

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΟΡΙΑΚΗ & ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ»
Μεταπτυχιακή Διατριβή

ΤΙΤΛΟΣ

«Η επίδραση τεχνικών Χειροθεραπείας (Manual Therapy) στην κλινική εικόνα και στα επίπεδα της IL-1β σε ασθενείς με χρόνια αυχενικό μηχανικό πόνο»

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κουτσιλιέρης Μιχαήλ, Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας ΕΚΠΑ

Φιλίππου Αναστάσιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας ΕΚΠΑ

Χατζηγεωργίου Αντώνης, Επίκουρος Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας ΕΚΠΑ

Ζεμαδάνης Κωνσταντίνος, Μεταπτυχιακός φοιτητής

Σεπτέμβριος 2019

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

- *ΕΙΣΑΓΩΓΗ* σελ. 4
- *Μηχανισμοί δράσης Χειροθεραπείας* σελ. 5
- *Κυτταροκίνες* σελ. 7
- *ΣΚΟΠΟΣ-ΥΠΟΘΕΣΗ* σελ. 10
- *ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ* σελ. 11
- *ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ* σελ. 113
- *ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ* σελ. 14
- *ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ* σελ. 16
- *ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ* σελ. 17
- *ΣΥΖΗΤΗΣΗ* σελ. 24
- *ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ* σελ. 28
- *ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ* σελ. 30

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Ο χρόνιος αυχενικός μηχανικός πόνος είναι μία συχνή μυοσκελετική δυσλειτουργία και ένα από τους τρόπους αντιμετώπισης είναι η χειροθεραπεία. Η καθημερινή κλινική πρακτική καταγράφει ενδείξεις βελτίωσης των συμπτωμάτων, ωστόσο είναι ασαφής η επίδραση αυτή ως προς τη δοσολογία, το είδος εφαρμογής της παρέμβασης και των υποκείμενων μηχανισμών δράσης μέσω των οποίων επέρχονται οι μεταβολές στην κλινική εικόνα των ασθενών. Σκοπός της μελέτης ήταν να ερευνηθεί η βραχύχρονη επίδραση εφαρμογής εξειδικευμένης κινητοποίησης και συγκεκριμένων χειρισμών της αυχενικής μοίρας της σπονδυλικής στήλης στον πόνο και τη λειτουργικότητα ασθενών με αυχενικό χρόνιο μηχανικής φύσεως πόνο. Επιπλέον, να ερευνηθεί ο υποκείμενος μηχανισμός επίδρασης, μέσω ανίχνευσης μεταβολών στη συγκέντρωση βιοδεικτών φλεγμονής, όπως είναι η ιντερλευκίνη-1β.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ: είκοσι δύο (n=22) ασθενείς ηλικίας 20-50 ετών με κλινική εικόνα χρόνιου μηχανικού πόνου (>3 μήνες) στην αυχενική μοίρα της ΣΣ, αποτέλεσαν το δείγμα της μελέτης, το οποίο συλλέχθηκε τυχαία μέσω συγκεκριμένων κριτηρίων και ταξινομήθηκε σε δύο ισάριθμες ομάδες. Την ομάδα μελέτης, στην οποία εφαρμόστηκε πρόγραμμα χειροθεραπείας (Manual Therapy) εννέα συνεδριών σε τρεις εβδομάδες και την ομάδα ελέγχου στην οποία ακολουθήθηκε εικονική παρέμβαση (SHAM Manual Therapy) της ίδιας δοσολογίας. Επιπλέον, έγινε συλλογή δειγμάτων αίματος μέσω αιμοληψιών, ώστε να γίνει η ανάλυση των συγκεντρώσεων της IL-1β.

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ: Ο πόνος και η λειτουργικότητα ήταν οι εξαρτημένες μεταβλητές που μετρήθηκαν πριν και μετά την παρέμβαση με τις κλίμακες NPRS (ICC=0.76) και NDI (ICC=0.86) αντίστοιχα. Η τρίτη εξαρτημένη μεταβλητή ήταν η IL-1β που μετρήθηκε επιπλέον και μετά την πρώτη συνεδρία, μέσω του αντίστοιχου kit (ELISA). Η στατιστική ανάλυση έγινε μέσω του SPSS. 25, χρησιμοποιώντας την Mixed ANOVA για έλεγχο των διαφορών στις εξαρτημένες μεταβλητές ως προς τα δύο επίπεδα της ανεξάρτητης μεταβλητής (GROUP/TIME), στο επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: υπήρξε σημαντική στατιστική αλληλεπίδραση και σημαντικές κύριες επιδράσεις στις εξαρτημένες μεταβλητές πόνου, λειτουργικότητας, IL-1β ($p<0.05$) για τα δύο επίπεδα της ανεξάρτητης μεταβλητής μεταξύ των ομάδων (GROUP) και μεταξύ των μετρήσεων (TIME). Η μείωση της συγκέντρωσης της IL-1β ήταν σημαντική στατιστικά ($p<0.05$) ανάμεσα στην πρώτη και δεύτερη μέτρηση μόνο για την ομάδα μελέτης, αλλά μη σημαντική ($p>0.05$) ανάμεσα στη δεύτερη και τελική μέτρηση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ: Ασθενείς με χρόνιο μηχανικό πόνο στην αυχενική μοίρα παρουσίασαν σημαντική βελτίωση της κλινικής τους εικόνας σε επίπεδο πόνου και λειτουργικότητας, ύστερα από την εφαρμογή τεχνικών χειροθεραπείας, συγκριτικά με αντίστοιχη ομάδα ελέγχου. Ο υποκείμενος μηχανισμός δράσης πιθανώς συνδέεται με την ενεργοποίηση σηματοδοτικών μορίων φλεγμονής-κυτταροκινών (π.χ.IL-1β), κατευθύνοντας τη μελλοντική ερευνητική προσπάθεια ερμηνείας σε μοριακό επίπεδο.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Chronic cervical mechanical pain is a common musculoskeletal dysfunction and Manual Therapy is one of the treatment modalities with evidence of improvement in symptoms, but the effect on dosage, type of intervention, and underlying mechanisms of action are unclear. The aim of the study was to investigate the acute and short-term effect of cervical spine mobilization/manipulations on patient's pain and functionality. In addition, to investigate the underlying mechanism of action by detecting changes in the concentration of inflammatory biomarkers, such as interleukin-1b.

METHODS: Twenty-two (n = 22) patients aged 20-50 years with a clinical status of chronic mechanical pain (> 3 months) in the cervical spine, consisted of the study sample, randomly assigned and classified into two equal groups. The study group, which received nine sessions of a three-week Manual Therapy intervention, and the control group receiving SHAM Manual Therapy of the same dosage. In addition, blood samples were collected through blood sampling in order to analyze IL-1 β concentrations.

MEASURES: Pain and functionality were the dependent variables measured before and after intervention with the NPRS (ICC = 0.76) and NDI (ICC = 0.86) scales, respectively. IL-1 β was additionally measured after the first session using the corresponding kit (ELISA). Statistical analysis was conducted with SP Mixed ANOVA detecting for differences in the dependent variables on the two levels of the independent variable (GROUP / TIME), at the significance level $\alpha = .05$.

RESULTS: There was a significant statistical interaction and significant main effects on the dependent variables of pain, functionality, IL-1 β ($p < .05$) for the independent variable levels between groups (GROUP) and measurements (TIME). The decrease in IL-1 β concentration was statistically significant ($p < .05$) between the first and second measurement, on the study group, but not significant ($p > .05$) between the second and final measurements. No statistical significance was found for the control group on any of the dependent variables across measurements.

CONCLUSION: Patients with chronic mechanical pain in the cervical spine showed a significant improvement in their clinical status in terms of pain and functionality after applying manual therapy specific techniques compared to a control group. The underlying mechanism of action is probably linked to the reduced activation of inflammatory-cytokine signaling molecules (e.g. IL-1 β), directing future research efforts on molecular-level profile of patients.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ορισμός-επιδημιολογία

Ως χρόνιος μηχανικός μυοσκελετικός αυχενικός πόνος ορίζεται η κλινική κατάσταση πόνου στην αυχενική μοίρα της σπονδυλικής στήλης με διάρκεια τουλάχιστον 12 εβδομάδων, συνδεδεμένη με την κίνηση των αναφερόμενων σπονδυλικών τμημάτων (Guzman et al, 2008). Διαφοροποιείται από τις διάφορες αιτίες μη μηχανικού πόνου στην περιοχή προκαλούμενες από μία σοβαρή υποκείμενη παθολογία συστηματικής και μη φύσεως, όπως επίσης και από διαταραχές ριζιτιδίας, τραυματισμού whiplash, πονοκεφάλου, σπονδυλαρθροπάθειας και οστεο-θυλακο-συνδεσμικών κακώσεων (Cross et al., 2011; Childs et al., 2008; Cleland et al., 2005). Ο επιπολασμός και ο αντίκτυπος του χρόνιου αυχενικού πόνου αυξάνεται, καταλαμβάνοντας τη 21η θέση από τις 291 ασθένειες και την τέταρτη σε μονάδα μέτρησης « χρόνια ζωής με αναπηρία», «years lived with disability” (YLD), (Blanpied et al., 2017). Ο χρόνιος πόνος στον αυχένα περιγράφεται ως μια συχνά επεκτεινόμενη αίσθηση υπεραλγησίας στο δέρμα, τους συνδέσμους και τους μύες κατά την ψηλάφηση όσο και στις παθητικές/ ενεργητικές κινήσεις του αυχένα και του ώμου. Η διεθνής ένωση για τη μελέτη του πόνου (The International Association for the Study of Pain- IASP) στην ταξινόμηση του χρόνιου πόνου ορίζει τον αυχενικό πόνο της σπονδυλικής στήλης ως αυτόν που εντοπίζεται οπουδήποτε στην οπίσθια περιοχή της αυχενικής μοίρας της σπονδυλικής στήλης, από την ανώτερη αυχενική γραμμή μέχρι την πρώτο θωρακικό σπόνδυλο (Merskey, 1994). Από τη στιγμή που θεωρείται χρόνια, η πορεία μπορεί να είναι σταθερή ή κυμαινόμενη με περιόδους σχετικής βελτίωσης που ακολουθούνται από περιόδους σχετικής επιδείνωσης.

Προδιαθεσικοί παράγοντες θεωρούνται οι επαναλαμβανόμενες κινήσεις, η έλλειψη διακοπών εργασίας, οι στατικές εργασίες με διατήρηση της κεφαλής και των άνω άκρων στην ίδια θέση για μεγάλες χρονικές περιόδους (Strimprakos, 2011). Η ακριβής φύση της αιτίας του μηχανικού πόνου του αυχένα δεν είναι ξεκάθαρη. Ωστόσο, έχει αποδοθεί στη διέγερση των προσαγωγών αλγούποδοχέων εντοπιζόμενοι στις αρθρικές επιφάνειες και στα μαλακά μόρια της αυχενικής περιοχής ή ακόμη και στις ενδοαρθρικές αποφύσεις του Luschka στο σπονδυλικό επίπεδο A3-A7 (Falco et al., 2009).

Χειροθεραπεία - Manual Therapy (MT)

Στα πλαίσια της συντηρητικής αντιμετώπισης ασθενών με μηχανικό αυχενικό πόνο, η χειροθεραπεία-Manual Therapy (MT), αποτελεί μία σημαντική και συχνά πλέον χρησιμοποιούμενη κινησιοθεραπευτική μέθοδος φυσικοθεραπευτικής παρέμβασης, η οποία στοχεύει στην αύξηση του εύρους κίνησης (Range Of Motion-ROM) και τη μείωση του πόνου (APTA, 2003). Ως εργαλείο συντηρητικής αντιμετώπισης των ασθενών με χρόνια μηχανικό πόνο, συμμετέχει σε σημαντικό βαθμό στη βελτίωση των συμπτωμάτων σε επίπεδο λειτουργικότητας και πόνου (Vernon et al., 2007). Οι τελευταίες συστηματικές ανασκοπήσεις αλλά και οι κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν την χειροθεραπεία, βασιζόμενες σε μέτριο έως καλό επίπεδο ερευνητικά δεδομένα (Blanpied et al., 2017). Το MT εφαρμόζεται είτε με τη μορφή χειρισμών (High Velocity Low Amplitude-HVLA), είτε ως κινητοποίηση διατηρούμενη ή διακοπτόμενη (Low Velocity Low Amplitude-LVLA).

Προγνωστικοί παράγοντες εφαρμογής χειρισμών στον αυχένα σχετίζονται: με το σκορ του δείκτη ανικανότητας του αυχένα Neck Disability Index (NDI) <11.5 , αμφοτερόπλευρη εντόπιση συμπτωμάτων, βελτίωση των συμπτωμάτων με την κίνηση, μη συμπτωματολογία ριζίτιδας και έλλειψη πόνου με την έκταση του αυχένα (Tseng et al., 2006).

Μηχανισμοί δράσης Χειροθεραπείας

Παρόλο ότι η βελτίωση των συμπτωμάτων των ασθενών μπορεί να υποστηριχθεί και ερευνητικά μετά από την εφαρμογή ενός προγράμματος κινητοποίησης των αρθρώσεων του αυχένα, ο μηχανισμός σύμφωνα με τον οποίο λαμβάνει χώρα αυτή η μεταβολή δεν είναι ακόμα γνωστός. Παραμένουν αδιευκρίνιστοι οι υποκείμενοι μηχανισμοί δράσης μέσω των οποίων οι τεχνικές αυτές επιδρούν στη φυσική ιστορία της αυχενικής δυσλειτουργίας. Πολλές είναι οι μέχρι τώρα θεωρίες που έχουν αναπτυχθεί ώστε να ερμηνεύσουν το φαινόμενο επίδρασης των ενδοαρθρικών δια των χειρών κινητοποιήσεων. Το έως τώρα βιομηχανικό θεωρητικό μοντέλο επανατοποθέτησης των αρθρικών επιφανειών (Positional Fault Theory) και επαναφοράς της φυσιολογικής ενδοαρθρικής κίνησης αρχίζει να χάνει έδαφος (Bialosky et al., 2009). Η θεωρία αυτή, ενώ αρχικά διαφαινόταν ότι θα ερμήνευε τις επιδράσεις του MT στις δομικές μεταβολές των αρθρικών επιφανειών, αλλά και εξωαρθρικών δομών όπως οι είναι οι μύες, το θυλακοσυνδεσμικό σύστημα και ο νευραγειακός ιστός, δεν επιβεβαιώνεται. Φαίνεται ότι συνδυασμός διαφορετικών μηχανισμών εκπροσωπεί την υποκείμενη οδό δράσης του MT (Bialosky et al., 2009).

Το νευροφυσιολογικό μοντέλο διαδέχθηκε το προηγηθέν βιομηχανικό εστιαζόμενο στην επίδραση του MT (Bialosky et al., 2009) μέσω διέγερσης των αρθρικών μηχανο-υποδοχέων (αισθητικά κύτταρα ιδιοδεκτικότητας) των αυχενικών σπονδυλικών τμημάτων και έμμεσα αναστολής των αλγούποδοχέων και των ιδιοδεκτικών προσαγωγών υποδοχέων ομάδας I και II (Schmid et al., 2008). Επιπλέον, μέσω προσυναπτικής αναστολής των τμημάτων των οδών πόνου και ενεργοποίησης του ενδογενούς συστήματος οπιούχων και κατιόντων ανασταλτικών μηχανισμών πόνου επιδρώντας σε απομακρυσμένες περιοχές (Haldeman, 1986). Είναι πιθανή η τροποποίηση στην κεντρική αισθητική επεξεργασία διαφοροποιώντας τα μηχανικά και χημικά ερεθίσματα, μετά από την εφαρμογή χειρισμών στον αυχένα. Άλλωστε, η κεντρική ευαισθητοποίηση (central sensitization), ως παράγοντας πυροδότησης νευρικών σημάτων πόνου, διατηρεί την χαμηλού βαθμού φλεγμονή που χαρακτηρίζει τις χρόνιες μυοσκελετικές διαταραχές (Woolf, 2011; Schäfer et al., 2017).

Οι περιφερειακοί μηχανισμοί αποτελούν τον κύριο στόχο της συγκεκριμένης μελέτης και σχετίζονται με παράγοντες που επηρεάζουν τους ιστούς τοπικά. Η συσχέτισή τους με το MT εξετάζεται μέσω μεταβολών στη συγκέντρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών στο περιφερικό αίμα. Προτεινόμενη λοιπόν εκ της βιβλιογραφίας προκύπτουσα υπόθεση είναι και η ανάγκη εύρεσης βιοδεικτών πόνου στο περιφερικό αίμα, μία θεωρία την οποία η παρούσα μελέτη επιχειρεί να ερευνησει. Ο πόνος, ως σύμπτωμα υποκειμενικής αξιολόγησης ωθεί την ερευνητική σκέψη στο να βρεθεί τρόπος μέτρησής του, σε επίπεδο αντικειμενικών σημείων, κάνοντας λόγω για μία εναλλακτική οριοθέτηση του όρου “rain biomarker” σε “noci-marker” (Bäckryd, 2015). Εάν εντοπιστούν βιοδείκτες που μαρτυρούν την ύπαρξη ανιχνεύσιμων χημικών σημάτων πόνου στο αίμα ασθενών CNP τότε μετά την παρέμβαση MT αναμένεται μία πιθανή στατιστικά σημαντική μείωσή τους σε συνδυασμό με αντίστοιχη μείωση της αίσθησης πόνου.

Σε κυτταρικό επίπεδο έχει φανεί η ανταπόκριση των ινοβλαστών στο μηχανικό φορτίο μέσω μηχανοεπαγωγής και μεταβολής των ερεθισμάτων δύναμης-φορτίου σε χημικές μεταβολές εξωκυτταρικά, διακυτταρικά και ενδοκυτταρικά (Teodorczyk et al., 2006). Οι ινοβλάστες παράγουν θεμέλια ουσία οργανώνοντας το κολλαγόνο, ανάλογα με το βαθμό, την κατεύθυνση και το είδος της εφαρμοζόμενης δύναμης (έλξη, συμπίεση, διάτμηση, κάμψη, στροφή). Το φορτίο μπορεί να είναι συνεχές ή διακοπτόμενο (Langevin et al., 2011).

