌های مختلف با یکدیگر فرق می‌کند. با آغاز فرایند Degeneration، مشخصات سطحی و ویژگی‌های غضروف مرتب تغییر می‌کند و بنابراین از ابتدایی‌ترین مراحل وقوع استئوآرتریت، توزیع فشار تماسی و انتقال نیرو در مفصل به شدت تغییر می‌کند (۷). همچنین در مقایسه با غضروف سالم، توزیع کرنش‌های ناشی از تورم (Swelling-induced strains) در لایه‌های مختلف غضروف مبتلا به استئوآرتریت به شدت ناهمگون است (۳۹). از آنجا که کندروسیت‌ها حساسیت

بالایی نسبت به نرخ بارگذاری دارند (۵۴-۵۲)، این تغییرات دینامیک در بارگذاری غضروف به راحتی می‌تواند دلیل وقوع استئوآرتریت در مفصل بی‌ثبات را توضیح دهد (۲۱). در مطالعه حاضر، خوشه‌های سلولی، تغییر تعداد و آرایش در نمونه‌های گروه جراحی مشاهده شد. این تغییرات منجر به نرمی غضروف شده و آن را مستعد تخریب بیشتر می‌نماید که در این مطالعه با کاهش ضریب الاستیک نمونه‌های جراحی تأیید شد. با از بین رفتن پیوستگی ناحیه سطحی، غضروف در معرض کرنش‌های غیر طبیعی و شدید قرار می‌گیرد و تخریب به نواحی عمقی‌تر آن گسترش می‌یابد (۱). البته برخی از مطالعات قبلی نشان می‌دهند تغییرات بیومکانیکی و عملکردی غضروف قبل از تخریب ساختاری ماتریکس آن آغاز می‌شوند (۴۲).

از آنجا که کندروسیت‌ها توسط ماتریکس احاطه شده‌اند و به آن متصل هستند، بارگذاری مفصل و تنش/کرنش در محیط اطراف آن‌ها می‌تواند بر فعالیت متابولیک این سلول‌ها و تولید ماتریکس توسط آن‌ها اثر بگذارد و با افزایش پروتئوگلیکان‌ها و کلاژن، خواص مکانیکی را تغییر دهد (۵۴-۵۲، ۲۲، ۲۱، ۷). به همین دلیل برای حفظ سلامت و عملکرد غضروف مفصلی و استخوان زیر غضروف، بارگذاری مفاصل سینویال با بارهای مکانیکی در دامنه فیزیولوژیک و به شکل صحیح ضروری است (۷، ۱). در غیر این صورت، تفاوت میان تنش‌های تماسی در درون مفصل و ویژگی‌های بیومکانیکی غضروف می‌تواند جرقه‌ای برای شروع تخریب کلاژن و پروتئوگلیکان‌ها و در نتیجه اختلال در عملکرد بافت باشد (۴۰، ۱).

با دژنراسیون بافت، به دلیل تغییر خواص بیومکانیکی غضروف و توزیع تنش-کرنش در اطراف کندروسیت‌ها، تحریک مکانیکی وارد بر این سلول‌ها به ازای یک بار خارجی معین تغییر می‌کند و این پدیده می‌تواند نقش مهمی در شروع و پیشرفت استئوآرتریت ایفا کند (۵۴-۵۲، ۲۷، ۲۶، ۲۲، ۲۱، ۷). هر چند کیفیت این تعاملات چندان شناخته شده نیست (۷)، اما از آنجا که خواص بیومکانیکی منحصر به فرد غضروف به طور حتم نتیجه معماری شبکه کلاژنی و توزیع فضایی ناهمگون کلاژن، پروتئوگلیکان‌ها و آب می‌باشد (۴۶)،

کاهش ضریب الاستیک و قدرت فشاری بافت غضروف فمور را می‌توان ناشی از آسیب شبکه کلاژنی آن دانست. ضریب الاستیک به عنوان معیار سفتی بافت در حالت طبیعی ۱-۵/۰ مگاپاسکال است، در حالی که مقدار تنش‌های دینامیک ایجاد شده در مفصل گاه به ۱۸ مگا پاسکال می‌رسد (۱). هر چه آرایش فیبرها در شبکه کلاژنی فشرده‌تر باشد، منافذ موجود در آن که مسیر جریان یافتن مایع مفصلی را می‌سازند- کوچک‌تر و بنابراین بافت ناتراواتر است. به همین دلیل، مایع میان بافتی در لایه سطحی غضروف سریع‌تر حرکت می‌کند و باعث توزیع ناهمگون تنش و کرنش می‌گردد (۴۰). از سوی دیگر، به دلیل تراوایی اندک غضروف مفصلی، در حین بارگذاری دینامیک مایع میان بافتی نمی‌تواند به موقع از بافت خارج شود و درون بافت محبوس می‌شود و به دلیل افزایش فشار درون آن، بخش عمده بار اعمال شده را تحمل می‌کند (۱).

