



쥐의 급성 무릎 관절염에 대한 4.4 MHz 펄스 고주파의 통증 완화 효과

문선욱, MS,* , 박의호, PhD,* , 박진성 박사,* 이승원 박사,* 서혜림 박사,* 박상현 박사,+윤승주, MD, PhD,+박건우, MD, PhD,+한희철, MD, PhD*

* 고려대학교 의과대학 생리학교실; + 고려대학교 의료원 의료기기혁신센터

† 균등 기여

에 대한 대응: 한희철, MD, PhD, 서울특별시 성북구 인촌로 73 고려대학교 의과대학 신경과학연구소 생리학교실 (02481). 전화: 82-2-22861189; 팩스: 82-2-9255492; 이메일: heehan@korea.ac.kr.

자금 출처: 이 연구는 산업부, Industry & Energy, by 고려대학교 교부금(K1710631), 정양 차영선 의학박사 장희주 기념기금(20140101).

이해 상충: 저자는 공개할 이해 상충이 없습니다.

추상적인

목적. 약물 주사와 수술은 무릎 관절 골관절염에 널리 사용되는 치료법입니다. 그러나 이러한 치료법은 침습적이며 유사하거나 더 나은 효능을 가진 새로운 비침습적 치료법이 필요합니다. 여기에 새로운 치료법으로 4.4MHz의 PRF(Pulsed RadioFrequency) 적용을 평가했다. 행동 양식. 급성 관절염은 수컷 쥐의 무릎 관절 내 공간에 carrageenan을 주입하여 유발되었습니다. 관절염 유발 4.5시간 후, 3초 온오프 치료 프로토콜로 PRF를 20분 동안 영향을 받은 무릎 관절에 적용했습니다. 치료 전과 치료 후 4시간, 6시간, 7시간, 8시간, 24시간 후 두 뒷발의 최대 무게 부하 값을 비교하여 통증 행동의 변화를 평가했습니다. 그리고 우리는 또한 염증이 생긴 무릎의 활액막의 염증 변화를 측정하기 위해 Western blotting과 면역 조직 화학을 사용했습니다. 결과. 우리는 치료 프로토콜과 함께 PRF를 20분간 적용했을 때 카라기난 주입 후 6시간, 7시간 및 8시간 시점에서 체중 부하 감소가 상당히 회복되었음을 발견했습니다. COX-2 및 IL-1β 카라기난 주사 후 6시간 및 8시간에 PRF 적용 후 염증이 있는 쥐에서 수준이 상당히 감소했습니다. 면역조직화학은 PRF가 카라기난 주입 6시간 후 염증 세포 침윤을 유의하게 감소시켰음을 보여주었다. 결론. 우리의 결과는 비침습적 PRF 적용이 쥐의 염증이 있는 무릎 관절에서 통증 관련 행동을 억제하고 염증성 사이토카인 발현을 감소시킨다는 것을 나타냅니다. 따라서 PRF 적용은 말초 관절/조직 손상 또는 염증과 관련된 통증을 완화하기 위한 잠재적인 치료적 치료법의 역할을 할 수 있습니다.

키워드: 4.4MHz 펄스 무선 주파수; 비침습적; 급성 관절염; 통증 관련 행동; 면역 사이토카인

소개

무릎 골관절염(OA)은 노인의 통증으로 인해 신체활동이 저하되는 근골격계 질환이다.^{1]} 50세 이상의 노인 인구에서 무릎 OA의 발병률이 증가했습니다.^{2]} 중증 OA 환자는 다음과 같은 침습적 치료를 받기로 결정할 수 있습니다.

슬관절 전치환술 및 약물 주사(오피오이드, 스테로이드, 비스테로이드성 항염증제[NSAID] 및 히알루론산). 그러나 이러한 치료가 항상 만족스러운 통증 완화를 달성하는 것은 아니며 일부 환자에서 부작용이 발생할 수 있습니다.^{삼,4]}. 물리치료, 적외선, 초음파, TENS 등의 치료가 가능합니다.

비침습적이고 조직에 비파괴적이기 때문에 무릎 OA를 치료하기 위한 바람직한 대체 전략으로 선택됨 [5-8].

3kHz ~ 300GHz 범위의 고주파(RF) 자극은 지난 30년 동안 임상 환경에서 다양한 통증 치료에 사용되었습니다.9,10]. RF의 적용은 연속(CRF) 모드와 펄스(PRF) 모드의 두 가지 방식으로 수행되었습니다. CRF와 비교하여 PRF는 온도가 낮아질 수 있는 전기적 자극이 없는 휴식 단계를 가지고 있기 때문에 열 손상이 적을 가능성이 있습니다. 일부 연구에서는 PRF가 경추성 두통, 환상지 통증 및 요추 신경근통에 임상 진통 효과가 있음을 보여주었습니다.11-13]. 그러나 말초 관절 통증을 치료하기 위해 PRF를 적용하려는 시도가 있었지만 [14-17], 무릎 관절에 대한 PRF 적용과 그 생체 역학적 효과에 대한 동물 연구는 거의 연구되지 않았습니다. 따라서 본 연구에서는 PRF 적용이 카라기난 유발 무릎 관절염 모델 쥐의 통증 행동, 염증성 사이토카인 발현 및 염증 세포 침윤을 줄이는 데 효과적인지 조사했습니다.

행동 양식

동물

수컷 Sprague-Dawley 쥐(200-270 g; Orient Bio, South Korea)를 실험 전 일주일 동안 사육 환경에 적응시켰다. 쥐는 온도와 빛이 조절되는 방(22~25°C, 12시간 명/암 주기). 음식(5L79, PMI Nutrition, North Arden Hills, MN, USA)과 물은 자유롭게 사용할 수 있었습니다. 본 연구는 고려대학교 동물실험위원회의 승인을 받았습니다(승인번호: KUIACUC - 2017 - 0008).

카라기난 유발 관절염 모델

급성 관절염을 유발하기 위해 동물을 먼저 흡입된 이소플루란(0.5-2%)으로 마취시켰다. 다음으로 1% 카라기난(Sigma, UK 50중L)을 각 동물의 왼쪽 무릎 관절에 주사하였다. 주입 후, 무릎 관절강 전체에 카라기난을 고르게 분배하기 위해 다리를 약 2분 동안 수동으로 구부리고 확장했습니다.