Υπάρχουν ενδείξεις επίδρασης στο αυτόνομο νευρικό σύστημα (ΑΝΣ-κατεχολαμίνες) μέσω αναλγησίας και συμπαθητικής ενεργοποίησης (αύξηση καρδιακής συχνότητας, αρτηριακής πίεσης, θερμοκρασίας δέρματος και αγγειοκινητικών μεταβολών) μετά εφαρμογή τεχνικών Mulligan concept MWM (Paungmali et al., 2003) και χειρισμών στην αυχενικής μοίρα (Vicenzino et al., 1998; Sterling et al., 2001). Επιπλέον, ο Paungmali, (2004) μελέτησε την υπόθεση της διέγερσης του συστήματος οπιοειδών μέσω χορήγησης ανταγωνιστή οπιοειδών (ναλοξόνη) και της άμεσης επίδρασης στην επακόλουθη εφαρμογή MT και την ανάπτυξη της ανοχής των ασθενών, χωρίς ωστόσο να επιβεβαιωθεί η αρχική υπόθεση. Οι ερευνητές στηρίχθηκαν σε προηγούμενες μελέτες που υπέθεσαν την έμμεση επίδραση στη διέγερση των οπιοειδών και τον περιορισμό του πόνου ακολουθούμενο από εφαρμογή πρωτοκόλλου MT, (Vicenzino et al., 1998; Sterling et al., 2001).

Η παραγωγή ήχου σε εφαρμογή χειρισμών στην ΣΣ λόγω διάσπασης φυσαλίδων αζώτου από πτώση της ενδοαρθρικής-ενδοθυλακικής πίεσης μέσω της απομάκρυνσης των αρθρικών επιφανειών, παρόλο ότι δε συνδέεται με ένα καλύτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα χρησιμοποιείται από κάποιους ερευνητές ως περιεχόμενο υπόθεσης μηχανισμού δράσης. (Cleland et al., 2013; Flynn et al., 2006). Η μείωση της ενδοαρθρικής πίεσης οδηγεί στην διάταση του θύλακα και την εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων διεγείροντας τους μηχανουποδοχείς. Αυτό πιθανώς επιδρά στην αντανάκλαστική μυϊκή χαλάρωση και την αύξηση του εύρους κίνησης-Range Of Motion (ROM). Η διέγερση των μηχανουποδοχέων διεγείρει το οπίσθιο κέρασ της φαιάς ουσίας του νωτιαίου μυελού με τελικό αποτέλεσμα την αναλγησία ενισχύοντας το κατιόν σύστημα πόνου στην περι-υδραγώγιμη φαιά περιοχή του ΚΝΣ και την αύξησης εγκεφαλινών και ενδορφινών (Ruiz-Saez et al., 2007). Η «ανάταξη» μέσω χειρισμού επιδρά στα facet, του παρασπονδυλικούς μύες και τα παρασπονδυλικό θυλακοσυνδεσμικό σύστημα με επίδραση σε συμπαθητικές και παρασυμπαθητικές μεταβολές μέσω αντανάκλαστικών (Haldeman et al., 2006). Κάθε σπονδυλικό τμήμα περιλαμβάνει μία πλειάδα μηχανουποδοχέων, αλγουποδοχέων, υποδοχέων πίεσης και θερμοκρασίας που αλληλεπιδρούν σύμφωνα με εσωτερικά και εξωτερικά ερεθίσματα (Bolton, 2000). Ηλεκτρομυογραφικές μελέτες ενισχύουν τις προαναφερόμενες υποθέσεις (Herzog et al., 1999). Οι νευροδιαβιβαστές που συμμετέχουν είναι οι εξής: σεροτονίνη, βασοπρεσίνη, ενδοκανναβινοειδή, ωκυτοκίνη, αδενοσίνη (Vigotsky et al., 2015).

Ως προς τη συμμετοχή των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος στους μηχανισμούς δράσης του MT έχει φανεί αύξηση των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων και μακροφάγων του αναπνευστικού συστήματος στο περιφερικό αίμα μετά από θωρακικούς χειρισμούς, χωρίς παράλληλες σημαντικές μεταβολές στην ουσία P (Substance P), (Brennan et al., 1991). Μάλιστα πιθανολογείται και ένα απαραίτητο κατώφλι δύναμης των τεχνικών MT για την πρόκληση των μεταβολών, αλλά οι μετρήσεις έγιναν σε έξω επικονδυλίτιδα μετά εφαρμογής MWM και όχι στη σπονδυλική στήλη (McLean, 2002).

Έχοντας ως βάση το γεγονός ότι μεταλλοπρωτεϊνάσες και φλεγμονώδεις παράγοντες συσχετίζονται με αυξημένες συγκεντρώσεις στο αρθρικό υγρό αρθρώσεων διαγεγνωσμένων με οστεοαρθρίτιδα, ο Sambajon (2003) μελέτησε την επίδραση του κυκλικού μηχανικού φορτίου σε κυτταρικές σειρές ινοβλαστών κροταφογοναθικής άρθρωσης χρησιμοποιώντας το σύστημα Flexercell Strain Unit (Flexcell International Corporation, McKeesport, PA) διάρκειας 10 sec σε βαθμό 24% επιμήκυνσης με 10sec διάλλειμα. Η επίδραση αυτή είναι ως αποτέλεσμα τη μείωση των προσταγλανδινών στο αρθρικό υγρό των ουσιών που συνδέονται με τον πόνο και την φλεγμονή ως παράγωγα του αραχιδονικού, χωρίς ωστόσο μεταβολή των μεταλλοπρωτεϊνών (ζελατινάση, κολλαγενάση στρομελυσίνη). Στο ίδιο πλαίσιο ανίχνευσης βιοδεικτών φλεγμονής και πόνου και της επίδρασης του MT, Ο Degenhardt (2007) βρήκε αυξημένη β-ενδορφίνη, N-παλμιτοαιθανολαμίδη και μειωμένη σεροτονίνη και ανανδαμίδη, ύστερα από μέτρηση 5 ημερών κι εφαρμογή MT πριν την 5^η ημέρα σε ασθενείς με χρόνια οσφυϊκό πόνο.

Επιπλέον, παράγοντες ρύθμισης του PH όπως τα ιοντικά κανάλια ανίχνευσης οξέος-Acid-sensing ion channels (ASICs) εμπλέκονται στην εκδήλωση του πόνου στις μυοσκελετικές δυσλειτουργίες (Abdelhamid et al., 2015). Οι ASICs είναι δίαυλοι πρωτονίων/Na ανεξάρτητοι ηλεκτρικού φορτίου εντοπιζόμενοι σε μυϊκούς και αρθρικούς αλγούποδοχείς (Delaunay et al., 2012). Ο πόνος συνδέεται με πτώση του PH του αρθρικού υγρού όπως παρατηρείται και σε ασθενείς με μυοπεριτονικό πόνο στην κάτω αυχενική και την ωμική ζώνη (Shah et al., 2005). Ο μυϊκός ιστός υπό συνθήκες φλεγμονής και καμάτου έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις πρωτονίων και γαλακτικού οξέος (Gong et al., 2014). Ακόμη και στην περίπτωση όπου διαλύματα οξέος ενεθούν σε υγιείς μύες προκαλούν υπεραλγησία πρωτοπαθή και δευτεροπαθή (Frey et al., 2009). Μηχανισμός δράσης των Acid-sensing ion channel 3 είναι η πτώση στη φωσφορυλίωση των εξωκυττάρων σηματοδοτικών κινάσων επάγοντας την απόπτωση των κυττάρων του αρθρικού υμένα εισάγοντας ασβέστιο ενδοκυτταρικά (Gong et al., 2014).

Κυτταροκίνες

Οι κυτταροκίνες είναι πολυλειτουργικά μόρια με ποικίλες βιολογικές δράσεις και κύτταρα-στόχους. Είναι διαλυτές πρωτεΐνες με ρυθμιστικό κυτταρικό ρόλο κυρίως στο ανοσοποιητικό σύστημα. Οι κύριες λειτουργίες τους είναι συνήθως τοπικές, διαμορφώνοντας τη συμπεριφορά των γειτονικών κυττάρων με παρακρινή λειτουργία ή του κυττάρου που τις εκκρίνει με αυτοκρινή λειτουργία, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν σημαντικές επιδράσεις σε απομακρυσμένες περιοχές μέσω του αίματος (ενδοκρινική λειτουργία). Ο όρος κυτταροκίνες περιλαμβάνει: τις ιντερλευκίνες (Interleukins-IL-1-14), τον παράγοντα νέκρωσης όγκου Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α), την ιντερφερόνη-α (Interferon-α), τον αναπτυξιακό παράγοντα μετασχηματισμού (Tumor Growth Factor-TGF) , τις χημειοκίνες (χημειοελκτικές κυτταροκίνες) και αιμοποιητικούς αυξητικούς παράγοντες (HGF). Σε κανονικές συνθήκες, οι κυτταροκίνες απελευθερώνονται σε μικρο-ποσότητες picomole και μόνο σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις καθίστανται ανιχνεύσιμες σε σημαντικές ποσότητες στο περιφερικό αίμα.

Παράγοντες που επηρεάζουν την ακρίβεια και την εξειδίκευση δράσεων τους είναι τα μονοκλωνικά αντισώματα και η αναγνώριση επιτόπου ειδικά για κυτταροκίνες, αλλά και οι πολλαπλές μοριακές μορφές, και τα διαλυτά συστατικά του υποδοχέα κυτταροκινών. Η μεταβλητότητα της παραγωγής κυτταροκίνης βασίζεται σε αποκρίσεις σε πρότυπα ανοσοδιέγερσης με λιποπολυσακχαρίτη (Lipopolysaccharide-LPS), (Lee et al., 2014).

Οι συγκεντρώσεις της IL-1β δείχνουν ισχυρή συσχέτιση με την IL-6 ($p < 0,0001$), μια ιδιαίτερα σημαντική παρατήρηση, δεδομένου ότι η θεραπεία ασθενών με ανταγωνιστές της IL-1β αποκαλύπτει μια αντίστοιχη πτώση της IL-6 (Dinarello et al., 2012). Οι συγκεντρώσεις IL-1Ra και IL-6 συσχετίζονται επίσης σημαντικά, καθώς αυτοί είναι και οι δύο δείκτες φλεγμονής. Οι συγκεντρώσεις κυκλοφορίας της IL-1β επίσης συσχετίζονται με IL-1Ra ($p < 0,05$), και αυτό συμφωνεί με *in vitro* και ανθρώπινα δεδομένα από δοκιμασίες που αποδεικνύουν ότι η IL-1β επάγει τον ανταγωνιστή υποδοχέα της IL-1Ra. Ο ανταγωνιστής υποδοχέας της IL-1 (IL-1 Receptor antagonist), αποτελεί μόριο που μετριάζει και αναστέλλει τη δράση της IL-1 (και την α και την β), συνεπώς η μέτρησή του μετά την εφαρμογή θεραπείας είναι σημαντική καθώς αν αυξηθεί θα δικαιολογήσει την πιθανή βελτίωση του πόνου. Μεταφραστικά η πρωτεΐνη STAT είναι master gene της κυτταροκινικής έκφρασης.

Παράγοντες όπως η ηλικία και το φύλο επηρεάζουν τις τιμές των κυτταροκινών. Οι συγκεντρώσεις της IL-6 και της IL-1Ra αυξάνονται στην κυκλοφορία των ηλικιωμένων ατόμων χαρακτηριζόμενες ως φλεγμονο-γήρανση-Inflammaging (Kovacic, 2011). Ως προς το φύλο σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις κυκλοφορίας IL-1Ra έχουν εντοπιστεί στις γυναίκες.

Σε επίπεδο μυοσκελετικών διαταραχών στην ΣΣ, έχει βρεθεί μέσω ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) μετά από καλλιέργεια υλικού από τα αρθρικό χόνδρο και τον αρθρικό υμένα των facet κατά τη διάρκεια χειρουργείου, αύξηση κυτταροκινών (TNF, IL-1b, IL-6) σε εκφυλισμένους δίσκους, κυρίως σε σπονδυλαρθρίτιδα παρά σε κήλη μεσοσπονδύλιου δίσκου (Igarashi et al., 2004). Επαναλαμβανόμενο μηχανικό φορτίο που υπερβαίνει τις αντοχές των ιστών επιδρά στο μεταβολισμό των κυττάρων του χόνδρου και την παραγωγή κυτταροκινών και πρωτεασών (Igarashi, 2004). Συγκεκριμένα η αυξημένη IL-1b στα facet συνδέθηκε με αυξημένο πόνο λόγω της συγκέντρωσής της στο μεσοσπονδύλιο τμήμα μέσω του κοιλιακού τμήματος του αρθρικού θυλάκου (Igarashi, 2007).

Η δυσκολία στη μελέτη των μεταβολών των κυτταροκινών προσδιορίζεται στους πολλούς παράγοντες που καθορίζουν τη συγκέντρωση και μέτρησή της όπως η ποσότητα κυτταροκίνης, η φύση του κυττάρου στόχου, η φύση του σήματος ενεργοποίησης, η φύση των παραχθέντων κυτταροκινών, ο χρονισμός, η αλληλουχία δράσης και το πειραματικό μοντέλο. Η παρατεταμένη φλεγμονή στην οστεοαρθρίτιδα της ΣΣ συσχετίζεται με μηχανισμούς πρόκλησης κεντρικής ευαισθητοποίησης, νευρωνικής πλαστικότητας και ανάπτυξης χρόνιου νωτιαίου πόνου. Ο Jae-Sung Kim (2015), μέσω qPCR- quantitative real-time polymerase chain reaction/ Western Blotting, παρατήρησε ότι ο εκφυλισμός των facet διακρίνεται για τα αυξημένα φλεγμονώδη αγγειογενετικά (VEGF) και νευρογενικά (NGF/TrkA)] χαρακτηριστικά του διεγείροντας τις προσαγωγικές οδούς του πόνου. Επιπλέον, μία δεδομένη κυτταροκίνη μπορεί να συμπεριφέρεται και ως αντι-φλεγμονώδης παράγοντας όπως οι αναστολείς των ενζύμων αποικοδόμησης χόνδρων, συμπεριλαμβανομένων των IL-10, IL-13, TIMP-2,3 (Tissue inhibitor metalloproteinase-2,3) που ρυθμίζονται παράλληλα και που η δράση τους διαταράσσεται μη ελέγχοντας του αποικοδομητικούς παράγοντες του χόνδρου. Η στρομελυσίνη-1 είναι η κύρια μεταλλοπρωτεάση που συντίθεται στον ανθρώπινο αρθρικό χόνδρο, ενώ τόσο ο TIMP-1 όσο και ο TIMP-2 είναι παρόντες σε αυτόν τον ιστό. Η ρύθμιση της μεταλλοπρωτεάσης και της σύνθεσης TIMP από την IL-1 υποδηλώνει ότι αυτή η κυτταροκίνη, κατά τη διάρκεια φλεγμονωδών καταστάσεων, μπορεί να προάγει την αποδόμηση του χόνδρου δημιουργώντας μια ανισορροπία μεταξύ του επιπέδου αυτών των ενζύμων και των αναστολέων τους. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν παρατηρηθεί και σε άλλους

ανθρώπινους δομικούς ιστούς, υποδηλώνοντας ότι αυτό μπορεί να είναι μια ανεπιτυχή απόπειρα της επανορθωτικής αντίδρασης για να ξεπεραστεί η εκφυλιστική διαδικασία (Yoshihara et al., 2000).

Έχει βρεθεί ότι σε ασθενείς με στένωση μεσοσπονδυλίου τμήματος παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση των IL-1β και MMP-1 κάτι που δεν σημειώθηκε στους ασθενείς με κήλη μεσοσπονδυλίου δίσκου. Ωστόσο, δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στην τιμή του TIMP-1 μεταξύ της ομάδων κήλης και στένωσης. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της PCR έδειξαν ότι το mRNA της MMP-1 στα χονδροκύτταρα in vitro επηρεάστηκε με τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση και το χρόνο σε απόκριση της διέγερσης της IL-1β. Συνεπώς υπερэкφραση της MMP-1, που επάγεται από την IL-1β, παίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία της εκφύλισης των σπονδυλικών αρθρώσεων (Xu et al., 2013).

Ο TNF είναι μία σηματοδοτική πρωτεΐνη (κυτταροκίνη) εμπλεκόμενη και στη συστηματική φλεγμονή, καθώς και στην οξεία φάση αυτής. Παράγεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα και CD4+, ουδετερόφιλα, φυσικούς φονείς-natural Killers (NK), λεμφοκύτταρα, μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα και νευρώνες. Προσδέεται σε δύο υποδοχείς TNFR1/ TNFR2, με τον πρώτο να εκφράζεται σε πολλούς κυτταρικούς τύπους και να συνδέεται τόσο με το μεμβρανοσύνδετο τμήμα του TNF όσο και με το διαλυτό τριμερές τμήμα, ενώ ο δεύτερος εκφράζεται μόνο σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συνδεόμενος μόνο με το μεμβρανοσύνδετο τμήμα του TNF.