سفتی بافت به عوامل زیادی بستگی دارد، از جمله هندسه استخوان، ایندنتور و خواص مادی غضروف (۲۰). با استفاده از ضریب الاستیک به جای سفتی و انجام تست در یک محل تعریف شده و معین در تمام نمونه‌ها، می‌توان مطمئن بود که تنها عاملی که باعث تفاوت در مقدار این متغیر در دو گروه شده است، ویژگی‌های خود غضروف است، نه حتی ضخامت آن. در سیستم ایندنتاسیون، نه تنها بافت در راستای بار اعمال شده فشرده می‌شود، بلکه به واسطه پدیده نسبت پواسون در راستای عمود بر آن پهن می‌شود. در شرایط *In situ*، نمونه شامل غضروف و استخوان زیر آن است و ناحیه عمقی غضروف به استخوان سخت زیرین چسبیده است. بنابراین ناحیه اتصال غضروف و استخوان، تنش برشی بر غضروف وارد می‌کند و یک میدان تنش برشی درون بافت ایجاد می‌شود (۱۸).

در مطالعه حاضر ضریب الاستیک در غضروف فمور در گروه جراحی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان داد، در حالی که تفاوت میان این دو گروه در غضروف تیبیا معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد در غضروف فمور، عمده بار وارد بر بافت توسط فاز جامد غضروف تحمل شده است. فاز مایع توانسته

احتمال می‌رود تغییر در آرایش وابسته به عمق کلاژن در غضروف نقش مهمی در این فرایند ایفا کند (۴۰). به هر حال، از آنجا که غضروف یک ماده غیر ایزوتروپ (Anisotropic) و ناهمگون است، نمی‌توان مطمئن بود که بافت در همان محلی دچار آسیب جدی (Fail) می‌شود که تنش حداکثر است (۷).

در غضروف، کلاژن و پروتئولیکان‌ها دو ماکرومولکول اصلی ساختاری از دو شبکه مختلف هستند که به صورت‌های مختلف با یکدیگر تعامل دارند (۱۸). هر چند توزیع هر دوی این ماکرومولکول‌ها در غضروف ناهمگون است، اما ویژگی‌های پروتئولیکان‌ها مانند کلاژن غیر ایزوتروپ نیست (۴۶). کلاژن شکل و خواص کششی و برشی (Shear) غضروف را تعیین می‌کند و با کنترل نسبت پواسون در غضروف، بر تغییر شکل آن تحت بارگذاری نظارت می‌نماید (۴۶، ۲۷، ۱۱، ۱).

مقدار و آرایش فیبرهای کلاژن سفتی (Stiffness)، کششی و پاسخ فشاری لحظه‌ای غضروف را تعیین می‌کند؛ در صورتی که ملکول‌های انعطاف‌پذیر اگریکان، در شبکه کلاژنی محصور شده‌اند و بیشتر بر قدرت فشاری و سفتی فشاری بافت و ویژگی‌های آن در شرایط تعادل، ضریب تعادلی اثر می‌گذارند (۴۶، ۴۲، ۴۰، ۲۷، ۱۸، ۱۲). اگریکان واحد ساختاری ماکرومولکول‌های پروتئولیکان است که آرایش برس شیشه‌شوی دارند و از طریق پروتئین مرکزی به پرتئین ارتباطی (Link protein) و از این طریق به اسید هیالورونیک در ساختمان این ماکرومولکول‌ها متصل می‌شوند. با وجود این، شاید به دلیل تنوع بیشتر در مقدار پروتئولیکان‌ها در بافت، محتوای کلاژن بیش از غلظت پروتئولیکان‌ها در کنترل خواص فشاری و پاسخ تعادلی آن مؤثر است (۲۷، ۱۸، ۱۱). هر چند نحوه تأثیر کلاژن بر خواص فشاری به طور کامل شناخته نشده است (۱۱). به این ترتیب، شاید بتوان ادعا کرد کاهش قدرت و سفتی بافت در گروه جراحی نسبت به گروه سالم، قبل و بعد از تعادل می‌تواند به دلیل کاهش هم‌زمان کلاژن بافت و تخریب ساختار پروتئولیکان‌ها باشد.