염증이 있는 무릎 관절의 부종 평가

Carrageenan 유발 관절염의 발생은 항상 무릎 관절의 부종을 동반했습니다. 부종의 정도는 끈을 이용한 무릎둘레와 슬관절 내측에서 외측까지의 거리를 Vernier caliper를 이용하여 시간에 따라(pre, 4, 6, 7, 8, 24시간). 각 그룹에 대해 8마리의 쥐를 검사했습니다(카라기난 N¼8, PRFS N¼8, 전구 N¼8).

통증 행동 테스트: 동적 체중 부하

통증 관련 행동에 대한 동적 체중부하 시험은 자유롭게 걷는 쥐와 구속되지 않은 쥐를 대상으로 편리하고 객관적인 방법을 사용하여 수행되었다 [18]. 경로 하단에는 로드셀 센서(CB1-K2, DACELL, 한국)를 장착하고 출력 신호는 적절한 증폭 및 필터링을 위해 디지털 증폭기(DN-AM 300, DACELL, 한국)로 공급하였다. 신호는 아날로그-디지털 변환기(1716, DACELL, 한국)를 통해 변환되었고 개인용 컴퓨터(WBT, 고려대학교, 한국)에서 시간-가중 곡선으로 플롯되었습니다. 연구자는 쥐가 밝은 플랫폼을 식별하고 시간-중량 곡선을 그리기 위해 출력 신호를 선택했습니다. 주어진 팔다리에 대해 최소 8개의 시간 가중치 곡선을 얻을 때까지 일반적으로 테스트를 서너 번 반복했습니다.

우리는 이 실험을 두 가지 방식으로 설계했습니다. 하나는 고정된 PRF 자극 지속 시간에 따라 켜짐 및 꺼짐 시간 프로토콜이 달라집니다. 다른 하나는 PRF 자극 지속 시간이 3초 온/오프 프로토콜에 따라 달라졌다는 것입니다. 따라서 첫 번째 실험에서는 3개의 그룹이 있었다(기본적으로 모든 그룹에 1% Carr.가 적용되었으며 동일한 PRF 지속 시간에서 두 개의 서로 다른 켜짐 및 꺼짐 시간 프로토콜이 있음). 그러나, 한 그룹은 PRF 없이 처리되었다(그림 1B). 각 군별로 6마리의 쥐를 검사하여 총 18마리를 실험에 사용하였다.

두 번째 실험에서는 5개 그룹(기본적으로 모든 그룹에 1% Carr. 적용)을 설정하고, 3초 온-오프 프로토콜 하에 3가지 다른 종류의 자극 지속 시간 프로토콜을 활용하였다. PRF 없이 치료를 받았고 다른 그룹은 구근 자극으로 치료를 받았습니다(그림 1C). 각 군별로도 6마리씩 검사하여 총 30마리를 실험에 사용하였다. 데이터는 6가지 시점(카라기난 주입 전, 4, 6, 7, 8, 24시간)에서 수집되었습니다.

Western Blotting에 의한 전염증성 분석

활막에서 전염증성 매개체 (이 연구에서는 COX2 및 IL-1b)의 변화를 측정하기 위해 Western blot을 사용했습니다. 활막막은 각각 정상측과 염증측의 슬관절 전방에서 채취하였다. 조직 샘플을 균질화하고 50-프로테아제 억제제 각테일이 보충된 RIPA 완충액에서 용해시켰다. 시료는 원심분리(13,000 rpm, 4°C) 동일한 로딩을 보장하기 위해 정량화되었습니다. 정량된 시료는 12% SDS-PAGE(100V, 1시간 30분)로 분리하였다. 샘플을 100V에서 1시간 동안 얼음 위의 전달 완충액에서 니트로셀룰로오스 막으로 옮겼습니다. 막을 RT에서 30분 동안 차단 용액(TBST의 5% 탈지유)에서 배양했습니다. 차단 후 멤브레인을 1차 항체와 함께 배양했습니다.

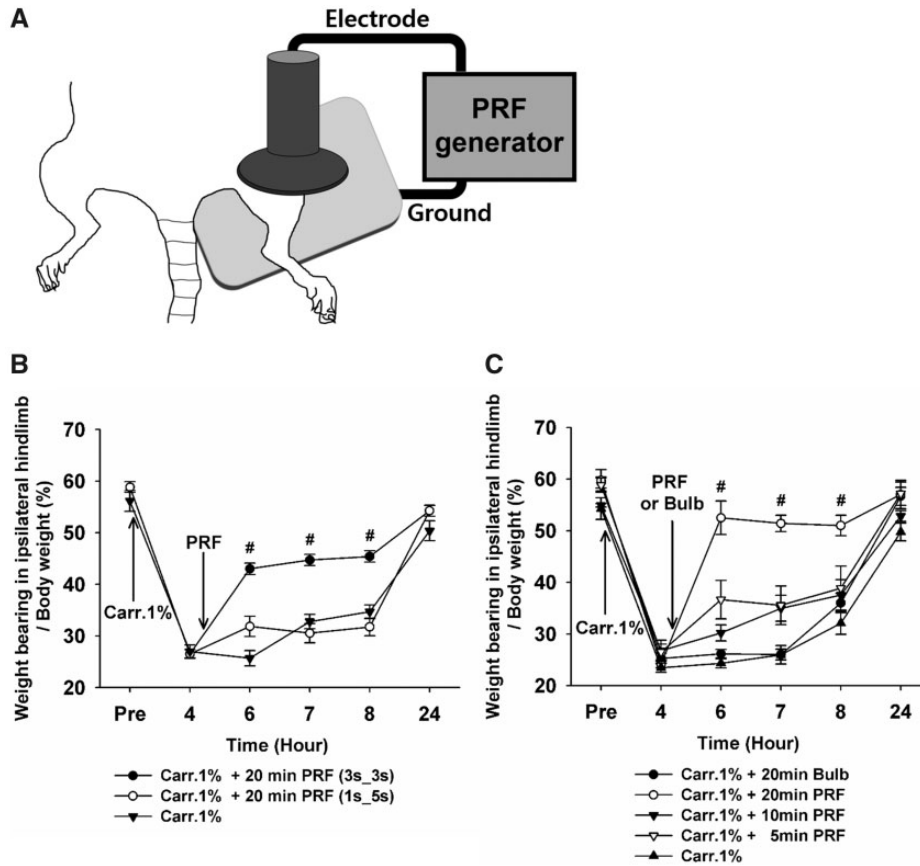


그림 1. 다양한 적용 매개변수로 카라기난 주입 후 4.5시간에 염증이 있는 무릎 관절에 대한 펄스 고주파(PRF) 적용의 통증 관련 행동에 대한 효과. PRF 애플리케이션 다이어그램(A). 3초 켜기/끄기(3s_3s)가 있는 20분 PRF는 6, 7, 8시간에서 카라기난으로 유발된 체중 부하 감소를 상당히 역전시켰고 환자는 24시간 후에 완전히 회복되었습니다. 그러나 1초 켜짐/5초 꺼짐(1s_5s)으로 20분간 PRF를 수행한 경우 중량 부하(B)에 영향을 미치지 않았습니다. 3초 온/오프가 있는 20분 PRF는 6, 7, 8시간에서 카라기난으로 유도된 중량 부하 감소를 상당히 억제했습니다. 그러나 3초 켜짐/꺼짐이 있는 5분 및 10분 PRF 및 20분 전구 적용(Bulb)은 중량 부하(B)에 영향을 미치지 않았습니다. 모든 그룹의 수는 동일합니다(N¼6).#P<0.01, 대조군과 비교.

