

The effect of aerobic exercise, ozone and mesenchymal stem cells on pain threshold changes in osteoarthritis rats

Abdizadeh L, Peeri M*, Matinhomae H

Department of Sport Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2022/03/8 | Accepted: 2022/06/26

Abstract:

Background: Acute and chronic stress due to inactivity, especially inactivity due to osteoarthritis can affect pain threshold and painful behaviors; therefore, this study aimed to determine the effect of aerobic exercise, ozone and MSCs on pain threshold changes in osteoarthritis rats.

Materials and Methods: Forty-five adult male Wistar rats (6-8-week-old), weighing an average of 250-230g, were divided into osteoarthritis (n=40) and healthy controls (n=5). Osteoarthritis were induced by surgery in rats and then divided into 8 groups of 5, including patient control, MSCs, aerobic exercise, ozone, aerobic exercise+ozone, aerobic exercise+MSCs, ozone+MSCs and aerobic exercise+ozone+MSCs. Aerobic exercise was performed for eight weeks at a speed of 16 M/min. MSCs were injected at 1×10^6 cells/kg into the knees of rats; ozone was also injected into 3 replicates before training with a concentration of 20 $\mu\text{g/ml}$. Pain threshold was measured by hot-plate test and its significance level was considered 0.05.

Results: Pain threshold in the osteoarthritis patient group was significantly reduced compared to the healthy group ($P=0.001$). There was a significant increase in pain threshold in cell therapy ($P=0.003$), ozone therapy and aerobic exercise groups ($P=0.0001$). While the peak of this increase was seen in MSCs+aerobic exercise ($P=0.02$).

Conclusion: Induction of osteoarthritis leads to a decrease in pain threshold. Although aerobic exercise, ozone and MSCs play an important role in controlling acute pain due to osteoarthritis by increasing the pain threshold, the maximum analgesic effect is in the interaction of aerobic exercise+MSCs.

Keywords: Exercise, MSCs, Ozone, Hot-Plate, Osteoarthritis, Pain threshold

*Corresponding Author

Email: m.peeri@iauctb.ac.ir

Tel: 0098 912 1124 434

Fax: 0098 214 486 5158

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2022; Vol. 26, No 3, Pages 247-255

Please cite this article as: Abdizadeh L, Peeri M*, Matinhomae H. The effect of aerobic exercise, ozone and mesenchymal stem cells on pain threshold changes in osteoarthritis rats. *Feyz* 2022; 26(3): 247-55.

تأثیر تمرین هوازی، ازون و سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر تغییرات آستانه درد در موش‌های صحرایی مبتلا به استئوآرتریت

لیلا عبدی‌زاده^۱، مقصود پیری^{۱*}، حسن متین‌همایی^۱

خلاصه:

سابقه و هدف: استرس حاد و مزمن ناشی از بی‌حرکتی به‌ویژه بی‌حرکتی ناشی از استئوآرتریت می‌تواند آستانه درد و رفتارهای درد را متأثر کند؛ بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر تمرین هوازی، ازون و MSCs بر تغییرات آستانه درد در رت‌های استئوآرتریتی انجام گرفت. **مواد و روش‌ها:** تعداد ۴۵ سر رت نر بالغ ۶-۸ هفته‌ای ویستار، با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۳۰ گرم به دو گروه استئوآرتریت (n=۴۰) و کنترل سالم (n=۵) تقسیم شدند. استئوآرتریت از طریق جراحی در رت‌ها القا شد و سپس در ۸ گروه پنج‌تایی شامل کنترل بیمار، MSCs، تمرین هوازی، ازون، تمرین هوازی + ازون، تمرین هوازی + MSCs، ازون + MSCs، تمرین هوازی + ازون + MSCs قرار گرفتند. تمرین هوازی به مدت هشت هفته و با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه انجام شد. MSCs به میزان ۱۰^۶ سلول بر کیلوگرم به زانوی رت‌ها تزریق گردید؛ همچنین تزریق ازون در ۳ تکرار و قبل از شروع تمرین با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر صورت گرفت. آستانه درد توسط آزمون صفحه داغ اندازه‌گیری و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: آستانه درد در گروه بیمار استئوآرتریتی در مقایسه با گروه سالم کاهش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۱). آستانه درد در گروه‌های سلول‌درمانی (P=۰/۰۰۳)، ازون‌درمانی و تمرین هوازی (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی‌دار یافت. درحالی‌که اوج این افزایش در تمرین هوازی + MSCs دیده شد (P=۰/۰۲).

نتیجه‌گیری: القای استئوآرتریت به کاهش آستانه درد منجر می‌گردد. هرچند تمرین هوازی، ازون و MSCs با افزایش آستانه درد نقش مهمی در کنترل درد حاد ناشی از استئوآرتریت دارند، اما حداکثر اثر بی‌دردی در تعامل تمرین هوازی + MSCs می‌باشد.