روند تخریب غضروف، تنها کاهش پروتئوگلیکان‌ها کافی نمی‌باشد، بلکه آسیب شبکه کلاژنی در سطح غضروف لازم است. در مطالعات Immunohistochemistry که به ارزیابی تغییرات بیومارکرهای بیوشیمیایی و گیرنده‌های آن‌ها در سطح سلول و بافت می‌پردازند، وجود توده‌هایی از محصولات ناشی از شکست ملکول‌های کلاژن که نشان دهنده آسیب کلاژن نوع II به وسیله متالوپروتئازهای ماتریکس در سطح غضروف مراحل اولیه استئوآرتریت می‌باشد، اثبات شده است (۱).

از سوی دیگر، کاهش ضریب فشاری در غضروف مبتلا به استئوآرتریت، در انسان به کاهش ابعاد و مقدار پروتئوگلیکان‌ها و افزایش محتوای آب بافت نسبت داده می‌شود (۱۱).

به نظر می‌رسد تخریب بافتی غضروف فمور زودتر از غضروف تیبیا باعث تحلیل رفتن ضخامت و خواص بیومکانیک آن می‌شود. این پدیده که با تصور عمومی در مورد الگوی پیشرفت استئوآرتریت در مفصل ACLT در تناقض است (۲۰)، می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع بارگذاری غضروف فمور و تیبیا در مفصل زانو باشد. غضروف فمور بیشتر در معرض نیروهای برشی و غضروف تیبیا به طور اساسی تحت تأثیر نیروهای فشاری است. در مطالعات موجود، ویژگی‌های بیومکانیکی فمور و تیبیا همزمان مورد بررسی قرار نگرفته‌اند و بنابراین امکان مقایسه این یافته با نتایج سایر پژوهش‌ها وجود ندارد.

بنابراین نتایج این مطالعه با یافته‌های سایر محققان هم‌سو است و با استناد به تغییرات بیوشیمیایی غضروف، که در مطالعات پیشین اثبات شده است، می‌توان به خوبی تغییرات ویژگی‌های بیومکانیکی غضروف مفصل را در مطالعه حاضر توضیح داد.

محدودیت‌ها

روند پیشرفت استئوآرتریت بسیار کند است، بنابراین مدل‌هایی که در آن‌ها زمان لازم برای اثبات استئوآرتریت طولانی‌تر است، بیشتر با مشخصات بیماری در انسان هم‌خوانی دارند (۹، ۵). با وجود این، استفاده از چنین مدل‌هایی به دلیل نیاز به صرف وقت و هزینه‌های بالا در مطالعه حاضر امکان‌پذیر

است تحت بار به سرعت جا به جا شود، بدون آنکه بار وارده باعث افزایش فشار در آن شود. دلیل این ادعا، یکسان بودن الگوی تغییرات پارامترهای بیومکانیکی قبل و بعد از تعادل است. به عبارت بهتر، آسیب ساختار کلاژنی و کاهش محتوای پروتئوگلیکانی ماتریکس باعث شده است مایع درون بافت، هیچ نوع عامل نگه دارنده و محصور کننده‌ای نداشته باشد و تحت بارگذاری به راحتی جریان یابد و تحمل بار را بر عهده ساختار آسیب دیده فاز جامد بافت گذارد.

سفتی غضروف همبستگی بالایی با اندازه و مقدار پروتئوگلیکان‌های آن دارد (۱۱). در بارهای فیزیولوژیک فشار اسمزی ناشی از بار ثابت درون غضروف با نیروی کششی ناشی از صاف شدن فیبرهای کلاژن متعادل می‌شود. در منحنی تنش- کرنش، ناحیه آغازین (Toe region) مربوط به صاف شدن موج فیبرهای کلاژن است. این فیبرها نه تنها به واسطه نیروی اسمز درون غضروف همواره تحت تنش هستند، بلکه حضور پروتئوگلیکان‌ها در لا به لای شبکه کلاژنی، آن‌ها را بیشتر از هم جدا و صاف می‌کند. مشاهده همبستگی میان محتوی گلوکز آمینوگلیکان و ضریب تعادلی غضروف در مطالعات مشابه، این واقعیت را تأیید می‌نماید. این تعامل میان ماتریکس و فشار اسمزی ناشی از پروتئوگلیکان‌ها باعث می‌شود با افزایش مقدار گلوکز آمینوگلیکان، ضریب تعادلی غضروف بالا رود و بر عکس (۱۸). بنابراین عدم تغییر ضریب تعادلی در مطالعه حاضر می‌تواند نشان دهنده عدم تغییر شدید در محتوی گلوکز آمینوگلیکان بافت در گروه جراحی باشد.