Πολλαπλά εξωγενή και ενδογενή σήματα διεγείρουν την παραγωγή του TNF, παράλληλα με την ενεργοποίηση προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-1, IL-6, IL-8, Colony Stimulating Factors-CSFs, Ιντερφερόνες (interferons-IFN) και Tumor Growth Factor-beta. Ο TNF μεμονωμένα επιδρά στην κυτταροκινική διέγερση, συνεπώς η παρατηρούμενη αφθονία και ανάγκη αποκρίσεων στα διαφορετικά χημικά σήματα που συνδέονται με τις κυτταροκίνες έχει ως αποτέλεσμα την αλληλεπίδραση και αλληλοεπικάλυψη των δράσεων τους προφανώς για λόγους κυτταρικής οικονομίας στην άμυνα του οργανισμού σε πιθανούς εισβολείς, στα πλαίσια της ανοσιακής απάντησης. Η αλληλεπίδραση μπορεί να είναι συνεργιστική (π.χ. TNF/ IL-1) ή αντιτιθέμενη (π.χ. TNF/ TGF-b). Αυτό καθορίζεται από τη *ρύθμιση* μίας κυτταροκίνης από μια άλλη (π.χ. IFN-γ διεγείρει την έκφραση του TNF, ενώ ο TNF μειώνει την έκφραση του υποδοχέα IL-1 (IL-1r), *σταθεροποίηση* του σήματος (π.χ. επαγωγή της IL-6 από TNF ή IL-1), την αλληλεπίδραση στη *μεταγωγή* του σήματος, τη γονιδιακή έκφραση και τη μετα-μεταφραστική έκφραση. Η ποικιλία υποδοχέων διαμεμβρανικών και ενδοκυττάρων καθοριζόμενη από τον κυτταρικό τύπο, το κυτταρικό στάδιο ανάπτυξης και το περικυτταρικό περιβάλλον, οδηγεί στη διασταυρούμενη επικοινωνία των κυτταροκινικών λειτουργιών (McInnes, 2017).

Τρία βασικά ενδοκυτταρικά μονοπάτια ενεργοποιούνται μετά την ένωση του TNF με τον υποδοχέα του: Nf-Kb (φλεγμονή, επιβίωση), Death signalling (αδύναμη αποπτωτική δράση συγκριτικά με τον FAS), MAPK (διαφοροποίηση/ πολλαπλασιασμός). Ο TNF-α με τιμές εύρους αναφοράς 0-5 pg / ml, απελευθερώνεται μετά από βλάβη σε περιφερικό νεύρο, επάγει τον σχηματισμό θρόμβου, το ενδονευρικό οίδημα μειώνοντας την ταχύτητα των νευρικών ώσεων. Συσχετίζεται με την εκδήλωση ριζίτιδας στα πλαίσια δισκοπάθειας (Ormos et al., 2009).

Σε case study δύο ασθενών με ιστορικό whiplash και αυχενογενή κεφαλαλγία μετρήθηκε η επίδραση του MT διάρκειας 4 εβδομάδων (2 συνεδρίες/εβδομάδα) στη συγκέντρωση του TNFα στο αίμα (Ormos et al., 2009). Πριν την παρέμβαση η συγκέντρωση

ήταν 63 pg/mL και 72 pg/mL και μειώθηκε στατιστικά σημαντικά μετά την παρέμβαση σε 28 pg/mL και 35 pg/mL. Η μείωση αυτή συνδέθηκε με την εξάλειψη των συμπτωμάτων (Ormos et al., 2009). Ο TNF-α έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί βασικό πρόσδεμα στην ενεργοποίηση πολλών ενδοκυτταρικών διεργασιών, τόσο φυσιολογικών όσο και παθολογικών. Στο νευρικό σύστημα το εύρος αναφοράς του είναι 0-5 pg / mL και απελευθερώνεται μετά από τραυματισμό περιφερικού νεύρου. Ο TNF επάγει τον σχηματισμό θρόμβου το ενδογενές οίδημα και τη μείωση της ταχύτητας αγωγιμότητας του νεύρου (Mulleman et al., 2006; Ohtori et al., 2004). Σε μηχανική βλάβη σε ρίζα νεύρου, λόγω της συμπιεστικής δύναμης που ασκείται από έναν τραυματισμένο προεξέχοντα αυχενικό μεσοσπονδύλιο δίσκο, οι προφλεγμονώδεις ουσίες εκκρινόμενες από τον ηκτηοειδή πυρήνα μπορεί να προκαλέσουν πόνο στη ρίζα του νεύρου. Συνεπώς τα επίπεδα πλάσματος των κυτταροκινών αυξάνονται μετά τη συμπίεση των νεύρων. Σε πειράματα όπου ο TNF-α έχει ενεθεί σε νευρικές ρίζες, έχει προκληθεί θερμική υπεραλγησία και μηχανική αλλοδυνία, οίδημα της ρίζας των νεύρων, βλάβη στα κύτταρα Schwann και ενεργοποίηση μακροφάγων (Mulleman et al., 2006). Σε συμφωνία με αυτό, η επιλεκτική αναστολή του TNF-α εμποδίζει τον σχηματισμό θρόμβων που προκαλείται από τον ηκτηοειδή πυρήνα, το ενδογενές οίδημα και τη μείωση της ταχύτητας αγωγιμότητας του νεύρου (Olmaker, 2001).

Η IL-1 διακρίνεται σε δύο μορφές IL-1a και IL-1b που είναι και οι αγωνιστές του υποδοχέα IL-1R, ενώ τους ανταγωνίζεται ο φυσιολογικός αναστολέας IL-1R antagonist (IL-1Ra). Είναι χαρακτηριστική η διαφορά στις δράσεις των IL-1a και IL-1b, όπου η πρώτη ενεργοποιεί την κινητοποίηση των ουδετερόφιλων στην αρχική φάση, ενώ η δεύτερη την κινητοποίηση των μακροφάγων στην όψιμη φάση (Rider et al., 2011).

Για τον σκοπό της μελέτης επιλέχθηκε να μελετηθεί η IL-1b, λόγω της συσχέτισης που παρουσιάζει με τις μεταβολές στην κλινική εκδήλωση του πόνου σε χρόνιες μυοσκελετικές δυσλειτουργίες (Licciardone et al., 2016), αλλά και λόγω της δυνατότητας ανίχνευσης των μεταβολών στο περιφερικό αίμα (Attur et al., 2011; Attur et al., 2015). Αξιοσημείωτο να αναφερθεί ότι η ενσωμάτωση των βιοχημικών μεταβολών σε επίπεδο κυτταροκινών σε ασθενείς με μυοσκελετικές δυσλειτουργίες στη βάση ρευματοπαθειών, ξεφεύγει από τους στόχους της παρούσας μελέτης, καθώς η συστηματική φλεγμονώδης διαδικασία και η αύξηση των κυτταροκινικών τιμών θεωρείται δεδομένη.

ΣΚΟΠΟΣ

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η μελέτη βραχυπρόθεσμων επιδράσεων στα επίπεδα πόνου και λειτουργικότητας μετά την εφαρμογή τεχνικών Manual Therapy σε ασθενείς με χρόνια μηχανικό πόνο στην αυχενική μοίρα της ΣΣ. Δευτερεύον σκοπός ήταν η διερεύνηση του υποκείμενου μηχανισμού δράσης στις τιμές συγκέντρωσης βιοδεικτών φλεγμονής και συγκεκριμένα στην προφλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-1b.

ΥΠΟΘΕΣΗ

Ερευνητικές υποθέσεις: εκφράζονται στατιστικά ως μηδενικές και εναλλακτικές υποθέσεις στη βάση ερευνητικών ερωτημάτων αναφορικά με την πιθανότητα ή μη της ύπαρξης σημαντικής στατιστικής διαφοράς ως προς τις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, αλλά και μεταξύ των ομάδων. Η ανάλυση των δεδομένων και τα αποτελέσματα θα αποκαλύψουν το εάν θα επιβεβαιωθεί η εναλλακτική υπόθεση της ύπαρξης διαφοράς, μέσω απόρριψης της μηδενικής υπόθεσης της μη διαφοράς, σε επίπεδο ομάδων και σε επίπεδο μετρήσεων.

Στατιστικές υποθέσεις: Μηδενική-Εναλλακτική

A) Μηδενική Υπόθεση (H_0): $M_{\mu.} = M_{\epsilon.}$, δε θα υπάρξει διαφορά μεταξύ των ομάδων μελέτης και ελέγχου ως προς τις τιμές των εξαρτημένων μεταβλητών.

B) Μηδενική Υπόθεση (H_0): $M_{\mu.} = M_{\epsilon.}$, δε θα υπάρξει διαφορά μεταξύ των μετρήσεων πριν/μετά ως προς τις τιμές των εξαρτημένων μεταβλητών.

A) Εναλλακτική Υπόθεση (H_1): $M_{\mu.} \neq M_{\epsilon.}$, θα υπάρξει διαφορά μεταξύ των ομάδων μελέτης και ελέγχου ως προς τις τιμές των εξαρτημένων μεταβλητών.

B) Εναλλακτική Υπόθεση (H_1): $M_{\mu.} \neq M_{\epsilon.}$, θα υπάρξει διαφορά μεταξύ των μετρήσεων πριν/μετά/follow-up ως προς τις τιμές των εξαρτημένων μεταβλητών.

Όπου $M_{\mu.}$ ο αριθμητικός μέσος όρος της ομάδας μελέτης και $M_{\epsilon.}$ ο αριθμητικός μέσος όρος της ομάδα ελέγχου.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Δείγμα

Ο σχεδιασμός της μελέτης ήταν της μορφής Substudy nested parallel group double blinded randomized controlled clinical trial. Η διπλά τυφλή δειγματοληψία έγκειται στο γεγονός ότι ο ερευνητής που συνέλλεξε τα δεδομένα δεν ήταν ενήμερος για τη συμμετοχή των ασθενών στις ομάδες ούτε επίσης και οι ασθενείς για το κριτήριο διάκρισης των ομάδων, έχοντας ως δεδομένο ότι ο θεραπευτής που θα εφάρμοζε τις τεχνικές ήταν αδύνατο να μείνει απροκατάληπτος εφόσον εφαρμόζει ο ίδιος τις τεχνικές. Το δείγμα συγκρότησαν 22 ασθενείς με χρόνια μηχανικό πόνο στην αυχενική μοίρα της ΣΣ κατανεμημένοι σε δύο ομάδες των 11 ατόμων. Η συλλογή του δείγματος έγινε ύστερα από αγγελία σε τοπική εφημερίδα, αλλά και μέσω των ασθενών που προσήλθαν στο εργαστήριο με παραπεμπτικό για φυσικοθεραπεία από ορθοπεδικό ή νευρολόγο. Συνεργαζόμενο μικροβιολογικό εργαστήριο διεξήγαγε την προγραμματισμένη αιμοληψία. Το διάστημα συλλογής των δεδομένων είχε διάρκεια από τον Απρίλιο έως τον Αύγουστο του 2018. Η συμμετοχή της ομάδας ελέγχου κρίθηκε απαραίτητη διότι έτσι ήταν εφικτός ο έλεγχος του κατά πόσο η επίδραση των τεχνικών στις μετρήσεις οφείλεται στην παρέμβαση και όχι απλά στη φυσική πορεία της παθολογίας.

Μετά την αρχική τηλεφωνική επαφή με του ασθενείς ακολούθησε η προσωπική συνάντηση στο εργαστήριο φυσικοθεραπείας όπου έγινε ενημέρωση για τους σκοπούς της μελέτης και τον τρόπο διεξαγωγής της. Η επιλογή του ηλικιακού εύρους 20-50 ετών συσχετίστηκε με τη μεγαλύτερη συχνότητα του μηχανικού πόνου αλλά και με το γεγονός ότι θέλαμε να περιορίσουμε την επίδραση της ηλικίας στη διακύμανση των κυτταροκινών, την έλλειψη πονοκέφαλου και ζάλης-ιλίγγου (Gonzalez et al., 2009). Άλλωστε, έχει φανεί ότι η χαμηλού βαθμού φλεγμονή όπως είναι ο χρόνιος αυχενικός πόνος, συνδέεται με την αυξημένη ηλικία μέσω της ανίχνευσης αυξημένης συγκέντρωσης προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως οι IL-6, IL-1Ra (Baylis et al., 2013). Παράλληλα λήφθηκε υπόψη η πιθανή επίδραση παραγόντων που θα μπορούσε να επηρεάσουν το αποτέλεσμα των μετρήσεων όπως φυσική δραστηριότητα, διαιτητικές συνήθειες, λήψη φαρμάκων, τρόπος μέτρησης κυτταροκινών, εποχή χρονισμού αιμοληψίας (confounding factors).

Η μελέτη έλαβε χώρα σε ιδιωτική φυσιοθεραπευτική κλινική σε συνεργασία με το εργαστήριο πειραματικής φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, το οποίο και είχε την επιμέλεια της όλης

ερευνητικής προσπάθειας, καθώς επίσης και της ανάλυσης του συνόλου των δειγμάτων αίματος των συμμετεχόντων.

Τα κριτήρια εισαγωγής ήταν τα εξής: ηλικιακό εύρος 20-50 ετών. Πόνος μηχανικής αιτιολογίας στην αυχενική μοίρα της σπονδυλικής στήλης έως τον πρώτο θωρακικό σπόνδυλο, διάρκειας τουλάχιστον 3 μηνών. Επιπλέον, μέσω της χρήσης των ερμηματολογίων αξιολόγησης του πόνου Numerical Pain Rating Scale (NPRS) και του βαθμού ανικανότητας της περιοχής Neck Disability Index (NDI) καθορίστηκε το επίπεδο των 2 βαθμών στην πρώτη κλίμακα και του ποσοστού 20% στη δεύτερη κλίμακα ως κριτήρια εισόδου των συμμετεχόντων στο δείγμα.

Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν: αυχενικός πόνος με ριζιτικά φαινόμενα ή συμπτώματα πόνου ή αιμωδιών στα άνω άκρα, ιστορικό τραυματισμού στην αυχενική μοίρα (whiplash), μυελοπάθεια, νεοπλασία, ρευματοειδής αρθρίτιδα, μεταβολική νόσος, ιστορικό χειρουργείου στην, προηγούμενη θεραπεία με χειροθεραπεία τους τελευταίους δύο μήνες, σημεία και συμπτώματα ζαλάδας, λιγγών και πονοκεφάλων, λήψη φαρμακευτικής αγωγή με κορτικοστεροειδή ή/και Μη Στεροειδών Αντιφλεγμονωδών Φαρμάκων (ΜΣΑΦ), (Cleland et al., 2005). Επίσης θα έπρεπε να μην είναι καπνιστές και ούτε συστηματικά ασκούμενοι λόγω πιθανής επίδρασης στα επίπεδα των κυτταροκινών. (Suzuki, 2018). Η ένταξη των ασθενών ολοκληρώθηκε με τον θεραπευτή να μπορεί μέσω χειροθεραπευτικών τεχνικών Joint-play, end-feel και τεστ πρόκλησης-ανακούφισης (Kaltenborn, 2004; Schomacher et al, 2010) να μπορεί να αναπαράγει τον πόνο στο εξεταζόμενο αυχενικό σπονδυλικό τμήμα.

Ταξινόμηση ομάδων

Η τυχαιοποίηση των ασθενών έγινε από τον ένα εκ των δύο ερευνητών υπεύθυνων της μελέτης, ο οποίος και συγκέντρωσε τα δεδομένα μέσω των ερωτηματολογίων αξιολόγησης NPRS και NDI. Της διαδικασίας αυτής προηγήθηκε η συλλογή των δημογραφικών προσωπικών στοιχείων μέσω ερωτηματολογίου. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, την ομάδα μελέτης και την ομάδα ελέγχου. Οι ασθενείς δεν ενημερώθηκαν για τον σκοπό της μελέτης προκειμένου να μην επηρεαστούν ως προς τις προσδοκίες τους. Η κατανομή τους έγινε τυχαία μέσω της χρήσης τυχαίων αριθμών οι οποίοι προκύπτουν από την ανάλογη εφαρμογή σε πρόγραμμα ηλεκτρονικού υπολογιστή (Cho et al., 2017). Είναι επιθυμητή η ίση κατανομή των ομάδων ώστε να ενισχυθεί η στατιστική ισχύς της ανάλυσης των δεδομένων που θα εφαρμοστεί. Εφόσον η μελέτη είχε προπαρασκευαστικό ερευνητικό χαρακτήρα, ο στόχος των 11 τόμων σε κάθε ομάδα έδωσε τη δυνατότητα μίας πρώτης ανάλυσης των επιπτώσεων της παρέμβασης στις κλίμακες μέτρησης. Στη συνέχεια όλοι οι συμμετέχοντες συμπλήρωσαν το έντυπο συναίνεσης στη μελέτη (consent-form). Στους ασθενείς έγιναν συστάσεις διατήρησης της φυσιολογικής καθημερινής τους δραστηριότητας κατά τη διάρκεια της μελέτης αποφεύγοντας κινήσεις που θα επηρέαζαν τα συμπτώματά τους. Επιπλέον δε δόθηκαν οδηγίες για εκτέλεση θεραπευτικών ασκήσεων στο σπίτι.

Μία ολοκληρωμένη φυσική εξέταση, σε επίπεδο φυσιοθεραπευτικής αξιολόγησης, ακολούθησε μετά τον σχηματισμό των ομάδων που περιλάμβανε έλεγχο μυϊκής δύναμης και εύρους κίνησης της αυχενικής μοίρας, εφαρμογή τεχνικών αξιολόγησης της ενδοαρθρικής επικουρικής κίνησης των σπονδυλικών επιπέδων μέσω παθητικών τεστ καθώς και νευροδυναμικός έλεγχος στην αυχενική και στην άνω θωρακική μοίρα (Kaltenborn, 2004). Αν και τα τεστ αυτά υστερούν σε ειδικότητα εφαρμογής σπονδυλικού επιπέδου είναι αξιόπιστα στον προσδιορισμό του επιπέδου παραγωγής των συμπτωμάτων (Griswold, 2015).