COX-2(Abcam Cat# ab52237, RRID: AB_869240), IL-1b(Abcam Cat# ab9722, RRID: AB_308765) 및 비-4에서 밤색 액틴(Abcam Cat# ab8226, RRID: AB_306371). C, 블로킹 용액으로 10분 동안 4회 세척하고, HRP(horseradish peroxidase)-접합된 2차 항체(1:1000, Santa Cruz Biotechnology)와 실온(RT)에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 막을 TBST로 5분 동안 6회 세척하고 제조업체의 지침에 따라 ECL 용액으로 현상했습니다.

조직학 및 면역조직화학에 의한 염증 세포 분석

염증에 의한 조직학적 변화를 확인하기 위해 정상 및 염증 활막을 세 시점(전, 4, 6시간)에 수확했습니다. 조직학적 분석을 위해 활막을 RT에서 24시간 동안 10% NBF 용액에 고정하고 파라핀에 포매했습니다. 육-중마이크로톰을 사용하여 m 절편을 만들고

70에서 배양. C 하룻밤. 각 샘플은 헤마톡실린(1분)과 에오신(30초)을 사용하여 염색되었습니다.

면역조직화학 분석을 위해 F 4/80 단클론 항체(Cat# MCA497GA, RRID: AB_323806)를 조직 대식세포에 대한 특이적 마커로 사용했습니다. 활막 조직을 RT에서 48시간 동안 10% NBF 용액(37% 포르말린, pH 6.8)에 고정하고 파라핀에 포매했습니다. 단면화(6중m) 샘플을 크실렌에서 탈파라핀화하고 감소하는 농도의 에탄올에서 재수화하고 3% 과산화수소 용액(30% 과산화수소, JUNSEI)에서 배양했습니다. 조직 절편을 실온에서 2시간 동안 5% 차단 용액으로 처리하였다. 항원 검색은 10mM 구연산나트륨 완충액(pH 6.0, USB)에서 수행하였다. 조직 절편을 모노클로날 항체와 함께 밤새 4에서 배양했습니다. C. 이어서, 조직 절편을 비오틴 결합된 2차 항체(Vector Labs, CA, USA)와 실온에서 2시간 동안 인큐베이션한 다음, ABC 용액(Vector Labs, CA, USA)과 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. Ag-Ab 결합 반응은 Signal Stain diaminobenzidine을 사용하여 검출되었습니다.

(DAB) 기질 키트(Cell Signaling Technology, CST, USA) 및 조직 절편을 Harris hematoxylin(American Master Tech Scientific, CA, USA)을 사용하여 대조염색하였다. 모든 조직학적 및 면역조직화학 분석은 블라인드로 수행되었습니다. 총 세포 수는 이미지 J(National Institutes of Health에서 무료 제공) 라는 프로그램을 사용하여 세었습니다. 이 프로그램은 색의 변화를 인식하여 각 세포의 핵을 식별하고 주어진 영역에서 세포 핵을 자동으로 감지합니다.

PRF의 적용

우리는 처음에 쥐를 유도를 위해 5% isoflurane으로 마취하고 필요에 따라 1%에서 2% isoflurane으로 마취를 유지했습니다. 완전한 마취가 이루어진 후 우리는 염증이 생긴 무릎을 면도하고 동물을 엎드린 자세로 눕혔습니다. 4.4MHz PRF 적용을 위해 PRF 장비(HIPER-500 Generator, Json Company, South Korea)를 사용하였다. 전극(메터 및 리셉터클)은 염증이 생긴 무릎의 양쪽 측면에서 측면에서 내측 방향으로 수직으로 위치했습니다. 설정 후, PRF의 효과는 적용된 PRF의 총량, 즉 한 주기에 적용되는 시간 - 총 적용 기간의 주기 수에 비례한다고 가정했기 때문에 PRF 파동을 다른 치료 프로토콜을 사용하여 적용했습니다. 그래서 우리는 다음과 같은 치료 프로토콜을 사용했습니다: 적용 주기(6초), 적용 커기/끄기(3초 커기/3초 끄기 또는 1초 커기/5초 끄기) 및 총 적용 시간(5분, 10분, 20분). 우리는 염증이 있는 쥐에서 PRF 처리군과 비처리군 사이의 PRF 적용 효과를 비교했습니다. 그러나 PRF 적용은 일반적으로 적용 부위에서 고열을 유발하므로 PRF 적용 중 무릎 주변 피부 표면, 피하 조직 및 관절 내 공간의 온도 변화를 모니터링했습니다. 또한 PRF 적용으로 인해 발생할 수 있는 열 효과가 자극 효과와 관련이 있는지 확인하기 위해 전구를 사용하여 온도 변화를 모니터링했습니다. 우리는 염증이 있는 쥐에서 PRF 처리군과 비처리군 사이의 PRF 적용 효과를 비교했습니다. 그러나 PRF 적용은 일반적으로 적용 부위에서 고열을 유발하므로 PRF 적용 중 무릎 주변 피부 표면, 피하 조직 및 관절 내 공간의 온도 변화를 모니터링했습니다. 또한 PRF 적용으로 인해 발생할 수 있는 열 효과가 자극 효과와 관련이 있는지 확인하기 위해 전구를 사용하여 온도 변화를 모니터링했습니다.

PRF 적용 방식과 관련하여 우리는 일반적으로 접지판에 한 번에 두 마리의 쥐를 놓습니다(그림 1A) 모두 함께 PRF를 적용합니다. 예를 들어, 두 마리의 쥐는 PRF 자극으로 치료를 받았고, 나머지 두 마리의 쥐는 PRF를 적용하지 않고 영향을 받은 무릎에 전구를 위치시키는 가짜 자극으로 치료를 받았습니다.