با وقوع استئوآرتریت در غضروف فمور انسان، در بدترین وضعیت ماکروسکوپی بافت، مقدار ضریب فشاری Confined ۳۱ تا ۳۴ درصد کاهش نسبت به غضروف سالم نشان می‌دهد. در مدل سگ، ۶ تا ۱۲ هفته پس از ACLT ضریب فشاری ۲۷ تا ۳۱ درصد کاهش می‌یابد (۸). در مطالعه حاضر، ضریب فشاری ایندنتاسیون غضروف تیبیا تغییری نشان نداد، اما در فمور کاهش ۵۰ درصدی و بارزی مشاهده شد. کاهش مقدار کلاژن در بافت به دنبال ACLT می‌تواند این پدیده را توضیح دهد. اعتقاد بر این است که برای آغاز

غضروف در تیبیای حیوان ACLT و تیبیای حیوان سالم تا حدودی با آن چه در مدل ACLT در سگ، مدل منیسکتومی در خرگوش و غضروف مبتلا به استئوآرتریت در انسان مشاهده شده است، هم‌خوانی دارد. تغییرات گزارش شده در این مقاله می‌تواند مدرک مضاعفی باشد دال بر اینکه این مدل حیوانی تغییرات خاص ناشی از استئوآرتریت را به خوبی نشان می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت دانشگاه تربیت مدرس در قالب بخشی از یک رساله دکتری به انجام رسیده است. نویسندگان از آقای همایون چهری به دلیل همکاری صمیمانه در آماده‌سازی نمونه‌های بافتی تشکر می‌نمایند.

نبود. محدود بودن حیوانات به زندگی در قفس باعث کاهش خطر وقوع حرکات شدید و ناگهانی که شانس ایجاد آسیب در یک مفصل بی‌ثبات را بالا می‌برند، گردید و همین مسأله می‌تواند شدت استئوآرتریت ایجاد شده در این حیوانات را کاهش دهد (۲۱).

نتیجه‌گیری

این مقاله نشان می‌دهد طی ۹ هفته (حدود ۲ ماه)، ACLT منجر به شدتی از استئوآرتریت می‌گردد که به طور معمول با استئوآرتریت در سن ۴۵-۵۰ سالگی انسان هم‌خوانی دارد. بنابراین می‌توان با استفاده از این مدل با صرف وقت و هزینه کمتر به مطالعه علل پیدایش، روند پیشرفت و تأثیر درمان‌های مختلف بر این بیماری پرداخت. تفاوت ویژگی‌های بیومکانیک