Δεν υπήρξε οποιασδήποτε μορφής οικονομική ενίσχυση για την υλοποίηση της μελέτης, πέραν της υλικοτεχνικής υποστήριξης του Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας του Ιατρικού τμήματος του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

Η επιλογή του είδους, διάρκειας και συχνότητας της παρέμβασης στηρίχθηκε σε προηγμένα βιβλιογραφικά δεδομένα αλλά και στην καθημερινή κλινική εμπειρία. Στην ομάδα μελέτης εφαρμόστηκε πρόγραμμα χειροθεραπείας διάρκειας τριών εβδομάδων με εννέα συνεδρίες και συχνότητα διεξαγωγής τρεις /εβδομάδα.

Εφαρμόστηκε κινητοποίηση παθητικής έλξης (mobilization traction-Low Volume Low Amplitude-LVLA) από καθιστή και ύπτια θέση στο επίπεδο του μεσοσπονδύλιου δίσκου (disc-joint), αλλά και χειρισμοί (manipulation or High Volume Low Amplitude-HVLA) σε ύπτια θέση. Οι τεχνικές εφαρμόστηκαν στο σπονδυλικό επίπεδο, όπως αυτό αξιολογήθηκε ως επώδυνο ή/και υποκινητικό (Boyling, 2004). Ο αμφοτερόπλευρος χειρισμός HVLA (High Velocity Low Amplitude) δόθηκε στις πλευρεγκάρσιες αρθρώσεις στη μέση και ανώτερη θωρακική μοίρα Θ1-Θ8, από την ύπτια θέση με λαβή «πιστολιού» (pistol grip) στα επίσης αξιολογηθέντα θεραπευτικά σπονδυλικά επίπεδα ως επώδυνα ή/και υποκινητικά (Cleland et al., 2005; Fernandez et al., 2007). Έχει φανεί ερευνητικά ότι οι χειρισμοί στον θώρακα έχουν θέση ως συνέχεια των τεχνικών LVLA για περαιτέρω βελτίωση (Kessler, 2005). Η παραγωγή ήχου (audible click) ως αποτέλεσμα της τεχνικής δεν αποτέλεσε κριτήριο επιτυχούς εφαρμογής ή όχι (Flynn, 2006). Ερευνητικά, έξι μελέτες (RCT) έχουν ασχοληθεί με την επίδραση των θεραπευτικών χειρισμών στη θωρακική μοίρα της ΣΣ σε ασθενείς με αυχενικό πόνο κατά την τριετία 2006-2009, σημειώνοντας βελτίωση των ασθενών. Η επιλογή της θωρακικής μοίρας ως περιοχή παρέμβασης προκύπτει από την περιοχική αλληλεξάρτηση (regional interdependence) με τη συνήθη υποκινητική κάτω αυχενική μοίρα, όπου έχει βρεθεί μεγαλύτερη βελτίωση μέσω χειρισμών στη θωρακική συγκριτικά με κινητοποίηση στην ίδια ανατομική περιοχή (Cleland et al., 2007; Puentendura et al., 2011). Άλλωστε στις κατευθυντήριες οδηγίες η θωρακική κινητοποίηση στην εν λόγω ομάδα ασθενών έχει συμπεριληφθεί ως θεραπεία ερευνητικά υποστηριζόμενη (Blanpied et al., 2017). Επιπλέον δεν έχει φανεί ότι υπερτερεί ο χειρισμός στην αυχενική έναντι του χειρισμού στη θωρακική στους ασθενείς αυτούς (Griswold et al., 2015; Masaracchio et al., 2013; Dunning et al., 2016; Leaver et al., 2010).

Επιλέχθηκε η εξειδικευμένη κινητοποίηση (εφαρμογή σε συγκεκριμένα σπονδυλικά επίπεδα σύμφωνα με τα συμπτώματα και την κλινική εξέταση) και όχι η γενικευμένη, παρόλο την ερευνητική ασάφεια ως προς τη διάκριση της θεραπευτικής επίδρασής τους στον χρόνιο αυχενικό πόνο (Kanlayanaphotporn, 2008; Slaven et al., 2013). Έχει φανεί ότι το 70% των ασθενών με αμφοτερόπλευρα συμπτώματα ανταποκρίνεται θετικά και στην γενικευμένη κινητοποίηση (Manchukonda, 2007; Aquino, 2009).

Η επιλογή της θωρακικής μοίρας οφείλεται πέραν της αλληλεξάρτησης εμβιομηχανικά με την αυχενική μοίρα και στην αποφυγή της εφαρμογής χειρισμών (HVLA) στον αυχένα, λόγω των πολύ μικρών αλλά υπαρκτών επιπλοκών (διαταραχή σπονδυλοβασικής αρτηρίας), (Fernandez et al., 2007; Puentendura et al., 2012; Bronfort et al., 2010).

Ως τελική μεταβλητή ανάλυσης στο θεραπευτικό πρωτόκολλο, οι τεχνικές ήταν ένας συνδυασμός προγραμματισμένων αλλά και εξατομικευμένων ανά ασθενή εφαρμογών χειροθεραπείας, καθώς ήταν προ-επιλεγμένη η έλξη στην αυχενική και ο χειρισμός στη θωρακική μοίρα, αλλά το επίπεδο εφαρμογής ήταν σύμφωνα με την εξατομικευμένη φυσιοθεραπευτική αξιολόγηση. Ερευνητικά και οι δύο προσεγγίσεις βρίσκουν ερείσματα με κύριες διαφορές στο ότι η εξατομικευμένη εφαρμογή έχει αυξημένη εσωτερική εγκυρότητα και «αντοχή» στις παρεμβατικές μεταβλητές, δίνοντας την ελευθερία επιλογής στον θεραπευτή, ενώ υστερεί σε γενικευσιμότητα και εξωτερική εγκυρότητα (Fernandez et al., 2007; Cleland et al., 2007; Cleland et al., 2005; Gonzalez-Iglesias et al., 2009; Masaracchio et al., 2013; Leaver et al., 2010; Griswold et al., 2015; Hurwitz et al., 2002; Krauss et al., 2008).

Στην ομάδα ελέγχου ακολουθήθηκε ένα εικονικό πρωτόκολλο παρέμβασης (SHAM Manual Therapy) ίδιας δοσολογίας διάρκειας και συχνότητας, το οποίο είχε διαφοροποίηση στο ότι η κατεύθυνση και ο βαθμός δύναμης στην εφαρμογή των τεχνικών ήταν ανύπαρκτος, έχοντας ο θεραπευτής σε απλή επαφή τα χέρια του με τον αυχένα του ασθενή, από την ίδια αρχική θέση, χωρίς να εκτελείται τεχνική κινητοποίησης. Τεχνικές SHAM Manual Therapy, μπορούν να συμπεριληφθούν σε ερευνητικό πρόγραμμα ως placebo εφαρμογές, λαμβάνοντας υπόψη τις αρχές βιοηθικής, αλλά παράλληλα έχοντας υπόψη ότι και η απλή επαφή με τον ασθενή πιθανώς να επηρεάζει τις μετρήσιμες μεταβλητές (Vernon et al., 2005).

Το κριτήριο της υποχρεωτικής μη συμμετοχής των συμμετεχόντων σε προγράμματα αποκατάστασης μέσω τεχνικών manual therapy πριν την παρούσα μελέτη, ενίσχυσε τη δυσκολία αναγνώρισης από τη μεριά τους, των θεραπευτικών (MT) και εικονικών εφαρμογών (SHAM MT), (Vernon et al., 2005; Cleland et al., 2005).

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν περιλάμβαναν την κυτταροκίνη IL-1β σε τρεις χρονικές φάσεις: πριν την παρέμβαση (baseline), μετά την πρώτη συνεδρία και στο τέλος του προγράμματος. Η επιλογή μέτρησης της συγκεκριμένης ιντερλευκίνης στο περιφερικό αίμα στηρίχθηκε στα ερευνητικά δεδομένα αναφορικά με την ευαισθησία των μεταβολών στη συγκέντρωσή της σε συσχέτιση με το φαινόμενο του χρόνιου μυοσκελετικού πόνου. Επιλέχθηκε η επιπλέον τρίτη μέτρηση για τη συγκεκριμένη μεταβλητή λόγω του ελέγχου πιθανής άμεσης επίδρασης μετά την πρώτη συνεδρία (acute effect). Επίσης, τις κλίμακες πόνου και ανικανότητας-λειτουργικότητας σε δύο φάσεις, πριν και μετά την παρέμβαση.

Ο πόνος μετρήθηκε με την κλίμακα Numeric Pain Rating Scale (NPRS) και η ανικανότητα με την κλίμακα Neck Disability Index (NDI), καθώς αυτές είναι οι περισσότερο χρησιμοποιούμενες στην έρευνα της εν λόγω ομάδας ασθενών (Young et al., 2018; Cleland et al., 2008). Και τα δύο εργαλεία μετρήσεων είναι αξιόπιστα και έγκυρα στη μέτρηση των συμπτωμάτων ασθενών με χρόνια αυχενικό πόνο (NPRS ICC=0.76), NDI ICC= 0.86–0.98), (Cleland et al., 2008; Farooq et al., 2017). Το NPRS είναι μια κλίμακα 11 σημείων που κυμαίνεται από 0 (όχι πόνος) έως 10 (μέγιστος πόνος). Το NPRS έχει ελάχιστη ανιχνεύσιμη μεταβολή-minimal detectable change (MDC) 2,1 και ελάχιστη κλινική σημαντική διαφορά-minimal clinically important difference (MCID) 1,3 σε ασθενείς με μηχανικό πόνο στον

αυχένα (Cleland et al., 2008). MCID είναι η μικρότερη αλλαγή στην κλινική εικόνα που θεωρείται σημαντική και ωφέλιμη, επαρκής για να οδηγήσει σε αλλαγή στη διαχείριση του ασθενούς (Young et al., 2018).

Το ερωτηματολόγιο NDI είναι μια καταγραφή της αντίληψης της αναπηρίας που έχει ένας ασθενής για την κατάστασή του, περιλαμβάνοντας 10 ερωτήσεις αξιολόγησης με κλίμακα Likert από 0-5 με συνολικό σκορ τους 50 βαθμούς. Όσο υψηλότερο το σκορ τόσο μεγαλύτερο είναι το αντιληπτό επίπεδο αναπηρίας. Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη αλλαγή (MDC) είναι 20% ή 6.9 και η ελάχιστη κλινικά σημαντική διαφορά (MCID) είναι 14% ή 5.5 (Cleland et al., 2008; Cleland et al., 2006; Young et al., 2018). Αποτελεί ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο εργαλείο μέτρησης ασθενών με χρόνιο μηχανικό πόνο χωρίς συμπτώματα ριζίτιδας στα άνω άκρα με καλή εσωτερική συνοχή και αξιοπιστία (Young et al., 2018).

Αιμοληψίες και Πρωτόκολλο ELISA για τον ποσοτικό προσδιορισμό της IL-1β.

Την ημέρα (πριν την παρέμβαση, μετά την πρώτη συνεδρία και μετά την τελευταία συνεδρία) που ο πειραματικός σχεδιασμός το προέβλεπε, δείγμα αίματος λαμβανόταν για τις προβλεπόμενες αναλύσεις ELISA κατά τα χρονικά σημεία που περιγράφονται παραπάνω. Η αιμοληψία γίνονταν στο χρονικό διάστημα μεταξύ 3.30-4.30 μ.μ. Οι ασθενείς παρέμεναν καθιστοί και σε ηρεμία για τουλάχιστον 30 min και 10 ml αίματος λαμβάνονταν από τη μέση (λοξή) φλέβα του αντιβραχίου. Το αίμα τοποθετούνταν σε κατάλληλο για το διαχωρισμό του ορού γυάλινο φιαλίδιο και αφήνονταν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 30 min. Στη συνέχεια φυγοκεντρώνταν σε ψυχόμενη φυγόκεντρο σε θερμοκρασία 4° C στις 4.000 στροφές/min για 10 min και λαμβάνονταν ο διαχωρισμένος ορός. Τα δείγματα χωρίζονταν σε μικρότερες ποσότητες (των 300 μl), διατηρούνταν σε θερμοκρασία -80° C και ξεπάγωναν άπαξ για την ανάλυσή τους. Όλα τα δείγματα αναλύονταν ταυτόχρονα και εις διπλούν και ο μέσος όρος τους λαμβάνονταν ως η τελική τιμή. Η δεύτερη και τρίτη αιμοληψία έγιναν 20 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της δεύτερης και ένατης συνεδρίας αντίστοιχα.

Η ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) είναι μία διαδεδομένη μορφή βιοχημικής ανάλυσης, η οποία χρησιμοποιεί ένα υπόστρωμα ενζυμικής ανοσοανίχνευσης, με σκοπό την ανίχνευση μίας ουσίας, συνήθως ενός αντιγόνου, σε ένα υγρό δείγμα (π.χ. ορό, εκχύλισμα). Η εφαρμογή μίας τέτοιας ανάλυσης προϋποθέτει τη χρήση τουλάχιστον ενός αντισώματος ειδικού για ένα συγκεκριμένο αντιγόνο. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ELISA kit εξειδικευμένο για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της IL-1β στον ορό των ασθενών (Fratta et al., 2018) .

Η συγκέντρωση της IL-1β (pg/ml), προσδιορίστηκε μέσω της τυποποιημένης μεθόδου ELISA με χρήση διπλού αντισώματος (τύπος sandwich), χρησιμοποιώντας διαθέσιμο στο εμπόριο αντιδραστήριο σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών. Η αναλύσεις με τη μέθοδο αυτή έχουν αξιοπιστία και υψηλή ειδικότητα. Σε πλακίδια 96 κελιών (Costar), επιχρισμένα με ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της προς ανάλυση πρωτεΐνης, τοποθετούνταν τα δείγματα καθώς και δείγματα με τις πρότυπες συγκεντρώσεις της (standards). Ακολούθως, η συνδεδεμένη πλέον με το ειδικό της αντίσωμα πρωτεΐνη ανιχνεύονταν με την πρόσδεση ενός υποστρώματος υπεροξειδάσης (horseradish peroxidase conjugate) σε ένα δεύτερο πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της προς ανάλυση πρωτεΐνης που προηγουμένως έχει προστεθεί στα δείγματα και είχε συζευχθεί με αυτή. Η χρωματική απεικόνιση (χρωμοαντίδραση) της υπάρχουσας υπεροξειδάσης επιτυγχάνεται με ένα

υπόστρωμα τετραμεθυλβενζιδίνης (TMB). Η παραγόμενη απόχρωση μετρούνταν σε φασματοφωτόμετρο ανάγνωσης πλακιδίων πολλαπλών κελιών (Versamax, Molecular Devices, CA, USA) στα 450 nm και οι συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης (ορμόνης) υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας ειδικό λογισμικό (Soft Max Pro software, Molecular Devices, CA, USA). Σύμφωνα με τους κατασκευαστές, το ελάχιστο όριο ανίχνευσης του αντιδραστηρίου που χρησιμοποιήθηκε για την IL-1β ήταν 2 pg/ml.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η ανάλυση των δεδομένων έγινε μέσω του στατιστικού πακέτου SPSS, 25 (SPSS Inc., Chicago, IL). Το είδος των μεταβλητών καθόρισε και την επιλογή των ανάλογων στατιστικών τεχνικών. Ως εξαρτημένες μεταβλητές (Dependent Variables) ορίστηκαν η κλίμακα πόνου NPRS, η κλίμακα ανικανότητας του αυχένα NDI και η κυτταροκίνη IL-1β. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές (Independent Variables) διακρίθηκαν στον παράγοντα Between subjects factor (GROUP) που περιλαμβάνει το πρωτόκολλο παρέμβασης δύο επιπέδων Manual Therapy and SHAM Manual Therapy και τον παράγοντα Within subject factor (TIME) που εκπροσωπεί τις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις σε δύο επίπεδα πριν και μετά την παρέμβαση για τις NDI, NPRS και σε τρία επίπεδα για την IL-1β. Η ανάλυση των δεδομένων έγινε μέσω Mixed Analysis Of Variance (Mixed-ANOVA), καταγράφοντας την πιθανή αλληλεπίδραση των παραγόντων στις εξαρτημένες μεταβλητές. Λόγω ότι η μία εκ των δύο ανεξάρτητων μεταβλητών είναι ο within-subjects factor που μετράται δύο φορές (πριν και μετά την παρέμβαση) στο ίδιο δείγμα συμμετεχόντων, επιλέγεται η Mixed-ANOVA και όχι η 2-way ANOVA, συμπεριλαμβάνοντας την στατιστική παραδοχή της ανεξαρτησίας των μετρήσεων των συμμετεχόντων και τη μέτρηση σε διαφορετικά άτομα, ώστε να διατηρείται αυτή η ανεξαρτησία. Επιπλέον, μέσω του μικτού μοντέλου, η ευαισθησία ανίχνευσης διαφορών είναι μεγαλύτερη, ο παράγοντας Between-subjects factor μπορεί να οριστεί και ως συνδιακυμαντής (covariate), αλλά και ο προσδιορισμός της αλληλεπίδρασης μεταξύ των ανεξάρτητων μεταβλητών είναι περισσότερο εφικτός. Λόγω της τρίτης μέτρησης της κυτταροκίνης έγινε επιπλέον τεστ σφαιρικότητας Mauchly's test για τον έλεγχο της ισότητας των διακυμάνσεων μεταξύ όλων των ζευγαρωτών συγκρίσεων των δύο ομάδων.