통계 분석

모든 데이터는 평균으로 표현됩니다. 6SEM 및 파라메트릭 통계를 사용하여 평가되었습니다. 체중 부하 및 부종 데이터는 테스트 시간을 개체 내 요소로, 실험 조건을 개체 간 요소로 사용하여 분산의 양방향 반복 측정 분석(ANOVA)을 사용하여 분석했습니다. Western blotting 및 면역 조직 화학 데이터는 paired Student를 사용하여 분석되었습니다. t-시험. Bonferroni 보정을 사용하여 사후 분석을 수행했습니다. 차이점

실험 조건은 다음과 같은 경우에 통계적으로 유의한 것으로 간주되었습니다. $P < 0.05$.

결과

PRF 적용 반전 염증 무릎 관절 관련 통증 행동

염증이 있는 관절에 PRF를 적용하는 것이 통각수용 행동의 억제에 기여하는지 여부를 확인하기 위해 자발적으로 발현되는 통증 행동의 변화, 즉 자유롭게 걷는 쥐의 영향을 받는 사지의 체중 부하 감소를 측정했습니다. 카라기난 주사 4시간 후 쥐의 염증이 생긴 관절의 최대 체중 감소가 관찰되었습니다. 통증 행동에 대한 적용 온/오프의 효과를 명확히 하기 위해, 6초 주기(3초 펄스 켜짐 및 3초 펄스 꺼짐 또는 1초 펄스 켜짐 및 5초 펄스 두 번째 펄스 오프)를 카라기난 주입 후 4.5시간에 염증이 있는 관절에 적용했습니다. 우리는 3초 펄스를 켜고 끄는 20분 PRF가 가짜 대조군과 비교하여 중량 부하 감소를 상당히 역전시켰음을 발견했습니다. (그림 1B). 이 항통각 효과는 카라기난 주입 후 6, 7, 8시간에 유의미한 것으로 나타났습니다(사후 비교, 모든 $P < 0.01$).

3초 온/오프가 효과적이라는 사실을 알게 된 후 총 적용 시간의 효과를 명확히 하기 위해 3초 온/오프 주기를 유지하면서 PRF의 총 적용 시간을 5분, 10분, 20분으로 다양화했으며, PRF의 열 효과를 제거하기 위해 전구 자극이 있는 그룹을 추가했습니다. 우리는 20분 PRF만이 대조군에 비해 체중 부하 감소를 유의하게 역전시켰지만, 이러한 통각 수용 행동은 5분 PRF, 10분 PRF 및 전구 적용(가짜) 그룹(양방향 반복 -ANOVA 측정). 이 항통각 효과는 카라기난 주입 후 6, 7, 8시간 후에 상당한 것으로 나타났습니다(사후 비교, 모든 $P < 0.01$) (그림 1C).

PRF 응용 프로그램은 염증이 있는 무릎 관절의 부종을 감소시킵니다.

우리는 PRF의 적용이 카라기난 유발 염증과 함께 무릎 관절의 부종을 감소시키는지 조사했습니다. 쥐의 염증이 생긴 무릎 관절의 동축 둘레 또는 부종의 직경은 주사 후 약 2시간 후에 증가하기 시작하여 하루 동안 유지되었습니다. 20분 전구 자극 또는 3초 펄스 켜짐 및 꺼짐 주기가 있는 20분 PRF가 카라기난 주입 4시간 후에 적용되었습니다. PRF는 무릎 둘레를 유의하게 감소시키는 것으로 나타났습니다(그림 2A) 및 직경(그림 2B) 가짜 대조군과 비교; 그러나 전구 치료는

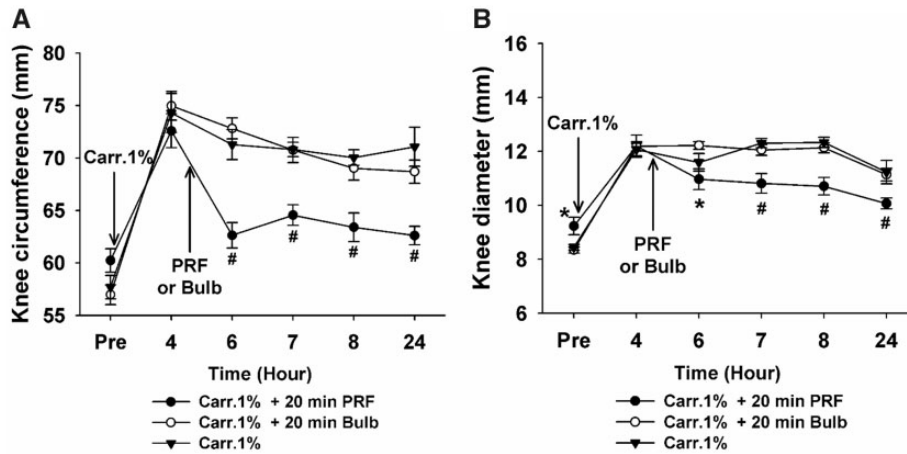


그림 2. 무릎 관절 부종의 평가. Carrageenan(1%)을 왼쪽 무릎 관절에 주입하여 관절염을 유도하고 4.5시간 후 PRF(Pulsed RadioFrequency)와 벌브 적용을 20분간 시행하였다. 슬개골 하단부 높이에서 끈(A)을 이용한 무릎둘레와 디지털 버니어 캘리퍼스(B)를 이용한 무릎둘레를 4시간, 6시간, 7시간, 8시간, 24시간에 측정하였다. 측정은 4회 반복하여 평균값을 사용하였다. 데이터는 8마리 동물(카라기난, N¼8; PRF, N¼8; 전구, N¼8). *P<0.05 및 #P<0.01 대 카라기난 그룹.

부종 크기에 영향을 미치지 않습니다(양방향 반복 측정 ANOVA). PRF의 항부종 효과는 카라기난 주사 후 6, 7, 8, 24시간에 상당한 것으로 나타났습니다(사후 비교; 둘레, P<0.01; 지름, P<0.05 및 P<0.01).

PRF 적용으로 염증 매개체 COX-2 및 IL-1 수준 감소

염증이 생긴 무릎 관절에 대한 PRF 적용 20분의 항염증 효과를 평가하기 위해, 전형적인 염증 매개체 COX-2 및 IL-1의 단백질 수준비1% 카라기난 주사 후 4시간, 6시간, 8시간 후에 활막에서 측정되었다. (그림 3A). COX-2와 IL-1b의 발현은 활막에서 4시간에 크게 증가하였고 6시간과 8시간 동안 유지되었다. PRF의 적용은 COX-2 및 IL-1의 수준을 상당히 낮추었습니다. b(P<0.05) (그림 3B 및 C). 무릎 관절 부종에 대한 영향을 함께 고려하면, 우리의 결과는 PRF 적용이 COX-2 및 IL-1b의 발현을 낮추고 무릎 관절 부종을 감소시켜 무릎 관절 염증을 억제할 수 있음을 입증합니다.