References

1. Arokoski JP, Jurvelin JS, Vaatainen U, Helminen HJ. Normal and pathological adaptations of articular cartilage to joint loading. *Scand J Med Sci Sports* 2000; 10(4): 186-98.
2. Li H, Hosseini A, Li JS, Gill TJ 4th, Li G. Quantitative magnetic resonance imaging (MRI) morphological analysis of knee cartilage in healthy and anterior cruciate ligament-injured knees. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*: 2011: 1-7
3. Lohmander LS, Englund PM, Dahl LL, Roos EM. The long-term consequence of anterior cruciate ligament and meniscus injuries: osteoarthritis. *Am J Sports Med* 2007; 35(10): 1756-69.
4. Keays SL, Newcombe PA, Bullock-Saxton JE, Bullock MI, Keays AC. Factors involved in the development of osteoarthritis after anterior cruciate ligament surgery. *Am J Sports Med* 2010; 38(3): 455-63.
5. Poole R, Blake S, Buschmann M, Goldring S, Laverty S, Lockwood S, et al. Recommendations for the use of preclinical models in the study and treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18 Suppl 3: S10-S16.
6. Aigner T, Cook JL, Gerwin N, Glasson SS, Laverty S, Little CB, et al. Histopathology atlas of animal model systems - overview of guiding principles. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18 Suppl 3: S2-S6.
7. Wu JZ, Herzog W, Epstein M. Joint contact mechanics in the early stages of osteoarthritis. *Med Eng Phys* 2000; 22(1): 1-12.
8. Sah RL, Yang AS, Chen AC, Hant JJ, Halili RB, Yoshioka M, et al. Physical properties of rabbit articular cartilage after transection of the anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 1997; 15(2): 197-203.
9. Yoshioka M, Coutts RD, Amiel D, Hacker SA. Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1996; 4(2): 87-98.
10. Chang DG, Iverson EP, Schinagl RM, Sonoda M, Amiel D, Coutts RD, et al. Quantitation and localization of cartilage degeneration following the induction of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1997; 5(5): 357-72.
11. Wei X, Rasanen T, Messner K. Maturation-related compressive properties of rabbit knee articular cartilage and volume fraction of subchondral tissue. *Osteoarthritis Cartilage* 1998; 6(6): 400-9.
12. Naumann A, Dennis JE, Awadallah A, Carrino DA, Mansour JM, Kastenbauer E, et al. Immunochemical and mechanical characterization of cartilage subtypes in rabbit. *J Histochem Cytochem* 2002; 50(8): 1049-58.
13. Moskowitz RW, Altman RD, Buckwalter JA, Goldberg VM, Hochberg MC. *Osteoarthritis: Diagnosis and Medical/Surgical Management*. 4th ed. Baltimore, MA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
14. Roemhildt ML, Coughlin KM, Peura GD, Fleming BC, Beynon BD. Material properties of articular cartilage in the rabbit tibial plateau. *J Biomech* 2006; 39(12): 2331-7.

15. Mow VC, Huijskes R. Structure and Function of Articular Cartilage and Meniscus. In: Mow VC, Huijskes R, editors. Basic Orthopaedic Biomechanics and Mechano-Biology. 3th ed. Baltimore, MA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 181-235.
16. Hasler EM, Herzog W, Wu JZ, Muller W, Wyss U. Articular cartilage biomechanics: theoretical models, material properties, and biosynthetic response. Crit Rev Biomed Eng 1999; 27(6): 415-88.
17. Korhonen RK, Saarakkala S, Toyras J, Laasanen MS, Kiviranta I, Jurvelin JS. Experimental and numerical validation for the novel configuration of an arthroscopic indentation instrument. Phys Med Biol 2003; 48(11): 1565-76.
18. Lu XL, Sun DD, Guo XE, Chen FH, Lai WM, Mow VC. Indentation determined mechanochemical properties and fixed charge density of articular cartilage. Ann Biomed Eng 2004; 32(3): 370-9.
19. Papaioannou N, Krallis N, Triantafillopoulos I, Khaldi L, Dostas I, Lyritis G. Optimal timing of research after anterior cruciate ligament resection in rabbits. Contemp Top Lab Anim Sci 2004; 43(6): 22-7.
20. Herzog W, Diet S, Suter E, Mayzus P, Leonard TR, Muller C, et al. Material and functional properties of articular cartilage and patellofemoral contact mechanics in an experimental model of osteoarthritis. J Biomech 1998; 31(12): 1137-45.
21. Tochigi Y, Vaseenon T, Heiner AD, Fredericks DC, Martin JA, Rudert MJ, et al. Instability dependency of osteoarthritis development in a rabbit model of graded anterior cruciate ligament transection. J Bone Joint Surg Am 2011; 93(7): 640-7.
22. Julkunen P, Iivarinen J, Brama PA, Arokoski J, Jurvelin JS, Helminen HJ. Maturation of collagen fibril network structure in tibial and femoral cartilage of rabbits. Osteoarthritis Cartilage 2010; 18(3): 406-15.
23. Batiste DL, Kirkley A, Laverty S, Thain LM, Spouge AR, Gati JS, et al. High-resolution MRI and micro-CT in an ex vivo rabbit anterior cruciate ligament transection model of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage 2004; 12(8): 614-26.
24. Edgerton MT. The Art of Surgical Technique. Baltimore, Maryland, NY: Lippincott Williams & Wilkins; 1988.
25. Ravanbod R, Torkaman G, Esteki A. Biotribological and biomechanical changes after experimental haemarthrosis in the rabbit knee. Haemophilia 2011; 17(1): 124-33.
26. Fini M, Torricelli P, Giavaresi G, Aldini NN, Cavani F, Setti S, et al. Effect of pulsed electromagnetic field stimulation on knee cartilage, subchondral and epiphyseal trabecular bone of aged Dunkin Hartley guinea pigs. Biomed Pharmacother 2008; 62(10): 709-15.
27. Julkunen P, Harjula T, Iivarinen J, Marjanen J, Seppanen K, Narhi T, et al. Biomechanical, biochemical and structural correlations in immature and mature rabbit articular cartilage. Osteoarthritis Cartilage 2009; 17(12): 1628-38.
28. Nordin M, Frankel VH. Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System. 3th ed. Baltimore, MA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
29. Panjabi MM, White AA. Biomechanics in the musculoskeletal system. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2001.
30. Norkin C, Levangie P. Joint Structure and Function: A Comprehensive Analysis. 4th ed. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company; 2005.
31. Jurvelin JS, Rasanen T, Kolmonen P, Lyyra T. Comparison of optical, needle probe and ultrasonic techniques for the measurement of articular cartilage thickness. J Biomech 1995; 28(2): 231-5.
32. Appleyard RC, Burkhardt D, Ghosh P, Read R, Cake M, Swain MV, et al. Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage 2003; 11(1): 65-77.
33. Hambach L, Neureiter D, Zeiler G, Kirchner T, Aigner T. Severe disturbance of the distribution and expression of type VI collagen chains in osteoarthritic articular cartilage. Arthritis Rheum 1998; 41(6): 986-96.
34. Miodrag L. International Encyclopedia of Statistical Science. New York, NY: Springer; 2011.
35. Akai M, Usuba M, Maeshima T, Shirasaki Y, Yasuoka S. Laser's effect on bone and cartilage change induced by joint immobilization: an experiment with animal model. Lasers Surg Med 1997; 21(5): 480-4.
36. Sandoval MC, Mattiello-Rosa SM, Soares EG, Parizotto NA. Effects of laser on the synovial fluid in the inflammatory process of the knee joint of the rabbit. Photomed Laser Surg 2009; 27(1): 63-9.
37. Boulocher C, Chereul E, Langlois JB, Armenean M, Duclos ME, Viguier E, Roger T, Vignon E. Non-invasive in vivo quantification of the medial tibial cartilage thickness progression in an osteoarthritis rabbit model with quantitative 3D high resolution micro-MRI. Osteoarthritis Cartilage 2007; 15(12): 1378-87.