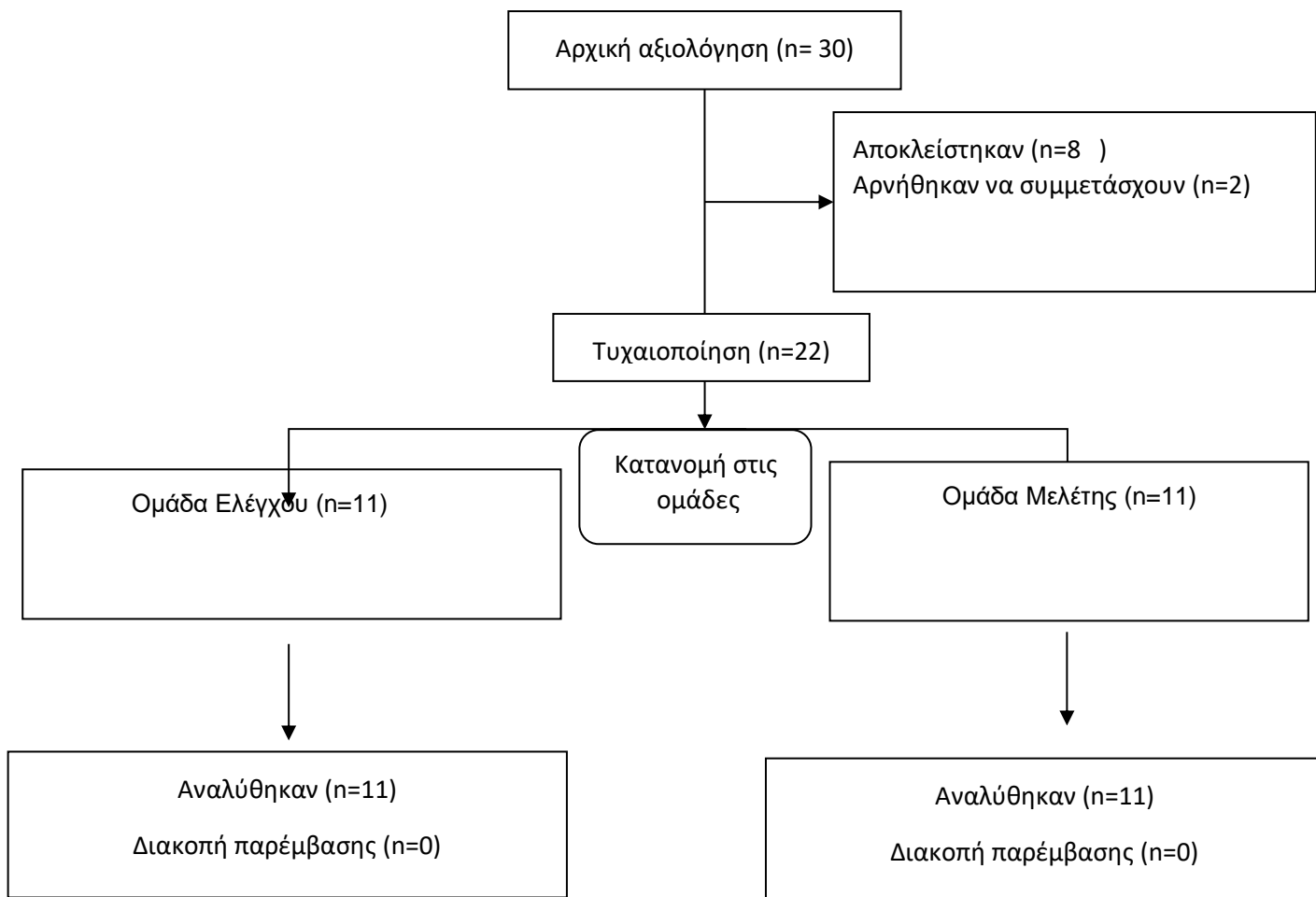
Λόγω του μικρού δείγματος και της αυξημένης πιθανότητας μη κανονικής κατανομής των τιμών στις ομάδες ερευνηθήκαν οι απαραίτητες παραδοχές για την εφαρμογή της Mixed-ANOVA, ώστε να σταθμιστεί η δυνατότητα χρήσης παραμετρικών ή μη τεχνικών ανάλυσης δεδομένων. Οι παραδοχές εντοπίζονται στο είδος των εξαρτημένων μεταβλητών NDI, NPRS, IL-1β, οι οποίες είναι συνεχείς μεταβλητές. Η κανονική κατανομή των εξαρτημένων μεταβλητών για κάθε επίπεδο της ανεξάρτητης μεταβλητής (GROUP/TIME) εξετάστηκε με το τεστ Shapiro-Wilk κατάλληλο για μικρά μεγέθη δείγματος (<50 δείγματα). Η κυρτότητα (Kurtosis) και η συμμετρία (Skewness) της κατανομής ελέγχθηκε σε ένα αποδεκτό εύρος τιμών -2 έως +2 τυπικών αποκλίσεων (SD) από το μέσο όρο (George & Mallery, 2010). Μέσω του Levene's test μελετήθηκε η ομοιογένεια των διακυμάνσεων των σκορ πόνου, ανικανότητας, IL-1β μεταξύ των συμμετεχόντων. Το Box's M test χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της ισότητας των συνδιακυμάνσεων των μεταβλητών μεταξύ των ομάδων. Για το συγκεκριμένο τεστ το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < .01$. Κύριος στατιστικός σκοπός ήταν η ανίχνευση οποιαδήποτε αλληλεπίδρασης (interaction) μεταξύ των παραγόντων (Factors) GROUP X TIME της ανεξάρτητης μεταβλητής, σε κάθε μία από τις εξαρτημένες. Σε περίπτωση σημαντικής ($p < .05$) αλληλεπίδρασης είχε προαποφασιστεί να εξεταστεί η στατιστική πιθανότητα ύπαρξης σημαντικών στατιστικών απλών επιδράσεων (simple main effects) των

παραγόντων στα σκορ NPRS, NDI, IL-1b όπως και η περαιτέρω εξέταση (post-hoc analysis) των σημαντικών διαφορών των ζευγαρωτών συγκρίσεων (paired comparisons) μεταξύ των μετρήσεων (TIME) εντός των συμμετεχόντων με διόρθωση (correction) Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις, μειώνοντας την πιθανότητα σφάλματος τύπου I. Το διάστημα εμπιστοσύνης-Confidence Interval (CI) καθορίστηκε στο 95% και η στατιστική σημαντικότητα στο $p < .05$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τριάντα (30) συμμετέχοντες με μηχανικό χρόνιο αυχενικό πόνο εξετάστηκαν προκειμένου να προσδιοριστεί η δυνατότητα εισαγωγής τους στο δείγμα της εν λόγω μελέτης. Από το σύνολο των ατόμων, 22 ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας τα 42 έτη και με μέση διάρκεια συμπτωμάτων τους 50 μήνες, κάλυψαν τα κριτήρια εισαγωγής συγκροτώντας τις δύο ομάδες μελέτης και ελέγχου, κατανεμημένες με τυχαίο τρόπο. Δημογραφικά στοιχεία όπως φύλο, ηλικία, σωματικό βάρος, ύψος, καθώς και διάρκεια συμπτωμάτων απεικονίζονται στον πίνακα 1. Όλοι οι ασθενείς ολοκλήρωσαν το πρόγραμμα κινησιοθεραπείας διάρκειας τριών (3) εβδομάδων αποτελούμενο από εννέα (9) συνεδρίες χειροθεραπείας όπως επίσης και το σύνολο των μετρήσεων. Το διάγραμμα ροής (Flow chart) των ατόμων στον ερευνητικό σχεδιασμό και την υλοποίηση του προγράμματος σε κάθε χρονικό στάδιο, απεικονίζεται στην εικόνα 1, σύμφωνα με τις κατευθύνσεις του CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials), (Schulz et al., 2010). Δεν σημειώθηκε καμία επιπλοκή ή απώλεια ύστερα από την εφαρμογή της θεραπευτικής παρέμβασης στην υγεία και συμμετοχή των ασθενών.

Σχήμα 1. Διάγραμμα Ροής (Flow Chart).



Τα περιγραφικά στατιστικά στοιχεία όπως οι τιμές κλιμάκων μέτρησης (NDI/NPRS), το μέγεθος δείγματος ομάδων (N), οι μέσοι όροι (Mean) και τυπικές αποκλίσεις (SD), αποτυπώνονται στους πίνακες 1-3.

Πίνακας 1. Δημογραφικά στοιχεία συμμετεχόντων (n) σε τιμές μέσου όρου (mean) και τυπικής απόκλισης (\pm Standard Deviation, \pm SD).

ΟΜΑΔΕΣ	ΜΕΛΕΤΗΣ	ΕΛΕΓΧΟΥ
Μέγεθος δείγματος, n	n=11	n=11
Φύλο-γυναίκες, n	8	6
Ηλικία-έτη, mean, (SD)	40 (\pm 12)	44.7 (\pm 14)
Διάρκεια συμπτωμάτων-μήνες mean, (SD)	50 (\pm 30.2)	32 (\pm 58)
Σωματικό βάρος-kg mean, (SD)	62.5 (\pm 4.7)	72.2 (\pm 3.5)
Ύψος-cm mean, (SD)	166 (\pm 6.)	171 (\pm 9)

Πίνακας 2. Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία για την κλίμακα μέτρησης του πόνου (NPRS).

NPRS	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
NPRS1	1	4.9091	1.51357	11
	2	5.2727	1.90215	11
	Total	5.0909	1.68775	22
NPRS2	1	1.3636	1.62928	11
	2	4.6364	1.62928	11
	Total	3.0000	2.30940	22

Πίνακας 3. Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία για την κλίμακα μέτρησης της ανικανότητας (NDI).

NDI	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
NDI1	1	21.8182	7.23627	11
	2	21.4545	9.38471	11
	Total	21.6364	8.17980	22
NDI2	1	6.3636	5.98787	11
	2	25.0909	13.89572	11
	Total	15.7273	14.17302	22

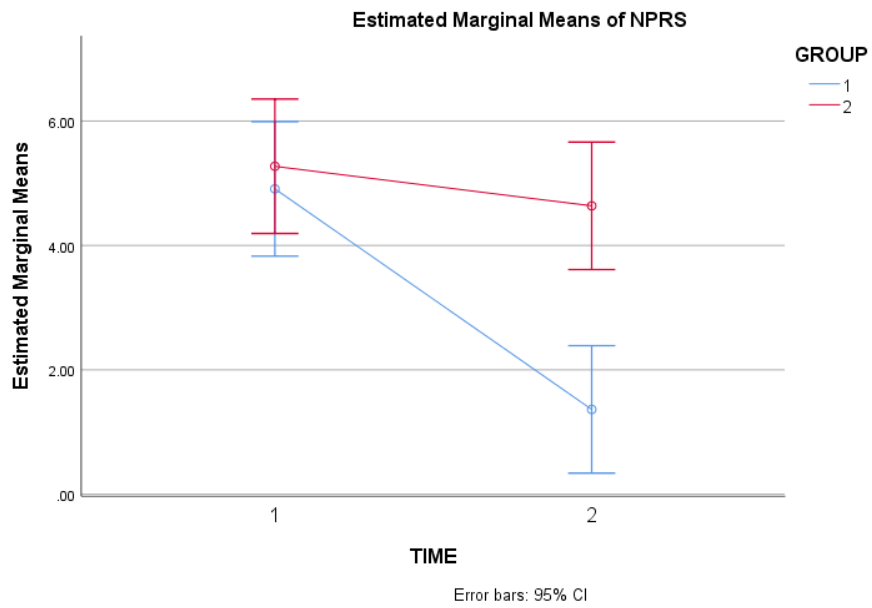
Παραδοχές

Οι μετρήσεις της εξαρτημένης μεταβλητής πόνου και ανικανότητας έγιναν μέσω κλιμάκων επιπέδου συνεχόμενων τιμών (continues level), εύρος τιμών από 0-10 και 0-50 αντίστοιχα, ικανοποιώντας την πρώτη συνθήκη εφαρμογής της ανάλυσης Mixed-ANOVA. Επίσης ο κάθε συμμετέχοντας εξετάστηκε δύο φορές και οι ανεξάρτητες ομάδες συμμετεχόντων ήταν επίσης δύο, ικανοποιώντας τη δεύτερη συνθήκη. Δεν υπήρξαν ακραίες (outliers) τιμές στα δύο επίπεδα της κάθε μεταβλητής (εξαρτημένης και ανεξάρτητης). Το τεστ Box's M test βρέθηκε μη σημαντικό, $p > .01$ ($p = .039$, $F = 2.798$), θεωρώντας την ισότητα των συνδιακυμάνσεων της μεταβλητής NPRS μεταξύ των ομάδων. Επίσης και για τη δεύτερη εξαρτημένη μεταβλητή NDI βρέθηκε μη σημαντικό το αντίστοιχο τεστ, $p > .01$ ($p = 0.32$, $F = 2935$), διατηρώντας σε ισχύ την παραδοχή της ισότητας των συνδιακυμάνσεων. Το Levene's test βρέθηκε μη σημαντικό, $p > .05$ και για τις δύο μεταβλητές, συνεπώς μπορούμε να συμπεράνουμε την ύπαρξη ισότητας και ομοιογένειας των διακυμάνσεων των εξαρτημένων μεταβλητών NPRT και NDI των ομάδων. Ως προς την κατανομή των τιμών, αυτή επιβεβαιώθηκε μέσω του τεστ κανονικότητας για μικρά δείγματα Shapiro-Wilk test το οποίο ήταν μη σημαντικό ($p > .05$), δηλώνοντας την κανονική κατανομή των τιμών πόνου και ανικανότητας για κάθε ομάδα συμμετεχόντων, όπως επίσης και η συμμετρία (Skewness) και κυρτότητα (Kurtosis), που ήταν εντός των αποδεκτών ορίων τυπικής απόκλισης (SD) = -2 έως +2 (George & Mallery, 2010).

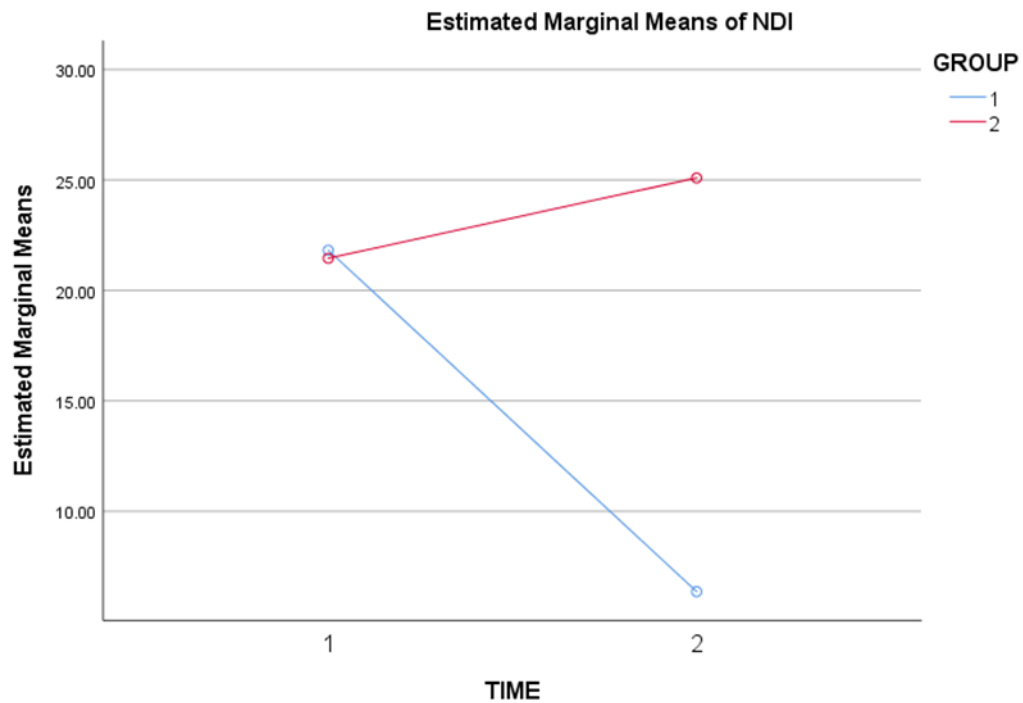
Αλληλεπίδραση

Η ανάλυση Mixed ANOVA έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση (F value interaction GROUP X TIME) για την εξαρτημένη μεταβλητή NPRS $F(2, 76) = 42.49$, και την εξαρτημένη μεταβλητή NDI $F(2, 76) = 35.59$, ($p < .001$) κάτι που απεικονίζεται και στις μη παράλληλες γραμμές των profile plots (σχήματα 2, 3).

Σχήμα 2. Αλληλεπίδραση παραγόντων GROUP x TIME στην μεταβλητή NPRS.



Σχήμα 3. Αλληλεπίδραση παραγόντων GROUP x TIME στην μεταβλητή NDI.



Κύρια επίδραση (Simple Main effect) στην μεταβλητή NPRS.

Υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της ανεξάρτητης μεταβλητής TIME (Within-Subject Effect) στην εξαρτημένη μεταβλητή NPRS για κάθε επίπεδο της ανεξάρτητης μεταβλητής GROUP, $F(1, 20) = 42.490$, $p = .000$, ($p < .05$). Υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της ανεξάρτητης μεταβλητής GROUP (Between-Subject Effect), στην εξαρτημένη μεταβλητή NPRS για κάθε επίπεδο της ανεξάρτητης μεταβλητής TIME $F(1, 20) = 8.122$, $p = .01$, ($p < .05$). Μέσω των ζευγαρωτών συγκρίσεων (pairwise comparisons), σημαντική ήταν η στατιστική διαφορά για την μεταβλητή NPRS μεταξύ των ομάδων πριν και μετά την παρέμβαση, $p = .000$, ($p < .05$), με διόρθωση Bonferroni.

Κύρια επίδραση (Simple Main effect) στην μεταβλητή NDI.

Υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της ανεξάρτητης μεταβλητής TIME (Within-Subject Effect) στην εξαρτημένη μεταβλητή NDI για κάθε επίπεδο της ανεξάρτητης μεταβλητής GROUP, $F(1, 20) = 8.895$, $p = .007$, ($p < .05$). Υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της ανεξάρτητης μεταβλητής GROUP (Between-Subject Effect), στην εξαρτημένη μεταβλητή NDI για κάθε επίπεδο της ανεξάρτητης μεταβλητής TIME $F(1, 20) = 6.553$, $p = .019$, ($p < .05$). Αυτό φαίνεται και μέσω των ζευγαρωτών συγκρίσεων (pairwise comparison), όπου παρατηρείται σημαντική στατιστική διαφορά για τη μεταβλητή NDI μεταξύ των ομάδων μελέτης και ελέγχου πριν και μετά την παρέμβαση, $p = .007$, ($p < .05$), με διόρθωση Bonferroni.