PRF 적용으로 활액 증식 감소

PRF의 작용과 관련된 활막 조직 내의 요인을 확인하기 위해 카라기난 유도 모델에서 활막의 형태학적 특징을 분석했습니다. 염증 그룹과 PRF 처리 그룹의 윤활막에 대한 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색으로 평가한 바와 같이 상당한 조직학적 차이가 있었습니다. (그림 4B). 4시간과 6시간에 카라기난 유도군에서 대조군에 비해 활막의 활막 세포수가 증가하였다. 그러나 PRF를 처리한 군에서는 활막세포의 수가 유의하게

카라기난 유도군에 비해 감소 (P<0.01). 카라기난 유발 염증에 대한 PRF의 효과를 추가로 조사하기 위해 F4/80 면역염색을 수행하여 대식세포 모집 및 활성화도를 평가했습니다. 우리는 F4/80 대식세포 염색이 상당히 증가했음을 발견했습니다(P<0.01) 대조군과 비교했을 때 카라기난 유도군에서. PRF 그룹은 상당한 감소를 보였다(P<0.01) 카라기난 주입 6시간 후 윤활막의 대식세포 염색에서.

논의

펄스 고주파(PRF)는 일반 의료 요법의 치료법으로 사용됩니다. 많은 연구에서 고통스러운 증상의 감소를 보여 침습적 PRF 치료의 임상적 효과를 입증했습니다. 후근 신경절에 가까운 PRF의 적용은 주로 신경병성 통증 상태의 치료와 관련이 있습니다. [19]. 일부 연구에서는 경추 관절, 요추 후관절, 어깨 및 무릎과 같은 다른 관절에 PRF를 관절 내 적용하여 좋은 결과를 얻었습니다. [20,21]. PRF 치료를 포함한 임상 연구에 대한 증가하는 문헌에도 불구하고 PRF에 의한 통증 조절 메커니즘은 아직 완전히 밝혀지지 않았습니다. 우리의 결과는 급성 통증이 있는 관절염 쥐 모델에서 비침습적 4.4MHz PRF의 새로운 적용이 통증 관련 행동, 동적 체중 부하, 무릎 관절 직경 및 윤활막의 염증 마커에 항통각 효과를 생성한다는 것을 보여줍니다.

체중 부하 검사는 다양한 염증성 관절통과 관련된 행동을 확인하는 데 적합한 방법입니다. 가장 포괄적인 분석(예: 왼쪽, 오른쪽, 앞다리 및 뒷다리 무게 등)과 최소한의 물리적 간섭으로 편리한 정량화를 제공합니다.

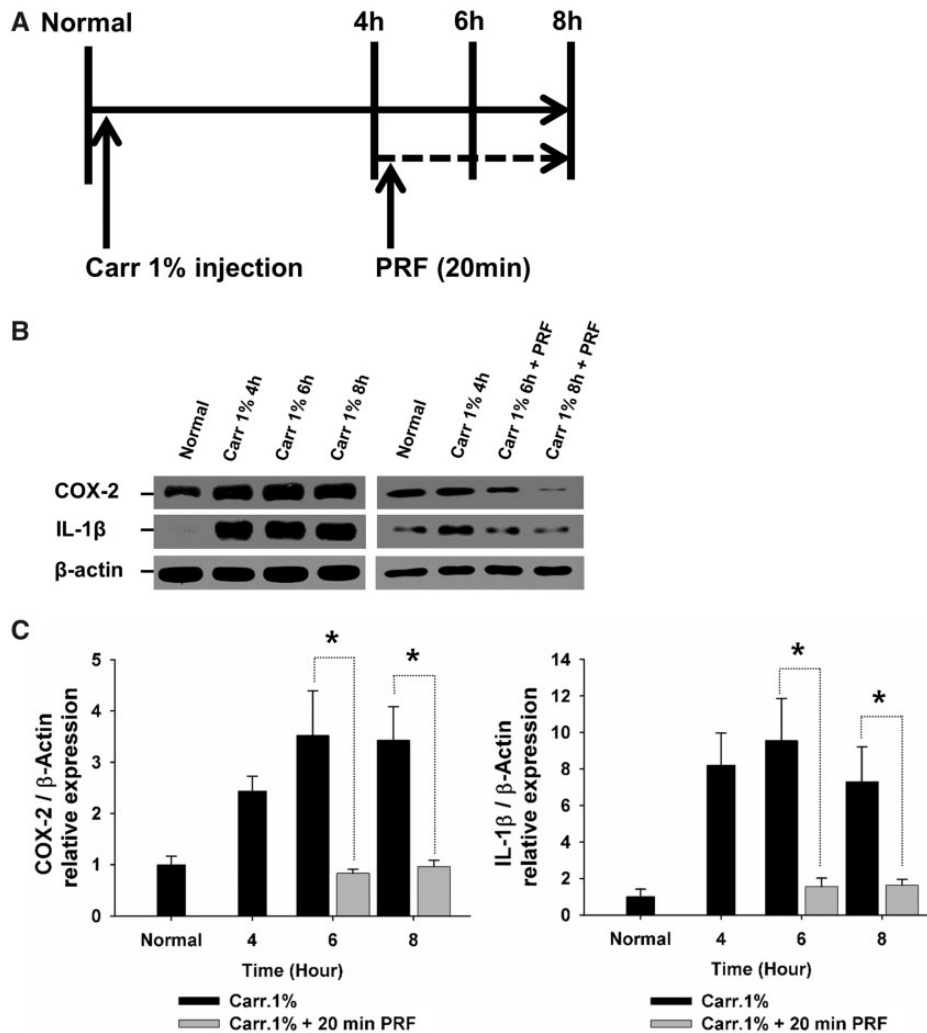


그림 3. 카라기난 주입 후 염증이 생긴 활막에 대한 펄스 고주파(PRF)의 억제 효과. 정상적인 활막 조직으로 웨스턴 블롯 분석을 수행하였고, 카라기난 주입 후 4, 6 및 8시간에 조직을 수집하였다(A). 정상, 카라기난 단독 및 20분 PRF 적용 그룹에 대한 웨스턴 블롯을 수행했습니다. 활막 샘플의 대표적인 웨스턴 블롯 이미지가 표시됩니다(B). 염증 매개체 COX-2 및 IL-1의 발현 수준이 4시간 후 크게 증가하였고 PRF를 20분간 처리한 그룹은 COX-2와 IL-1의 발현량이 감소하였다. 비카라기난 단독 그룹(C)과 비교하여 카라기난 주입 후 6~8시간에, COX-2와 IL-1의 상대 통합 밀도 값비단백질 수치는 비-액틴(카라기난, N¼5; PRF, N¼4각 그룹당 5개). *P<0.05 대 카라기난.