38. Mankin HJ. Biochemical and metabolic aspects of osteoarthritis. *Orthop Clin North Am* 1971; 2(1): 19-31.
39. Narmoneva DA, Wang JY, Setton LA. A noncontacting method for material property determination for articular cartilage from osmotic loading. *Biophys J* 2001; 81(6): 3066-76.
40. Julkunen P, Kiviranta P, Wilson W, Jurvelin JS, Korhonen RK. Characterization of articular cartilage by combining microscopic analysis with a fibril-reinforced finite-element model. *J Biomech* 2007; 40(8): 1862-70.
41. Setton LA, Elliott DM, Mow VC. Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7(1): 2-14.
42. Laasanen MS, Toyras J, Hirvonen J, Saarakkala S, Korhonen RK, Nieminen MT, et al. Novel mechano-acoustic technique and instrument for diagnosis of cartilage degeneration. *Physiol Meas* 2002; 23(3): 491-503.
43. Gurkan I, Ranganathan A, Yang X, Horton WE Jr, Todman M, Huckle J, Pleshko N, Spencer RG. Modification of osteoarthritis in the guinea pig with pulsed low-intensity ultrasound treatment. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(5): 724-33.
44. Tiraloche G, Girard C, Chouinard L, Sampalis J, Moquin L, Ionescu M, Reiner A, Poole AR, Lavery S. Effect of oral glucosamine on cartilage degradation in a rabbit model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52(4): 1118-28.
45. Lin HD, He CQ, Luo QL, Zhang JL, Zeng DX. The effect of low-level laser to apoptosis of chondrocyte and caspases expression, including caspase-8 and caspase-3 in rabbit surgery-induced model of knee osteoarthritis. *Rheumatol Int* 2012; 32(3): 759-66.
46. Rieppo J, Hyttinen MM, Halmesmaki E, Ruotsalainen H, Vasara A, Kiviranta I, et al. Changes in spatial collagen content and collagen network architecture in porcine articular cartilage during growth and maturation. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17(4): 448-55.
47. Richardson VCG. *Rabbits: Health, Husbandry and Diseases*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2003.
48. Vignon E, Gateau O, Martin A, Hartmann D, Bejui J, Biol MC, et al. Screening of degradative enzymes from articular cartilage in experimental osteoarthritis. *Clin Rheumatol* 1987; 6(2): 208-14.
49. Vignon E, Bejui J, Mathieu P, Hartmann JD, Ville G, Evreux JC, et al. Histological cartilage changes in a rabbit model of osteoarthritis. *J Rheumatol* 1987; 14 Spec No: 104-6.
50. Setton LA, Mow VC, Muller FJ, Pita JC, Howell DS. Mechanical properties of canine articular cartilage are significantly altered following transection of the anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 1994; 12(4): 451-63.
51. Athanasiou KA, Rosenwasser MP, Buckwalter JA, Malinin TI, Mow VC. Interspecies comparisons of in situ intrinsic mechanical properties of distal femoral cartilage. *J Orthop Res* 1991; 9(3): 330-40.
52. Guilak F, Ratcliffe A, Mow VC. Chondrocyte deformation and local tissue strain in articular cartilage: a confocal microscopy study. *J Orthop Res* 1995; 13(3): 410-21.
53. Chen CT, Bhargava M, Lin PM, Torzilli PA. Time, stress, and location dependent chondrocyte death and collagen damage in cyclically loaded articular cartilage. *J Orthop Res* 2003; 21(5): 888-98.
54. Guilak F. The deformation behavior and viscoelastic properties of chondrocytes in articular cartilage. *Biorheology* 2000; 37(1-2): 27-44.