Βιοχημικές αναλύσεις IL-1β

Δίνεται ο πίνακας με τα περιγραφικά στατιστικά στοιχεία για τις δύο ομάδες ασθενών ως προς τις τιμές της IL-1β, πριν την παρέμβαση (ILPRE), μετά την πρώτη συνεδρία (ILMID) και μετά την τελευταία συνεδρία (ILPOST), (πίνακας 4.).

Πίνακας 4. Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία για την IL-1β.

	GROUP	Mean	SD	N
ILPRE	1	11.2549	6.32040	11
	2	7.2481	3.09878	11
	Total	9.2515	5.27257	22
ILMID	1	5.6180	3.11560	11
	2	7.0268	4.37595	11
	Total	6.3224	3.77634	22
ILPOST	1	4.2360	4.57138	11
	2	7.4543	2.99994	11
	Total	5.8451	4.11696	22

Παραδοχές

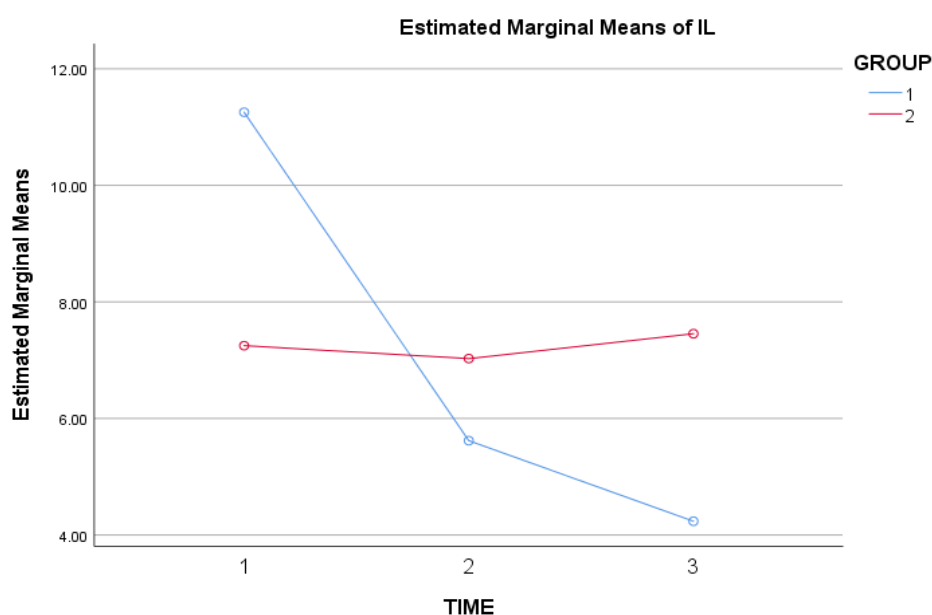
Η φύση της εξαρτημένης μεταβλητής IL-1β είναι επιπέδου συνεχόμενων τιμών (continues level), ικανοποιώντας την πρώτη παραδοχή εφαρμογής της Mixed-ANOVA. Επίσης ο κάθε συμμετέχοντας μετρήθηκε τρεις φορές και οι ανεξάρτητες ομάδες συμμετεχόντων ήταν δύο, ικανοποιώντας τη δεύτερη συνθήκη. Το Box's M test βρέθηκε μη σημαντικό, $p > .01$ ($p = .021$, $F = 2.483$), θεωρώντας την ισότητα των συνδιακυμάνσεων της

μεταβλητής IL-1β μεταξύ των ομάδων. Το Levene's test βρέθηκε μη σημαντικό, $p > .05$, συνεπώς μπορούμε να συμπεράνουμε την ύπαρξη ισότητας και ομοιογένειας των διακυμάνσεων της IL-1β για τις τρεις μετρήσεις μεταξύ των δύο ομάδων. Ως προς την κατανομή των τιμών, αυτή επιβεβαιώθηκε μέσω του τεστ κανονικότητας για μικρά δείγματα Shapiro–Wilk test, το οποίο ήταν μη σημαντικό ($p > .05$), δηλώνοντας την κανονική κατανομή των τιμών IL-1β των συμμετεχόντων. Λόγω ότι πραγματοποιήθηκαν τρεις μετρήσεις για την IL-1β, στο σύνολο των παραδοχών περιλαμβάνεται και ο έλεγχος της σφαιρικότητας (Sphericity), μέσω του Mauchly's Test, το οποίο και ήταν μη στατιστικά σημαντικό ($p = .440$), επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη σφαιρικότητας, δηλαδή την ισότητα των διακυμάνσεων όλων των ζευγαρωτών συγκρίσεων μεταξύ των τριών μετρήσεων, αποφεύγοντας τη διόγκωση του F-ratio σφάλματος.

Αλληλεπίδραση

Η ανάλυση Mixed ANOVA έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση (F value interaction GROUP X TIME) για την εξαρτημένη μεταβλητή IL-1β, $F(2, 19) = 4.14$ ($p = 0.32$, $p < .05$), όπως συμπεραίνεται και από τις τέμνουσες γραμμές του profile plot (σχήμα 4).

Σχήμα 4. Αλληλεπίδραση παραγόντων GROUP x TIME στην μεταβλητή IL-1β.



Κύρια επίδραση (Simple Main effect) στην μεταβλητή IL-1β.

Υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της ανεξάρτητης μεταβλητής TIME (Within-Subject Effect) στην εξαρτημένη μεταβλητή IL-1β για κάθε επίπεδο της ανεξάρτητης μεταβλητής GROUP, $F(1, 20) = 5.129$, $p = .010$, ($p < .05$). Υπήρξε σημαντική κύρια επίδραση της ανεξάρτητης μεταβλητής GROUP (Between-Subject Effect), στην εξαρτημένη μεταβλητή IL-1β για κάθε επίπεδο της ανεξάρτητης μεταβλητής TIME $F(1, 20) = 134.742$, $p = .001$, ($p < .05$). Μέσω των ζευγαρωτών συγκρίσεων εντός των ομάδων (test of within-subjects contrasts), σημαντική ήταν η στατιστική διαφορά για την μεταβλητή IL-1β μεταξύ πρώτης ILPRE και δεύτερης μέτρησης παρέμβαση, $p = .013$, ($p < .05$), ενώ μη στατιστικά σημαντική ήταν η

διαφορά ανάμεσα στη δεύτερη και τρίτη μέτρηση, $p=.657$, ($p>0.5$). Για αποφυγή διόγκωσης σφάλματος τύπου I, εφαρμόστηκε διόρθωση Bonferroni.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ασθενείς με μηχανικό αυχενικό χρόνιο πόνο παραγόμενο από κινήσεις της αυχενικής μοίρας (mobility deficits) αποτέλεσαν το δείγμα μελέτης, αποτελώντας τη μία από τις τρεις ομάδες στις οποίες έχει διακριθεί το σύνολο των ατόμων με αυχενικό πόνο σύμφωνα με τις πρόσφατες συστηματικές ανασκοπήσεις, με τις άλλες τρεις να εκπροσωπούν ασθενείς με διαταραχές αναφερόμενου πόνου στα άνω άκρα (upper extremities radiating pain) και διαταραχών συνέργειας στην κίνηση (coordination Impairment), (Blanpied, 2017). Η πηγή συμπτωμάτων του πόνου είναι δύσκολο να εντοπιστεί καθώς πολλές είναι οι ανατομικές δομές που εμπλέκονται στη διέγερση των αλγούποδοχέων και την παραγωγή ερεθισμάτων πόνου, όπως τα facet, το θυλακοσυνδεσμικό σύστημα, οι μυϊκές συνδέσεις, ο μεσοσπονδύλιος δίσκος και ο νευρικός ιστός (Curatolo, 2011). Οι παράγοντες φύλλο (γυναίκες) και ιστορικό πόνου αποτελούν τους προγνωστικούς παράγοντες με μέτριο έως υψηλό evidence, ενώ χαμηλό έχουν οι παράγοντες ηλικία, εργασιακές απαιτήσεις και ιστορικό οσφυϊκού πόνου (Walton et al., 2014).

Όσον αφορά τη θεωρία περί διάσπασης των πιθανών συμφύσεων των ζυγοαποφυσιακών αρθρώσεων μετά την εφαρμογή χειρισμών ως μηχανισμός δράσης του MT δεν επιβεβαιώνεται ερευνητικά (Cramer et al., 2013). Η ιδιαιτερότητα των αυχενικών ζυγοαποφυσιακών αρθρώσεων συγκριτικά με τους οσφυϊκούς, εντοπίζεται στο ότι ο αντίστοιχος μεσοσπονδύλιος δίσκος δεν αποτελείται από πυκνό δίκτυο (lamellae) του ινώδους δακτυλίου, αλλά από ένα μονομερές ημισελινοειδούς σχήματος ινοχόνδρινο στρώμα που είναι παχύτερο κοιλιακά και λεπταίνει ραχιαία (O' Leary et al., 2017).

Η μελέτη σε βιοδείκτες χαμηλού βαθμού φλεγμονής στο περιφερικό αίμα όπως είναι οι κυτταροκίνες IL-1 β , IL-6, TNF- α αποτελεί πρόσφατη και αρκετά ελπιδοφόρα προσέγγιση των υποκείμενων μηχανισμών δράσης του MT στην κλινική εικόνα και θεραπεία των ασθενών με χρόνο αυχενικό πόνο. Έως τώρα έχει φανεί ότι το MT είναι αποτελεσματικό στον αυχενικό πόνο (Wong et al., 2016; Coulter et al., 2019; Childs, 2008; Bronfort, 2010). Συνεπώς ο στόχος της μελέτης ήταν μία επέκταση και ενίσχυση των ήδη υπάρχοντων ενθαρρυντικών δεδομένων της πιθανής θετικής επίδρασης της παρέμβασης. Κατά δεύτερο λόγω, στόχος ήταν να ερμηνευθεί το πιθανό αποτέλεσμα στις κλίμακες πόνου και ανικανότητας μέσω μεταβολών στις συγκεντρώσεις των κυττάρων φλεγμονής σύμφωνα με περιορισμένες ενδείξεις και αναφορές που έχουν ερευνητικά προηγηθεί έως τώρα (Teodorczyk, 2006, Liaccardone et al., 2016).

Σε ασθενείς με πρόπτωση πηκτοειδούς πυρήνα λόγω εκφύλισης και ρήξης του ινώδους δακτυλίου, έχουν βρεθεί υψηλές τιμές TNF- α και σε αναστολή του μέσω μονοκλωνικών αντισωμάτων έχει μετρηθεί μείωση της ισχιαλγίας (Karppinen et al., 2003). Το MT εισάγει ερεθίσματα χαλάρωσης στους παρασπονδυλικούς μύες μειώνοντας τα προκλητά δυναμικά των νευρώνων παραγόμενα από το ΚΝΣ, μειώνοντας τον μυϊκό σπασμό και τον πόνο, όπως έχει μετρηθεί μέσω των αντίστοιχων αντανεκλαστικών του (Indahl et al., 1997). Φαίνεται ότι ενεργοποιούνται μηχανοποδοχείς με χαμηλό κατώφλι διέγερσης (pacini corpuscle, Golgi tendon) μέσω της δοσολογίας και συχνότητας εφαρμογής των τεχνικών (Sung et al., 2014).

Έχουν γίνει προσπάθειες ερμηνείας των μηχανισμών μέσω μελέτης των μακροφάγων, λόγω όμως των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεών τους με πολλούς διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς είναι δύσκολη η εντόπιση του ρόλου τους στο φαινόμενο του μείωσης του πόνου μέσω του MT (Gong, 2016).

Κάποιες μελέτες εφάρμοσαν μία μόνο συνεδρία μελετώντας την άμεση επίδραση των τεχνικών (Cleland, 2005). Στην δική μας μελέτη αυτό ήταν επιθυμητό για τη μεταβλητή IL-1β, καθώς έχει φανεί ότι η συγκέντρωσή της μπορεί να μεταβληθεί άμεσα (20 λεπτά), μετά από μεμονωμένο ερέθισμα χειροθεραπείας (Teodorczyk, et al., 2006). Βρήκαμε στατιστικά σημαντική διαφορά στη δεύτερη μέτρηση (μείωση συγκέντρωσης IL-1β), μόνο στην ομάδα μελέτης, καταγράφοντας έτσι το γεγονός της άμεσης και βραχύχρονης επίδρασης της κινητοποίησης των επώδυνών σπονδυλικών αυχενικών τμημάτων σε βιοδείκτες φλεγμονής. Χαρακτηριστικό είναι ότι στην τρίτη-τελική, μετά τις 9 συνεδρίες, μέτρηση, η συγκέντρωση της IL-1β, ήταν μη στατιστικά μικρότερη συγκριτικά με τη δεύτερη μέτρηση, αλλά μόνο ως τάση μείωσης. Πιθανώς η σειρά των εφαρμοζόμενων συνεδριών σταθεροποιεί το βιοχημικό προφίλ, εφόσον αυτό έχει επιτευχθεί με την έναρξη του προγράμματος. Αν μπορεί να επιτευχθεί περεταίρω μείωση αυτό ίσως να μπορεί να αποκαλυφθεί σε έναν ερευνητικό σχεδιασμό μεγαλύτερου μεγέθους δείγματος και αυξημένου αριθμού συνεδριών. Για την ομάδα ελέγχου δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών μετρήσεων για καμία από τις τρεις εξαρτημένες μεταβλητές.

Όσον αφορά τις μεταβλητές του πόνου και της λειτουργικότητας, ο στόχος εντοπιζόταν στην επίδραση της παρέμβασης ως σειρά συνεδριών σε ένα διάστημα τριών εβδομάδων το που να προσομοιάζει στην καθημερινή πρακτική εφαρμογή των προγραμμάτων κινησιοθεραπείας και χειροθεραπείας, προκειμένου να ενισχυθεί η γενικευσιμότητα των αποτελεσμάτων, αλλά και η αναπαραγωγή του προγράμματος, από άλλους ερευνητές. Πράγματι η μείωση του πόνου και βελτίωση της λειτουργικότητας στην ομάδα μελέτης και όχι στην ομάδα ελέγχου, εντοπίστηκε σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο ($p < .05$).

Ερευνητικά υποστηρίζεται η ενσωμάτωση του MT σε ένα πολυπαραγοντικό πρόγραμμα αποκατάστασης, όπως είναι η άσκηση ή/και η θερμο-ηλεκτρο-υδροθεραπεία (Blanpied, 2017). Ωστόσο, στο σχεδιασμό της μελέτης δεν θέλαμε να εντάξουμε άλλης μορφής παρέμβαση φυσιοθεραπευτικών μέσω ή θεραπευτικής άσκησης, ώστε να είμαστε πιο ακριβείς στη μελέτη της σχέσης αιτίου και αιτιατού (cause and effect) μεταξύ MT και μεταβολών στα επίπεδα πόνου, λειτουργικότητας και επιπέδου κυτταροκινών.

Η ενδεδειγμένη μελέτη της παθοφυσιολογίας των μυοσκελετικών δυσλειτουργιών και του χρόνιου πόνου στην ΣΣ απαιτεί τη διερεύνηση αλληλεπίδρασης των τριών συστημάτων ανοσοποιητικό-ΑΝΣ-ΥΥΕ άξονας. Η επίδραση του MT στον άξονα προκύπτει από την πιθανή επίδραση σε επίπεδο κυτταροκινών εκφραζόμενων από κύτταρα του ανοσοποιητικού. Αυτά εκφράζουν αδρενεργικούς υποδοχείς αλληλοεπιδρώντας με κατεχολαμίνες και διαδραματίζοντας ρόλο νευροδιαβιβαστή (Sompayrac, 2003). Οι κυτταροκίνες TNF-α, IL-1β, IL-6 συμμετέχουν στην ρύθμιση των ΑΝΣ, ΥΥΕ, αλλά και αντίστροφα εκφραστές των δύο συστημάτων όπως οι νοραδρεναλίνη, κορτιζόλη αντίστοιχα, επιδρούν στην κυτταροκινική τροποποίηση μέσω «μετατοπίσεων» -'shift' μεταξύ Th1 σε Th2 λεμφοκυττάρων κυτταρικής και χυμικής ανοσίας αντίστοιχα (Elenkov et al., 1999). Οι κατεχολαμίνες διεγείρουν τις αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες των Th2 κυττάρων (IL-4, 5, and 10, TGF-β) και αναστέλλουν τις φλεγμονώδεις των Th1 (IL-2, TNFα, INF-γ). Επίσης και τοπικά μπορεί να υπάρξει ρύθμιση, μέσω κατεχολαμινικής διέγερσης των ουδετερόφιλων και μακροφάγων (Elenkov et al.,

1999). Ο Brennan, βρήκε *in vitro* αύξηση των πολυμορφοπύρηνων κυττάρων του αναπνευστικού συστήματος μετά από μία μεμονωμένη εφαρμογή MT στην οσφυϊκή και θωρακική μοίρα υγιών και ασθενών, όπως επίσης και μία μικρή αλλά στατιστικά σημαντική αύξηση της ουσίας P στο αίμα. Μάλιστα οι επιδράσεις αυτές ήταν και δόσο-εξαρτώμενες της εφαρμοζόμενης δύναμης και του σπονδυλικού επιπέδου (Brennan, 1991).