쥐의 관절염에 대한 항염증 효과를 조사하는 많은 연구에서 체중 부하 테스트를 사용했습니다. 이러한 연구에서 체중 부하 테스트는 에센셜 오일, mGluR5 길항제 및 온도 반응 하이드로겔과 같은 물질의 관절 내 주사가 카라기난 유발 관절염이 있는 쥐의 체중 부하 감소를 역전시키는 것으로 나타났습니다.²²⁻²⁴. 우리의 연구는 비침습적 20분 PRF 치료(3초/3초)가 카라기난에 의해 유발된 체중 부하 감소를 역전시킨다는 것을 발견했습니다. 그러나 주기 매개변수(1초/5초)가 다른 PRF 적용은 체중 부하 감소에 영향을 미치지 않았고, 5분 및 10분 PRF(3초/3초) 치료는 염증이 있는 환자에서 체중 부하 감소를 변경하지 않았습니다. 무릎 관절 (그림 1). 따라서 PRF는

쥐의 무릎 관절과 같은 국소 부위에 적용하면 즉각적인 통증 완화 효과. PRF의 효과는 자극 지속 시간 및 펄스 간격과 관련이 있습니다. 또한, 이 새로운 PRF 치료법에 대한 연구는 PRF의 적용이 통증 관련 행동뿐만 아니라 다른 염증 매개체에도 영향을 미치는 것을 시사합니다.

카라기난 유발 관절염 모델은 카라기난의 높은 삼투 구배로 인해 윤활막 증식 및 윤활액 삼출과 함께 염증이 있는 활막을 유발할 수 있습니다. 그것은 주입된 무릎에 심한 부종을 일으켰습니다. 3시간 카라기난 주입 후, 카라기난 유발 염증 반응은 주로 키닌, 프로스타글란딘, 산화질소, 염증성 사이토카인(COX-2 및 IL-1 포함)에 의해 매개되었습니다.비, 및 백혈구 [25]. 일부 연구에서는 다음과 같이 제안했습니다.

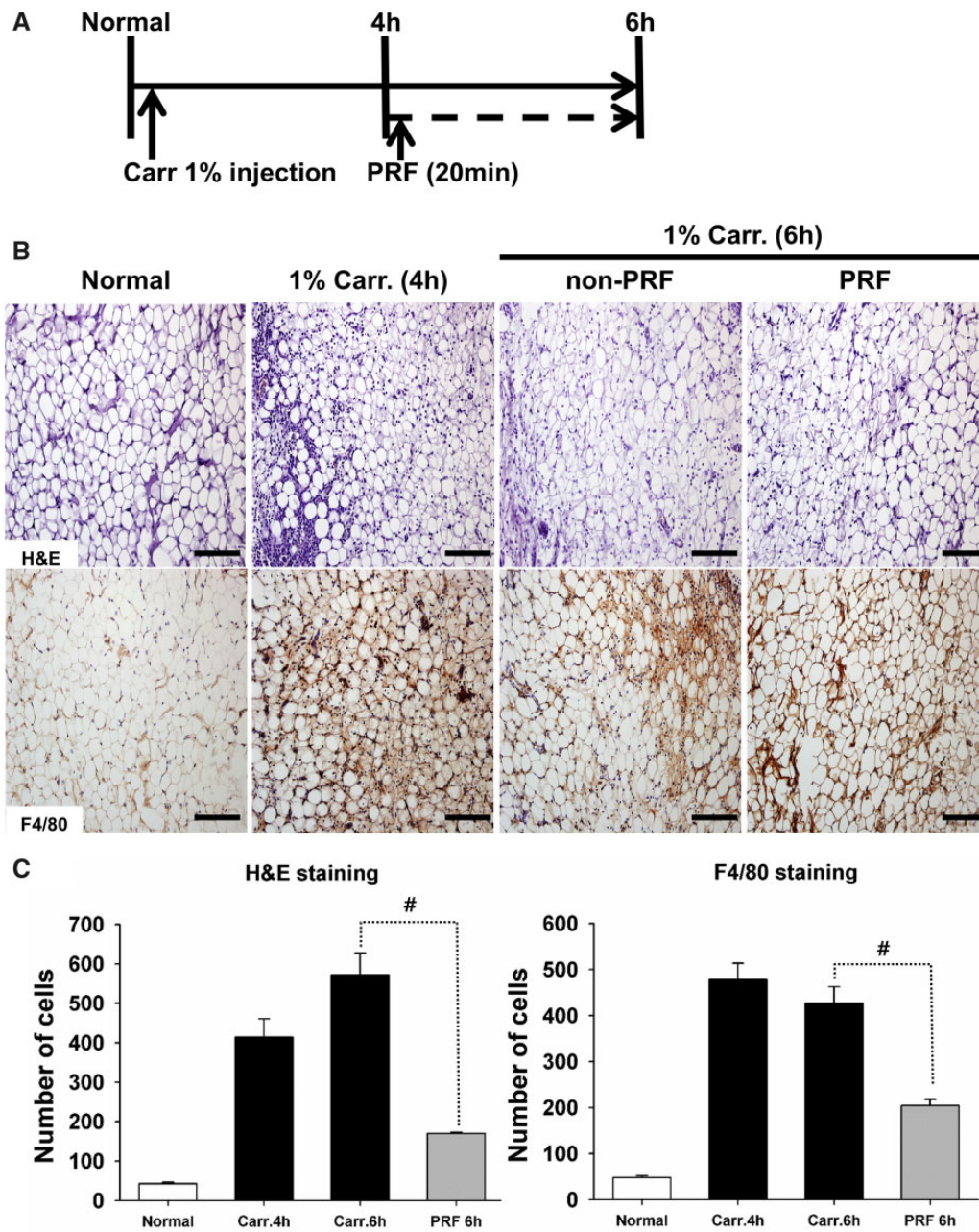


그림 4. 활액막의 활막 세포 및 대식세포의 발현 수준. A) 활막 추출의 시간 경과. B) 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 및 대식세포 마커 F4/80에 대한 항체로 염색된 활막: 정상, 카라기난 주입 4시간 및 6시간 후 및 대조군. C) H&E 및 F4/80 염색을 위한 세포 계수. 운활막염의 중증도는 채점 시스템을 사용하여 평가되었습니다. 표준 편차가 있는 평균값이 표시됩니다. 대표적인 활막 이미지는 정상, 카라기난 유도 및 PRF 자극 그룹에서 F4/80 염색의 예를 보여줍니다. 이미지는 10배율로 촬영되며 눈금 막대는 0.2를 나타냅니다. 엘중, 페어링되지 않음티테스트는 표시된 모든 비교에 사용되었습니다. #P<0.01. 오차 막대는 SEM을 나타냅니다. 샘플 수는 관절염 그룹과 대조군에서 최소 4개였습니다.