The effect of anterior cruciate ligament transection on biomechanical and histological properties of knee articular cartilage in rabbit

Zahra Sadat Rezaeian¹, Giti Torkaman^{*}, Alireza Sabbaghian², Ali Esteki³,
Roya Ravanbod⁴, Masumeh Dadpey⁵

Received date: 15/09/2011

Accept date: 06/06/2012

Abstract

Introduction: The anterior cruciate ligament (ACL) is one of the most important factors in knee stability and motion control so that its injuries result in serious movement problems for patients. The present study clarifies the effect of unilateral ACLT on histological and biomechanical properties of articular cartilage of rabbit knee.

Materials and Methods: Ten skeletally mature Dutch white male rabbits were divided into 2 groups. In the surgery group, left anterior cruciate ligament was completely transected through midshaft. Histopathological properties, biomechanical characteristics and thickness of femoral and tibial articular cartilage in left knee measured at 62nd day post surgery. Normal group underwent no intervention in the same period. Biomechanical characteristics of tibial medial plateau and femoral medial condyle studied by means of the ex vivo biphasic stress-relaxation test. Maximal force, elastic modulus, equilibrium force and aggregate modulus were extracted from these data. Data were statistically analyzed via Mann-Whitney U test. To avoid error in histological sample reading, histological study performed on tibial lateral plateau and femoral lateral condyle.

Results: In ACLT group, both femoral and tibial cartilages deteriorated. In comparison to normal group, cartilage thickness in ACLT group decreased significantly only in femoral medial condyle ($P = 0.009$). All biomechanical parameters of femoral condyle were significantly less than normal group ($P < 0.05$). The only exception was aggregate modulus that was almost the same in both groups. Biomechanical properties of tibial plateau were not statistically different between the two groups.

Conclusion: Although the structural deterioration of articular cartilage in femoral condyle was less severe than tibial plateau within the first 9 weeks following complete ACLT, functional deterioration was significant only in femoral condyle. However, tibial plateau saved its biomechanical characteristics despite significant degeneration. The biomechanical and histological alteration of the rabbit articular cartilage described in present study provides further evidence that this small animal model exhibits changes identical to secondary osteoarthritis.

Keywords: Anterior cruciate ligament transection, Articular cartilage, Biomechanics, Secondary osteoarthritis, Rabbit

* Professor, Department of Physical Therapy, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: torkamg@modares.ac.ir

1. PhD Candidate of Physical Therapy, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Orthopedic Surgeon, Akhtar Hospital, Tehran, Iran

3. Professor, Department of Physics and Medical Engineering, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. PhD in Physical Therapy, Hemophilia Comprehensive Treatment Center, Tehran, Iran

5. Assistant Professor, Department of Pathology, Army Medical School, Tehran, Iran