Βιβλιογραφικά, από το μικρό έως τώρα σύνολο των μελετών αναφορικά με τη συσχέτιση του MT με βιοδείκτες φλεγμονής, αυτές διακρίνονται σε αυτές που εφάρμοσαν εργαστηριακά πρόκληση δυνάμεων MT σε ινοβλάστες (Eagan et al., 2007; Meltzer et al., 2010), αλλά και σε αυτές που εφάρμοσαν πραγματικό MT σε ασθενείς (Licciardone et al., 2016; McPartland et al., 2005). Ο Teodorczyk (2006), βρήκε μείωση παραγωγής των TNF α , IL-1 β σε ασυμπτωματικά άτομα στα οποία εφαρμόστηκε μεμονωμένο MT στην ανώτερη θωρακική μοίρα, με μέτρηση που έγινε στο περιφερικό αίμα, πριν την παρέμβαση, μετά από 20 λεπτά και 2 ώρες, συγκριτικά με ομάδα ελέγχου στην οποία εφαρμόστηκε Sham MT και σε μία τρίτη ομάδα που έγινε μόνο αιμοληψία. Οι καλλιέργειες ολικού αίματος ενεργοποιήθηκαν με λιπολυσακχαρίτη (lipopolysaccharide-LPS) για 24 ώρες και προσδιορίστηκε η παραγωγή TNF- α , IL-1 β και ουσίας P με ειδικές ανοσοδοκιμασίες. Η τελευταία έμεινε αμετάβλητη και στις τρεις ομάδες, ενώ οι κυτταροκίνες μειώθηκαν μόνο στην ομάδα που είχε δεχθεί τον χειρισμό.

Σε πρόσφατη μελέτη (Licciardone et al., 2016), βρέθηκε ότι η σοβαρότητα της συμπτωματολογίας ασθενών με οσφυαλγία ήταν παράλληλη με τις τιμές της IL-6 και όχι των τιμών IL-1 β , IL-8, IL-10, TNF- α . Έχοντας αυτό ως δεδομένο εφαρμόστηκε πρωτόκολλο θεραπείας 6 συνεδριών HVLA διάρκειας 8 εβδομάδων και λήψη δειγμάτων αίματος μισή ώρα πριν την πρώτη συνεδρία και μία δεύτερη μέτρηση τη δωδέκατη εβδομάδα. Παρατηρήθηκε μείωση του TNF α στη δεύτερη μέτρηση συγκριτικά με την πρώτη, αλλά και συγκριτικά με ομάδα ελέγχου που έλαβε Sham MT, χωρίς όμως τις αναμενόμενες μεταβολές στην IL-6 και την IL-1 β στις οποίες υπήρχε μεγάλη baseline διακύμανση. Οι ερευνητές ερμήνευσαν το αποτέλεσμα μέσω του μηχανισμού διέγερσης πρωτεασών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας διεγερόμενες από τις κυτταροκίνες. Δε μπορεί να γίνει σύγκριση με τη δική μας μελέτη για τις TNF α , IL-6 καθώς αυτές δεν περιελήφθησαν στις μετρήσεις μας. Όσον αφορά την IL-1 β στην εργασία του Licciardone και των συνεργατών οι τιμές κυμάνθηκαν σε επίπεδα χωρίς διαφορές στατιστικά πριν και μετά την παρέμβαση. Στη δική μας μελέτη, επιβεβαιώθηκε στατιστική σημαντική μεταβολή μείωσης των επιπέδων IL-1 β με την αύξηση του αριθμού των συνεδριών οι οποίες ήταν εννέα σε αριθμό σε διάστημα 9 εβδομάδων και την Τρίτη μέτρηση να γίνεται αμέσως μετά την τελευταία συνεδρία (9^η εβδομάδα), ενώ ο Licciardone (2016) και οι συνεργάτες του εφάρμοσαν πρόγραμμα 6 συνεδριών σε 8 εβδομάδες πραγματοποιώντας τη δεύτερη μέτρησή τους τη 12^η εβδομάδα, δηλαδή 4 εβδομάδες μετά το τέλος της παρέμβασής τους. Αν θεωρήσουμε ότι η συσχέτιση είναι δόσοεξαρτώμενη, πιθανώς ένας μεγαλύτερος αριθμός συνεδριών θα οδηγούσε σε μία μεγαλύτερη διαφορά. Επίσης το kit ήταν πολυμεταβλητής ανάλυσης, έναντι του δικού μας το οποίο ήταν μονοδιάστατο kit IL-1 β . Η δικής μας μελέτη μέτρησε μία κυτταροκίνη έναντι τεσσάρων του Licciardone, περιορίζονται έτσι στατιστικά τη διόγκωση σφάλματος τύπου I που προκύπτει από τον αυξημένο αριθμό ζευγαρωτών συγκρίσεων. Επιπλέον, η σύγκριση των δειγμάτων δυσκολεύει καθώς πρόκειται για σχετικά ετερογενείς ομάδες με οσφυαλγία και αυχενικό πόνο.

Έχει φανεί ότι εκφυλισμένοι δίσκοι συγκεντρώνουν αυξημένο αριθμό αισθητικών απολήξεων σε πηκτοειδή πυρήνα και τελικές πλάκες των σπονδύλων απελευθερώνοντας

προφλεγμονώδεις χημειοκίνες υπεραλγησίας όπως PGE2, IL-8. Η προφλεγμονώδης κυτταροκίνη IL-1 δρώντας στο οπίσθιο κέρασ του νωτιαίου μυελού προκαλεί διέγερση αλγυποδοχέων φανερώνοντας μία cross-talk επικοινωνία μεταξύ ΚΝΣ και περιφερικών νευρών. Η επαγωγή της IL-1 στο ραχιαίο κέρασ μπορεί να είναι και δευτερογενής ως αποτέλεσμα τραύματος, λοίμωξης ή άλλης προσβολής των αυχενικών facet. Έτσι διεγείρονται επιπλέον κύτταρα ανοσοποιητικού προς ενεργοποίηση, επιτείνοντας την φλεγμονώδη απάντηση (Fiorentino et al., 2008).

Πολλαπλοί είναι οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην διαδικασία του καταρράκτη εκδήλωσης φλεγμονής μέσω ενεργοποίησης εξωτερικών και εσωτερικών σηματοδοτικών μορίων κυτταρικής απόπτωσης (Dinarello, 2018).

Η IL-1β είναι ισχυρός τροποποιητής του ανοσοποιητικού συστήματος ενεργοποιώντας πολλά μόρια, μεταξύ αυτών τα λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, κύτταρα Langerhan, δένδρική κύτταρα και φυσικά κύτταρα φονείς. Η IL-1 β ρυθμίζεται από TNF-α, IFN, βακτηριακές ενδοτοξίνες, ιούς, μιτογόνα και αντιγόνα. Η φλεγμονώδης ενεργοποίηση μετατρέπει την πρόδρομη κασπάση-1 στην δραστική της μορφή, η οποία με τη σειρά της διασπά το pro-IL-1β. Η IL-1 βήτα συνδέεται σε δύο υποδοχείς, IL-1RI και IL-1 RII. Η δραστικότητα της IL-1β μπορεί να μετριάζεται από τον ανταγωνιστή IL-1 υποδοχέα (IL-1RA), μια πρωτεΐνη που παράγεται από πολλούς κυτταρικούς τύπους που μπλοκάρουν την πρόσδεση του υποδοχέα μέσω ανταγωνιστικής αναστολής.

Το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα φλεγμονής (inflammasome) ενεργοποιεί πρόδρομες μορφές της IL-1β, μετά την ενεργοποίηση μέσω πρωτεόλυσης των προκασπασών σε κασπάσες. Η IL-1β δεν εκφράζεται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ομοιόστασης (βρίσκεται ως ανενεργό ζυμογόνο) από τα μυελοειδή κύτταρα και είναι δραστική μόνο κατά την πρωτεολυτική διάσπαση του προδρόμου μορίου από την κασπάση-1 στο φλεγμονόσωμα (inflammasome), γεγονός που οδηγεί και στην έκκρισή της (Dinarello et al., 2012). Οι κλινικές και πειραματικές παρατηρήσεις έχουν συσχετίσει την IL-1b με παθολογίες στις οποίες παρατηρούνται φλεγμονώδεις εκδηλώσεις. Η IL-1a, σε αντίθεση με την IL-1b, μπορεί να βρεθεί στα κύτταρα υπό φυσιολογική ομοιόσταση και είναι ενεργή στην πρόδρομη μορφή της καθώς και στην ώριμη. Η IL-1a έχει μια λειτουργική αλληλουχία πυρηνικού εντοπισμού και είναι δραστική στο ενδοκυτταρικό διαμέρισμα, ειδικά στον πυρήνα, ως ρυθμιστής της μεταγραφής, ενώ επηρεάζει τη φλεγμονή και την ανοσία σε εξωκυτταρικό επίπεδο (Dinarello, 2012).

Ο Attur (2015), παρατήρησε την αύξηση της γονιδιακής έκφρασης της IL-1b σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα γόνατος, τονίζοντας το ρόλο της ως προγνωστικό παράγοντα εκδήλωσης πόνου και εκφυλιστικών αλλοιώσεων του χόνδρου. Η μέτρησή της έγινε στα λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος μέσω ανάλυσης μικροσυστοιχειών (transcriptome analysis) και ποσοτικής PCR.

Σε μετα-ανάλυση (8 μελέτες) σχετικά με τους γονιδιακούς πολυμορφισμούς των IL-1b/IL-1bR, σε άτομα με οστεοαρθρίτιδα ισχίου (σύνολο 3595 ασθενών και 6559 υγιών) και γόνατος (5013 ασθενών και 9132 υγιών ατόμων), φάνηκε μη συσχέτιση με την εκδήλωση της νόσου ως προς την IL-1b, αλλά με πιθανή συσχέτιση του ρόλου του υποδοχέα της IL-1b (IL-1bR). Οι ερευνητές κινητοποιήθηκαν στη μελέτη των κυτταροκινών λόγω των δεδομένων που υπάρχουν ως προς την παραγωγή τους από τον χόνδρο που υφίσταται εκφύλιση εκδηλώνοντας την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και δημιουργία καταρράκτη χρόνιας υποκλινικής και εν συνεχεία κλινικής φλεγμονής (Kerkhof et al, 2011).

Ο Coulter, (2019) σε πολύ πρόσφατη συστηματική ανάλυση δημοσιευμένων εργασιών RCT, κατά το χρονικό διάστημα 2000-2017 σχετιζόμενων με τη θεραπευτική επίδραση της κινητοποίησης και των χειρισμών σε ασθενείς CNP, κατέληξε σε ένα σύνολο 47 εργασιών με 4,460 ασθενείς, χρησιμοποιώντας τα κριτήρια Scottish Intercollegiate Guidelines Network criteria. Οι 37 εργασίες περιλάμβαναν κινητοποίηση ή χειρισμούς χωρίς ομάδα ελέγχου ή SHAM κινητοποίηση. Από αυτές μόνο 6 ανακτήθηκαν με κριτήριο τη δυνατότητα σύγκρισης των αποτελεσμάτων λόγω κοινής θεραπευτικής προσέγγισης σε χρονικό σημείο μετρήσεων τους 1, 6 και 12 μήνες, καταγράφοντας μικρή υπεροχή του MT μαζί με άσκηση, συγκριτικά με μόνη εφαρμογή την άσκηση για τη βελτίωση του πόνου και της λειτουργικότητας. Η πολυπαραγοντική προσέγγιση ήταν αποτελεσματική σε 10 έρευνες, ενώ στο σύνολό τους δεν αναφέρθηκαν επιπλοκές από την παρέμβαση.

Με βάση την ανασκόπηση του Franke (2015) που περιελάμβανε μόλις 3 μελέτες, ως προς τα κριτήρια εισαγωγής, προτείνεται ο σχεδιασμός και η εφαρμογή RCT για τη μελέτη επίδρασης του MT σε ασθενείς με χρόνια μη ειδικό πόνο στον αυχένα, μέσω μακροπρόθεσμων μετρήσεων και σε μεγαλύτερα δείγματα ασθενών.

Περιορισμοί μελέτης

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε μία ιδιωτική κλινική περιλαμβάνοντας μία συγκεκριμένη δημογραφική περιοχή, περιορίζοντας έτσι την εξωτερική εγκυρότητα. Επίσης, το μικρό δείγματος δεν επιτρέπει την ενδελεχή στατιστική εφαρμογή παραμετρικών στατιστικών αναλύσεων με αυξημένη ισχύ, βελτιώνοντας έτσι και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων σε επίπεδο επιδράσεων, αλλά κυρίως αλληλεπιδράσεων μεταξύ παραγόντων της ανεξάρτητης μεταβλητής. Επίσης, δε μετρήθηκε η μυϊκή δύναμη των μυών του αυχένα, λόγω ότι δεν εφαρμόστηκε πρόγραμμα θεραπευτικής άσκησης, γιατί ο στόχος ήταν η μεμονωμένη MT επίδραση, εκτός των πλαισίων πολυπαραγοντικού θεραπευτικού πλάνου. Ωστόσο, η εν λόγω μελέτη αποτελεί μία από τις ελάχιστες που επιχειρεί να διαφωτίσει τον μηχανισμό επίδρασης της κινησιοθεραπείας στην κλινική εικόνα των ατόμων με χρόνια αυχενικό μηχανικό πόνο σε βιολογικό μοριακό επίπεδο μέσω βιοδεικτών στο περιφερικό αίμα και αναμφίβολα αποτελεί το έναυσμα για μία μελλοντική έρευνα καλύπτοντας τις αδυναμίες της παρούσης και στοχεύοντας σε μία πιο ολοκληρωμένη ανάλυση ακόμα και σε μακροπρόθεσμο στάδιο μετρήσεων (follow-up), αλλά και σε ένα ευρύτερο βιοχημικό προφίλ κυτταροκινών και άλλων μορίων φλεγμονής.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εφαρμογή τεχνικών χειροθεραπείας βελτιώνει άμεσα την κλινική εικόνα των ασθενών με χρόνια αυχενικό μηχανικό πόνο, επεκτείνοντας και ενισχύοντας έτσι τις ήδη υπάρχουσες θεραπευτικές ενδείξεις του MT. Η μεταβολή συγκέντρωσης της IL-1β, προσδίδει μία κατεύθυνση σκέψης στην οποία μπορεί να επενδυθεί ερευνητική μελλοντική προσπάθεια ανίχνευσης της σχέσης της με τον πόνο των ασθενών αυτών, ακόμα και σε διαφορετικές υποομάδες ασθενών με χρόνια μυοσκελετικό μηχανικό πόνο. Επιπλέον, ισχυροποιείται ερευνητικά ο σχεδιασμός σχημάτων θεραπείας που θα αλληλοσυμπληρώνουν την θεραπευτική προσέγγιση όπως ο συνδυασμός MT και φαρμακοθεραπείας, στα πλαίσια ενός ολοκληρωμένου θεραπευτικού προγράμματος αποκατάστασης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abdelhamid R, Sluka K. ASICs Mediate Pain and Inflammation in Musculoskeletal Diseases. *Physiology (Bethesda)*. 2015; 30(6): 449-59.

- Aquino R, Caires P. Applying Joint Mobilization at Different Cervical Vertebral Levels does not Influence Immediate Pain Reduction in Patients with Chronic Neck Pain: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Manual & Manipulative Therapy*. 2009; 17(2): 211-219.
- Attur M, Krasnokutsky S, Statnikov A. Low-grade inflammation in symptomatic knee osteoarthritis: prognostic value of inflammatory plasma lipids and peripheral blood leukocyte biomarkers. *Arthritis Rheumatol*. 2015; 67(11): 2905-15.
- Attur, M, Belitskaya-Lévy I. Increased IL-1 beta gene expression in peripheral blood leukocytes is associated with increased pain and predicts risk for progression of symptomatic knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2011; 63(7): 1908–1917.
- Bäckryd E. Pain in the Blood? Envisioning Mechanism-Based Diagnoses and Biomarkers in Clinical Pain Medicine. *Diagnostics (Basel)*. 2015; 5(1):84-95.
- Baylis D, Bartlett DB, Patel HP, Roberts HC. Understanding how we age: insights into inflammaging. *Longev Healthspan*. 2013; 2(1): 8-18.
- Bialosky JE, Bishop MD, Price DD, Robinson ME, George SZ. The mechanisms of manual therapy in the treatment of musculoskeletal pain: a comprehensive model. *Man Ther* 2009; 14(5): 531-8.
- Blanpied P, Gross A. Clinical Practice Guidelines Linked to the International Classification of Functioning, Disability and Health From the Orthopaedic Section of the American Physical Therapy Association. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2017; 47(7): A1-A83.
- Bolton P. Reflex effects of vertebral subluxations: the peripheral nervous system. An update. *J Manipulative Physiol Ther*. 2000; 23(2): 101-3.
- Boyling 2004 Grieve's Modern Manual Therapy The Vertebral Column 3rd.
- Brennan P, Kokjohn K. Enhanced phagocytic cell respiratory burst induced by spinal manipulation: potential role of substance P. *J Manipulative Physiol Ther*. 1991;14(7): 399-408.
- Bronfort G, Haas M, Evans R, Leininger B, Triano J. Effectiveness of manual therapies: the UK evidence report. *Chiropr Osteopat*. 2010; 18: 3.
- Childs J, Cleland J. Neck Pain: Clinical Practice Guidelines Linked to the International Classification of Functioning, Disability, and Health From the Orthopaedic Section of the American Physical Therapy Association *J Orthop Sports Phys Ther*. 2008; 38(9): A1-A34.
- Cho J, Lee E, Lee S. Upper thoracic spine mobilization and mobility exercise versus upper cervical spine mobilization and stabilization exercise in individuals with forward head posture: a randomized clinical trial. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017; 18(1): 525.
- Cleland J, Maj. John D. Immediate effects of thoracic manipulation in patients with neck pain: a randomized clinical trial. *Manual Therapy*. 2005; 10 127–135.
- Cleland JA, Childs JD, Whitman JM. Psychometric properties of the Neck Disability Index and Numeric Pain Rating Scale in patients with mechanical neck pain. *Arch Phys Med Rehabil*. 2008; 89(1): 69-74.