PRF는 면역 세포에 영향을 미치고 전염증성 사이토카인의 생성을 감소시킵니다.^{21,26}. 우리의 결과는 PRF가 카라기난 주입 후 6, 7, 8, 24시간에 카라기난 유발 무릎 관절 부종 직경을 감소시켰음을 보여주었습니다. 또한 COX-2 및 IL-1발현은 염증이 있는 활막에서 6시간과 8시간에 약화되었다. 이는 PRF 자극의 항염증 효과가

운활막에서 염증 매개체 과정의 억제.

세포 침윤은 관절염의 유도, 유지 및 진행에서 병리학적 과정입니다. 조직 손상과 관련된 염증성 T 세포, B 세포 및 대식세포의 생성을 증가시킬 수 있습니다. 대식세포 활성화는 OA 발달에 중요한 역할을 합니다.²⁷. 이전 연구에서는 대식세포가

OA 환자의 활막 조직에서 숫자가 증가합니다.²⁸ 및 류마티스 관절염(RA) [29]. 또한, RA 환자에서 활막 아래 대식세포의 감소는 임상적 이점과 관련이 있습니다.³⁰. 최근 연구에 따르면 항원 유발 무릎 관절염 모델에서 L2-5 DRG에서 대식세포의 발현이 증가한 것으로 나타났습니다.³¹. 최근 많은 연구에서 F4/80 바이오마커에 대한 염색을 통해 대식세포 활성화가 관찰되었음을 보여주었습니다. 우리의 F4/80 염색 데이터는 활막에서 대식세포의 증가된 침윤이 카라기난 주사 후 4시간 및 6시간 후에 현저하다는 것을 보여주었습니다. 염증이 생긴 무릎 관절에 PRF를 주사 후 4시간 동안 20분 동안 적용했습니다. PRF 적용은 6시간에 대식세포의 수가 감소하는 결과를 낳았습니다. 종합하면, 이 데이터는 무릎 관절에 비침습적 PRF를 적용하는 것이 항염 효과가 있는 효과적인 치료법이 될 수 있음을 시사합니다.

비침습적 물리치료에서 열(온찜질, 머드팩, 초음파 등)을 적용하는 것은 통증 치료를 위한 잘 알려진 기술입니다. 열은 피부, 근육 및 관절 온도를 증가시킵니다.³². 국소 연골 분해 효소의 활동은 관절 온도와 관련이 있습니다. 이 효소는 36세에 훨씬 더 활동적입니다. 관절염 환자의 C. 최대 41의 온도-C는 이러한 효소의 활성을 감소시킵니다.³³. PRF를 적용할 때 평균 목표 조직 온도는 41 이하입니다. C. 또한 비침습적 4.4MHz PRF의 새로운 치료 적용은 약 41°C의 온도에 도달했습니다. C. 이 연구에서는 PRF 자극의 효과를 구근 자극(온도를 41도로 높임)과 비교했습니다. C) 행동 테스트에서. 전구 자극은 체중 부하 감소에 변화를 일으키지 않았고 무릎 관절 직경의 카라기난 유도 증가를 변경하지 않았습니다. 이러한 관찰은 전구 자극의 결과로 인한 온도 증가가 항염증 효과가 없음을 나타냅니다. 따라서 단순히 온도 상승이 아닌 또 다른 생물학적 효과가 PRF 효과의 근간이 될 것으로 예상됩니다.

우리 연구에는 몇 가지 한계가 있었습니다. 첫째, 카라기난 유도 모델은 급성 염증의 동물 모델로 알려져 있기 때문에 활막 염증에 대한 PRF의 효과는 급성기에만 검출되었다. 둘째, 이 동물 모델의 상대적으로 작은 관절에서는 PRF 에너지를 정확하게 측정할 수 없습니다. PRF 에너지 측정은 PRF 적용 시간과 효능 사이의 연관성을 뒷받침하는 메커니즘을 명확히 할 것입니다.

결론

현재 연구에서 얻은 결과는 비침습적 4.4MHz PRF의 적용이 염증성 사이토카인의 발현, 활막에서의 대식세포 모집 및 통증 관련 행동(체중 부하 감소)을 억제하여 통증 완화를 제공함을 나타냅니다. 이러한 효과는 RF 필드의 고열 특성으로 인한 것이 아닙니다. 우리의 결과는

PRF 치료의 생물학적 효과는 관절 통증에 대한 새로운 비침습적 접근법의 개발 또는 전자기장을 사용하는 다른 장치의 치료를 자극하기 위해 필요합니다.

참조

- Hunter DJ, Guermazi A. 골관절염의 이미징 기술. *PM & R* 2012;4(5 공급):S68-74.
- Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP. 골관절염: 임상 실습과 관련된 업데이트입니다. *랜싯* 2011;377(9783):2115-26.
- Kerkhoffs GM, Servien E, Dunn W, Dahm D, Bramer JA, Haverkamp D. 슬관절 전치환술의 합병증 비율 및 결과에 대한 비만의 영향: 메타 분석 및 체계적인 문헌 검토. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94(20):1839-44.
- SooHoo NF, Lieberman JR, Ko CY, Zingmond DS. 슬관절 전치환술 후 합병증 발생률을 예측하는 요인. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88 (3):480-5.
- Pignato M, Arbeeve L, Schwartz TA, Callahan LF, Cooke J, Golightly YM. 물리 치료 또는 인터넷 기반 운동 훈련 프로그램 참여 수준: 무릎 골관절염 환자의 결과와의 연관성. *BMC 근골격 장애* 2018;19(1):238-48.
- 암마르 TA. 무릎 골관절염 환자의 단색 적외선 광 에너지 대 저 수준 레이저 요법. *J 레이저 Med Sci* 2014;5(4):176-82.
- Loyola-Sanchez A, Richardson J, 매킨타이어 뉴저지. 무릎 골관절염 관리를 위한 초음파 요법의 효능: 메타 분석을 통한 체계적 고찰. *골관절 연골* 2010;18(9):1117-26.
- Law PPW, Cheing GLY, Tsui A. 경피적 전기 신경 자극이 무릎 골관절염 환자의 신체 기능을 개선합니까? *J Clin Rheumatol* 2004;10(6):295-9.
- Cahana A, Van Zundert J, Macrea L, van Kleef M, Sluijter M. 펄스 고주파: 현재 임상 및 생물학적 문헌 이용 가능. *통증 메드* 2006;7(5):411-23.
- 말릭 K, 벤존 HT. 후근 신경절에 대한 고주파 적용: 문헌 검토. *마취학* 2008;109(3):527-42.
- Haspesslagh SRS, Van Suijlekom HA, Lam-e IE, Kessels AG, van Kleef M, Weber WE. 자궁경부성 두통의 치료로서 자궁경부 고주파 병변의 무작위 통제 시험 [ISRCTN 07444684]. *BMC 마취* 2006;6(1):1-11.
- Wilkes D, Ganceres N, Solanki D, Hayes M. 하지 환상지 통증의 펄스 고주파 치료. *Clin J Pain* 2008;24(8):736-9.
- Abejon D, Garcia-del-Valle S, Fuentes ML, Gomez-Arnau JI, Reig E, van Zundert J. 요추 신경근 통증의 펄스 고주파: 임상적 효과

- 다양한 병인 그룹. 통증 실습 2007;7(1):21-6.
14. Mikeladze G, Espinal R, Finnegan R, Routon J, Martin D. 만성 zygapophyseal 관절 통증 치료에 펄스 고주파 적용. 스파인 J 2003;3(5):360-2.
 15. Vallejo R, Benyamin RM, Kramer J, Stanton G, Joseph NJ. 천장 관절 증후군의 치료를 위한 펄스 고주파 신경 제거. 통증 메드 2006;7(5):429-34.
 16. 샤 RV, Racz GB. 만성 어깨 통증 치료를 위한 견갑상 신경의 펄스 모드 고주파 병변. 통증 의사 2003;6(4):503-6.
 17. Wu H, Groner J. 고관절 통증 관리를 위한 밀폐 장치 및 대퇴 신경의 관절 가지에 대한 펄스 고주파 치료. 통증 실습 2007;7(4):341-4.
 18. Min SS, Han JS, Kim YI, et al. 자발적으로 걷는 쥐의 관절염 통증을 편리하게 평가하는 새로운 방법. Neurosci Lett 2001;308(2):95-8.
 19. Hamann W, Abou-Sherif S, Thompson S, Hall S. 후근 신경절에 적용된 펄스 고주파는 작은 뉴런에서 ATF3의 선택적 증가를 유발합니다. Eur J 통증 2006;10(2):171-6.
 20. Karaman H, Tufek A, Kavak GO 등. 관절 내 적용 펄스 고주파는 골관절염 환자의 만성 무릎 통증을 줄일 수 있습니다. J Chin Med Assoc 2011;74(8):336-40.
 21. Sluijter ME, Teixeira A, Serra V, Balogh S, Schianchi P. 관절 통증에 대한 펄스 고주파의 관절 내 적용 - 6가지 사례 보고. 통증 실습 2008;8(1):57-61.
 22. 서인재, 정현재, 박은호 외. 의 효과 Chamaecyparis obtusa 쥐의 카라기난 유발 관절염에서 통증 관련 행동 및 전염증성 사이토 카인 발현에 대한 에센셜 오일. Biosci Biotechnol Biochem 2016;80(1):203-9.
 23. Lee KS, Kim J, Yoon YW, Lee MG, Hong SK, Han HC. 무릎 관절 염증이 있는 쥐의 통각 수용 행동에 대한 그룹 I 대사성 글루타메이트 수용체의 말초적 역할. Neurosci Lett 2007; 416(2):123-7.
 24. Kim T, 설 DR, Hahm SC, et al. 쥐의 골관절염 통증에 대한 bupivacaine을 함유한 온도 반응성 하이드로겔의 관절 내 주사의 진통 효과. Biomed Res Int 2015;2015:812949-57.
 25. 크런크혼 P, 메콕 SC. 카라기닌에 의해 쥐의 발에서 유도된 염증의 매개체. Br J Pharmacol 1971;42(3):392-402.
 26. Sluijter ME, Imani F. 펄스 무선 주파수의 진화 및 작용 방식. Anesth Pain Med 2013;2(4):139-41.
 27. 블룸 AB, 반 렌트 PL, Libregts S, 외. 실험적 골관절염 동안 매트릭스 메탈로프로테이나제 매개 연골 파괴에서 대식세포의 중요한 역할: 매트릭스 메탈로프로테이나제 3의 관여. 관절염 Rheum 2007;56(1):147-57.
 28. Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, van den Berg WB, Bresnihan B. 초기 및 후기 골관절염에서의 활막 조직 염증. Ann Rheum Dis 2005;64(9):1263-7.
 29. Haringman JJ, Gerlag DM, Zwinderman AH 등. 활막 조직 대식세포: 류마티스 관절염 환자의 치료 반응에 대한 민감한 바이오마커입니다. Ann Rheum Dis 2005;64(6):834-8.
 30. Wijbrandts CA, Vergunst CE, Haringman JJ, Gerlag DM, Smeets TJ, Tak PP. 류마티스 관절염에 대한 비효율적인 치료 후 윤활막 밑줄 대식세포 수의 변화 없음: 활막 밑줄 대식세포를 바이오마커로 사용하는 것에 대한 시사점. 관절염 Rheum 2007;56 (11):3869-71.
 31. 자키 S, 밀러 RE, Malfait AM, 외. 8주 항원 유발 관절염 모델에서 관절 병리와 관련된 통증 관련 행동의 특성화. 골관절염 골 2014;22: S36-S7.
 32. Oosterveld FG, Rasker JJ, Jacobs JW, Overmars HJ. 국소 온열 및 냉찜질 요법이 무릎의 관절내 및 피부 표면 온도에 미치는 영향. 관절염 Rheum 1992;35(2):146-51.
 33. Harris ED Jr, McCroskery PA. 류마티스 활막 콜라게나제에 의한 연골 콜라겐 분해에 대한 온도 및 피브릴 안정성의 영향. N Engl J Med 1974;290(1):1-6.