- Cleland JA, Glynn P, Whitman JM, Eberhart SL, MacDonald C, Childs JD. Short-term effects of thrust versus nonthrust mobilization/manipulation directed at the thoracic spine in patients with neck pain: a randomized clinical trial. *Phys Ther.* 2007; 87(4): 431-40.
- Cleland JA, Mintken PE, McDevitt A, Bieniek ML, Carpenter KJ, Kulp K, Whitman JM. Manual physical therapy and exercise versus supervised home exercise in the management of patients with inversion ankle sprain: a multicenter randomized clinical trial. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2013; 43(7): 443-55.
- Cleland JA. Spinal manipulation: risks vs. benefits. *South Med J.* 2007; 100(2): 132-3.
- Coulter I, Crawford C, Vernon H, Hurwitz EL, Khorsan R, Booth MS. Manipulation and Mobilization for Treating Chronic Nonspecific Neck Pain: A Systematic Review and Meta-Analysis for an Appropriateness Panel. *Pain Physician.* 2019; 22(2): 55-70.
- Cramer G, Ross K. In reply. *J Manipulative Physiol Ther.* 2013; 36(4): 259-60.
- Cross M, Kuenze C, Grindstaff T, Hertel J. Thoracic spine thrust manipulation improves pain, range of motion, and self-reported function in patients with mechanical neck pain: a systematic review. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2011; 41(9): 633-42.
- Curatolo M. Diagnosis of altered central pain processing. *Spine* 2011; 36(25): 200-4.
- Degenhardt B, Darmani N, Johnson J., Role of osteopathic manipulative treatment in altering pain biomarkers: a pilot study. *J Am Osteopath Assoc.* 2007; 107(9): 387-400.
- Delaunay A1, Gasull X, Salinas M. Human ASIC3 channel dynamically adapts its activity to sense the extracellular pH in both acidic and alkaline directions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109(32): 13124-9.
- Dinarello C. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity *Immunol Rev.* 2018; 281(1): 8–27.
- Dinarello CA, Simon A. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2012; 11(8): 633-52.
- Dunning JR, Butts R, Mourad F, Young I, Fernandez-de-Las Peñas C, Hagins M, Stanislawski T. Upper cervical and upper thoracic manipulation versus mobilization and exercise in patients with cervicogenic headache: a multi-center randomized clinical trial. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016; 17: 64.
- Eagan TS, Meltzer KR, Standley PR. Importance of strain direction in regulating human fibroblast proliferation and cytokine secretion: a useful in vitro model for soft tissue injury and manual medicine treatments. *J Manipulative Physiol Ther.* 2007; 30(8): 584-592.
- Elenkov I, Chrousos G. Stress Hormones, Th1/Th2 patterns, Pro/Anti-inflammatory Cytokines and Susceptibility to Disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism* . 1999; 10(9): 359-368.
- Falco FJ, Berger J. Cross talk: a new method for peripheral nerve stimulation. An observational report with cadaveric verification. *Pain Physician.* 2009; 12(6): 965-83.

Fernández-de-las-Peñas C, Palomeque-del-Cerro L. Changes in neck pain and active range of motion after a single thoracic spine manipulation in subjects presenting with mechanical neck pain: a case series. *J Manipulative Physiol Ther.* 2007; 30(4): 312-20.

Fiorentino P, Tallents R. Spinal interleukin-1 β in a mouse model of arthritis and joint pain. *ARTHRITIS & RHEUMATISM.* 2008; 58(10): 3100–3109.

Flynn TW, Childs JD, Fritz JM. The audible pop from high-velocity thrust manipulation and outcome in individuals with low back pain. *J Manipulative Physiol Ther.* 2006; 29(1): 40-5.

Franke H, Franke J. Osteopathic manipulative treatment for chronic nonspecific neck pain: A systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2015; 15: 286-93.

Fratta L, Tatangelo R. The plasmatic and salivary levels of IL-1 β , IL-18 and IL-6 are associated to emotional difference during stress in young male. *Sci Rep.* 2018; 8: 3031.

Frey ME, Manchikanti L, Benyamin RM, Schultz D. Spinal cord stimulation for patients with failed back surgery syndrome: a systematic review. *Pain Physician.* 2009;12(2): 379-97.

George D, & Mallery M. (2010). *SPSS for Windows Step by Step: A Simple Guide and Reference, 17.0 update (10a ed.)* Boston: Pearson.

Gong W, Kolker SJ, Usachev Y, Walder RY, Boyle D. Acid-sensing ion channel 3 decreases phosphorylation of extracellular signal-regulated kinases and induces synoviocyte cell death by increasing intracellular calcium. *Arthritis Res Ther.* 2014; 16(3): 121-8.

Gong WY1, Abdelhamid RE. Resident Macrophages in Muscle Contribute to Development of Hyperalgesia in a Mouse Model of Noninflammatory Muscle Pain. *J Pain.* 2016; 17 (10): 1081-1094.

González-Iglesias J. Inclusion of thoracic spine thrust manipulation into an electro-therapy/thermal program for the management of patients with acute mechanical neck pain: A randomized clinical trial. *Man Ther.* 2009; 14: 306-313.

Griswold D, Learman K, O'Halloran B1, Cleland J. A preliminary study comparing the use of cervical/upper thoracic mobilization and manipulation for individuals with mechanical neck pain. *J Man Manip Ther.* 2015; 23(2): 75-83.

Guzman J, Hurwitz E. A new conceptual model of neck pain: linking onset, course, and care: the Bone and Joint Decade 2000-2010 Task Force on Neck Pain and Its Associated Disorders. *Spine.* 2008; 15 (33): 14-23.

Haldeman S. Spinal manipulative therapy in sports medicine. *Clinics in Sports Medicine* 1986; 5(2):277-293.

Herzog W, Scheele D, Conway PJ. Electromyographic responses of back and limb muscles associated with spinal manipulative therapy. *Spine.* 1999; 24(2): 146-52.

Hurwitz EL, Morgenstern H, Harber P, Kominski GF, Yu F, Adams AH. A randomized trial of chiropractic manipulation and mobilization for patients with neck pain: clinical outcomes from the UCLA neck-pain study. *Am J Public Health.* 2002; 92(10): 1634-41.

Igarashi A, Kikuchi S, Konno S, Olmarker K. Inflammatory cytokines released from the facet joint tissue in degenerative lumbar spinal disorders. *Spine.* 2004; 29(19): 2091-5.

- Igarashi A1, Kikuchi S, Konno S. Correlation between inflammatory cytokines released from the lumbar facet joint tissue and symptoms in degenerative lumbar spinal disorders. *J Orthop Sci.* 2007; 12(2): 154-60.
- Indahl A, Kaigle AM, Reikeräs O, Holm SH. Interaction between the porcine lumbar intervertebral disc, zygapophysial joints, and paraspinal muscles. *Spine.* 1997; 22(24): 2834-40.
- Kaltenborn KF. *Prax Kinderpsychol Kinderpsychiatr.* 2004; 53(3): 167-81.
- Kanlayanaphotporn R. The Immediate Effects of Mobilization Technique on Pain and Range of Motion in Patients Presenting With Unilateral Neck Pain: A Randomized Controlled Trial. *Article in Archives of physical medicine and rehabilitation.* 2008; 90(2): 187-92.
- Karppinen J, Korhonen T. Tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody, infliximab, used to manage severe sciatica. *Spine.* 2003; 28(8): 750-3.
- Kerkhof HJ, Doherty M, Arden NK, Abramson SB, Attur M. Large-scale meta-analysis of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist polymorphisms on risk of radiographic hip and knee osteoarthritis and severity of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2011; 19(3): 265-71.
- Kessler TJ, Brunner F, Künzer S, Crippa M, Kissling R. Effects of Maitland's manual mobilization on the thoracic spine. *Rehabilitation.* 2005; 44(6): 361-6.
- Kim J, Ali M. Characterization of degenerative human facet joints and facet joint capsular tissues. *Osteoarthritis Cartilage.* 2015; 23(12): 2242–2251.
- Kovacic JC, Moreno P, Nabel EG, Hachinski V, Fuster V. Cellular senescence, vascular disease, and aging: part 2 of a 2-part review: clinical vascular disease in the elderly. *Circulation.* 2011; 123: 1900–10.
- Krauss J, Creighton D. The Immediate Effects of Upper Thoracic Translatory Spinal Manipulation on Cervical Pain and Range of Motion: A Randomized Clinical Trial. *J Man Manip Ther.* 2008; 16(2): 93–99.
- Langevin HM, Bouffard NA, Fox JR. Fibroblast cytoskeletal remodeling contributes to connective tissue tension. *J Cell Physiol.* 2011; 226(5): 1166-75.
- Leaver AM, Maher CG, Herbert RD, Latimer J, McAuley JH, Jull G, Refshauge KM. A randomized controlled trial comparing manipulation with mobilization for recent onset neck pain. *Arch Phys Med Rehabil.* 2010; 91(9): 1313-8.
- Leaver AM, Refshauge KM, Maher CG, McAuley JH. Conservative interventions provide short-term relief for non-specific neck pain: a systematic review. *J Physiother.* 2010; 56(2): 73-85.
- Lee DS, Ko W, Yoon CS, Kim DC, Yun J. KCHO-1, a Novel Antineuroinflammatory Agent, Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammatory Responses through Nrf2-Mediated Heme Oxygenase-1 Expression in Mouse BV2 Microglia Cells. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2014: 357-68.

- Licciardone J, Kearns C. Associations of Cytokine Concentrations With Key Osteopathic Lesions and Clinical Outcomes in Patients With Nonspecific Chronic Low Back Pain: Results From the OSTEOPATHIC Trial. *JAOA*. 2016; 112(9): 596-605.
- Masaracchio M1, Cleland JA, Hellman M, Hagins M. Short-term combined effects of thoracic spine thrust manipulation and cervical spine nonthrust manipulation in individuals with mechanical neck pain: a randomized clinical trial. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2013; 43(3): 118-27.
- McInnes I. Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology (Tenth Edition). 2017; (1): 396-407.
- McLean S1, Naish R, Reed L, Urry S, Vicenzino B. A pilot study of the manual force levels required to produce manipulation-induced hypoalgesia. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2002; 17(4): 304-8.
- McPartland JM, Giuffrida A, King J, Skinner E, Scotter J, Musty RE. Cannabimimetic effects of osteopathic manipulative treatment. *J Am Osteopath Assoc*. 2005; 105(6): 283-291.
- Meltzer KR, Cao TV, Schad JF, King H, Stoll ST, Standley PR. In vitro modeling of repetitive motion injury and myofascial release. *J Bodyw Mov Ther*. 2010; 14(2): 162-171.
- Merskey H. Logic, truth and language in concepts of pain. *Qual Life Res*. 1994; (3)1: 69-76.
- Mulleman D, Mammou S. Pathophysiology of disk-related sciatica. Evidence supporting a chemical component. *Joint Bone Spine*. 2006; 73(2):151-8.
- O'Leary SA, Link JM, Klineberg EO, Hu JC, Athanasiou KA. Characterization of facet joint cartilage properties in the human and interspecies comparisons. *Acta Biomater*. 2017; 54: 367-76.
- Ohtori S, Takahashi K, Moriya H. TNF-alpha and TNF-alpha receptor type 1 upregulation in glia and neurons after peripheral nerve injury: studies in murine DRG and spinal cord. *Spine*. 2004; 29(10): 1082-8.
- Olmarker K. Radicular pain - recent pathophysiologic concepts and therapeutic implications. *Schmerz*. 2001 Dec; 15(6): 425-9.
- Ormos G, Mehrishi J. Reduction in High Blood Tumor Necrosis Factor- α Levels After Manipulative Therapy in 2 Cervicogenic Headache Patients. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics*. 2009; 32 (7): 586-591.
- Paungmali A, O'Leary S, Souvlis T, Vicenzino B. Naloxone fails to antagonize initial hypoalgesic effect of a manual therapy treatment for lateral epicondylalgia. *J Manipulative Physiol Ther*. 2004; 27(3): 180-5.
- Paungmali A, Vicenzino B, Smith M. Hypoalgesia induced by elbow manipulation in lateral epicondylalgia does not exhibit tolerance. *J Pain*. 2003; 4(8): 448-54.
- Puentedura EJ, Landers MR, Cleland JA, Mintken PE, Huijbregts P, Fernández-de-Las-Peñas C. Thoracic spine thrust manipulation versus cervical spine thrust manipulation in patients with acute neck pain: a randomized clinical trial. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2011; 41(4): 208-2

- Rider P, Carmi Y, Guttman O, Braiman A. IL-1 α and IL-1 β recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *J Immunol*. 2011; 187(9): 4835-43
- Ruiz-Sáez M1, Fernández-de-las-Peñas C. Changes in pressure pain sensitivity in latent myofascial trigger points in the upper trapezius muscle after a cervical spine manipulation in pain-free subjects. *J Manipulative Physiol Ther*. 2007;30(8): 578-83.
- Salamon E, Zhu W, Stefano GB. Nitric oxide as a possible mechanism for understanding the therapeutic effects of osteopathic manipulative medicine. *Int J Mol Med*. 2004; 14(3): 443-449.
- Sambajon V, Cillo J. The effects of mechanical strain on synovial fibroblasts. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003; 61(6): 707-12.
- Schäfer A, Joos L, Roggemann K. Pain experiences of patients with musculoskeletal pain and central sensitization: A comparative Group Delphi Study. *Plos One*. 2017; 12(8):182-207.
- Schmid A, Brunner F, Wright A, Bachmann LM. Paradigm shift in manual therapy? Evidence for a central nervous system component in the response to passive cervical joint mobilisation. *Man Ther* 2008; 13(5): 387-96.
- Schomacher J, Learman K. Symptom localization tests in the cervical spine: a descriptive study using imaging verification. *J Man Manip Ther*. 2010; 18(2): 97-101.
- Shah JP, Phillips TM, Danoff JV, Gerber LH. An in vivo microanalytical technique for measuring the local biochemical milieu of human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2005; 99(5): 1977-84.
- Slaven E, Goode A. The relative effectiveness of segment specific level and non-specific level spinal joint mobilization on pain and range of motion: results of a systematic review and meta-analysis. *J Man Manip Ther*. 2013; 21(1): 7–17.
- Sompayrac L. How the immune system works. 2nd ed. Blackwell; Malden, MA: 2003.
- Sterling M, Jull G, Wright A. The effect of musculoskeletal pain on motor activity and control. *J Pain*. 2001; 2(3): 135-45.
- Strimpakos N. The assessment of the cervical spine. Part 2: strength and endurance/fatigue. *J Body w Mov Ther*. 2011; 15(4): 417-30.
- Sung Y, Lee J. Effects of Thoracic Mobilization and Manipulation on Function and Mental State in Chronic Lower Back Pain *J Phys Ther Sci*. 2014; 26(11): 1711–1714.
- Suzuki A, Daubs MD, Hayashi T, Ruangchainikom M, Xiong C, Phan K, Scott TP, Wang JC. Patterns of Cervical Disc Degeneration: Analysis of Magnetic Resonance Imaging of Over 1000 Symptomatic Subjects. *Global Spine J*. 2018; 8(3): 254-259.
- Teodorczyk-Injeyan J, Injeyan H, Ruegg R. Spinal manipulative therapy reduces inflammatory cytokines but not substance P production in normal subjects. *J Manipulative Physiol Ther*. 2006; 29(1): 14-21.
- Tseng Y, Wendy T.J. Predictors for the immediate responders to cervical manipulation in patients with neck pain Manual Therapy. *Manual Therapy*. 2006; 11: 306–315.

- Vernon H, Humphreys B. Manual therapy for neck pain: an overview of randomized clinical trials and systematic reviews. *Eura Medicophys*. 2007; 43(1):91-118.
- Vernon H, MacAdam K, Marshall V, Pion M, Sadowska M. Validation of a sham manipulative procedure for the cervical spine for use in clinical trials. *J Manipulative Physiol Ther*. 2005; 28(9): 662-6.
- Vicenzino B1, Collins D, Benson H, Wright A. An investigation of the interrelationship between manipulative therapy-induced hypoalgesia and sympathoexcitation. *J Manipulative Physiol Ther*. 1998; 21(7): 448-53.
- Vigotsky A, Bruhns R. Corrigendum to "The Role of Descending Modulation in Manual Therapy and Its Analgesic Implications: A Narrative Review". *Pain Res Treat*. 2017; 17: 1535-73.
- Walton D, Eilon-Avigdor Y. Exploring the Clinical Course of Neck Pain in Physical Therapy: A Longitudinal Study. *Physical Medicine and Rehabilitation*. 2014; 95(2): 303–308.
- Wang H, Schiltenswolf M, Buchner M. The role of TNF- α in patients with chronic low back pain: a prospective comparative longitudinal study. *Clin J Pain*. 2008; 24(3): 273-278.
- Wong J, Shearer H. Are manual therapies, passive physical modalities, or acupuncture effective for the management of patients with whiplash-associated disorders or neck pain and associated disorders? An update of the Bone and Joint Decade Task Force on Neck Pain and Its Associated Disorders by the OPTIMa collaboration. *Spine J*. 2016; 16(12): 1598-1630.
- Woolf C. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2011; 152(3): 2-15.
- Xu D, Sun Y, Bao G, Liu W, Zhu X. MMP-1 overexpression induced by IL-1 β : possible mechanism for inflammation in degenerative lumbar facet joint. *J Orthop Sci*. 2013; 18(6): 1012-9.
- Y. Yoshihara, H. Nakamura, K. Obata, H. Yamada, T. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2000; 59(6): 455–461.
- Young I, Dunning J, Butts R. Reliability, construct validity, and responsiveness of the neck disability index and numeric pain rating scale in patients with mechanical neck pain without upper extremity symptoms. *Physiother Theory Pract*. 2018 Jun 1:1-8.