واژگان کلیدی: تمرین، MSCs، ازون، صفحه داغ، استئوآرتریت، آستانه درد

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۳، مرداد - شهریور ۱۴۰۱، صفحات ۲۴۷-۲۵۵

مقدمه

آستانه درد، نقطه‌ای است که در آن بدن آغاز به فهمیدن درد می‌کند. بنابر تحقیقات، مقدار واکنش هر شخص به درد متغیر می‌باشد و این امر ناشی از توانایی مغز برای کنترل شدت سیگنال‌های ورودی درد به سیستم عصبی است که توسط فعال کردن سیستم ضد درد صورت می‌گیرد [۳]. بنابراین، درد محرکی حسی است که توسط خود بیمار بیان می‌شود و آستانه حس درد و بیان آن در بیماران و در سنین مختلف، متفاوت می‌باشد. به‌طوری‌که شایع‌ترین سن ابتلا به درد، دهه چهارم و پنجم زندگی است که این امر بیانگر کاهش تحمل درد به‌همراه افزایش سن می‌باشد [۴]. علیرغم کار گسترده در طی دو دهه اخیر به‌منظور تعیین مکانیسم‌های بیماری‌زای OA، هنوز درک کاملی از آن به‌دست نیامده است و به نظر می‌رسد افزایش التهاب و فشار اکسایشی موجب گسترش درد به‌طور حاد و مزمن می‌گردد [۵]. از دیگر عوامل می‌توان به افزایش سطوح فاکتور رشد عصبی (NGF-Nerve growth factor) در مایع سینوویال پس از آسیب به غضروف زانو اشاره کرد که با احساس درد در زانو در ارتباط است. از دیگر نوروپپتیدهایی که در احساس درد OA نقش دارند، می‌توان به نوروپپتیدهایی که توسط ژن‌های مرتبط با کلسیتونین (calcitonin gene-related peptide-CGRP) کد می‌شوند، اشاره کرد [۶]. با توجه به آن‌چه گفته شد، OA در آینده‌ای نزدیک

جامعه مدرن امروزی به‌سوی کاهش تحرک بدنی و به تبع آن افزایش احتمال ابتلا به بیماری‌های حرکتی نظیر استئوآرتریت (Osteoarthritis-OA) پیش می‌رود. در بیماران استئوآرتریتی کاهش توانایی حرکتی و عدم تحرک به‌دنبال بروز درد، با درگیر کردن زانو اثرات ناتوان‌کننده‌تری به‌جای می‌گذارد [۱]. چراکه با ایجاد محدودیت در فعالیت‌های روزانه زندگی، بیماران را در معرض بی‌حرکتی قرار می‌دهد و در نتیجه باعث بروز دیگر مشکلات مرتبط با سلامتی می‌گردد. محدودیت حرکتی می‌تواند به‌عنوان نوعی استرس، اثرات گوناگونی بر سیستم‌های بیولوژیکی داشته باشد. به‌طوری‌که استرس حاد و مزمن ناشی از بی‌حرکتی، سبب القای تغییرات هورمونی و عصبی می‌شود که هم آستانه درد و هم رفتارهای درد را متأثر می‌کند [۲].

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نشانی نویسنده مسئول:

تهران، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه فیزیولوژی ورزشی

تلفن: ۰۹۱۲۱۱۲۴۴۳۴ | دورنویس: ۰۲۱۴۴۸۶۵۱۵۸

پست الکترونیک: m.peeri@iautcb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۷ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱/۴/۵

مواد و روش‌ها

پروتکل طرح توسط کمیته تخصصی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به تصویب رسید (IR.IAU.SARI.REC.1398.133). برای انجام مطالعه تجربی حاضر، تعداد ۴۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۸-۶ هفته‌ای)، با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران - تهران خریداری گردید و به اتاق حیوانات واقع در آزمایشگاه مرکز تحقیقاتی بافت و ژن پاسارگاد تهران انتقال داده شد. متعاقب یک هفته سازگاری با شرایط محیط، موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به دو گروه بیمار استئوآرتریتی ($n=40$) و کنترل سالم ($n=5$) تقسیم شدند. با توجه به مطالعات قبلی [۱۶]، موش‌های مدل استئوآرتریتی به‌صورت تصادفی در ۸ گروه پنج‌تایی شامل کنترل بیمار، MSCs، تمرین هوازی، ازون، تمرین هوازی + ازون، تمرین هوازی + MSCs، ازون + MSCs و تمرین هوازی + ازون + MSCs قرار گرفتند. اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس دستورالعمل بیانیه هلسینکی در تمامی روند پژوهش رعایت شد. موش‌های مورد مطالعه در طی مراحل پژوهش در قفس‌های پلی‌کربنات به ابعاد (۱۵×۱۵×۳۰ سانتی‌متر)، ساخت شرکت انحصاری رازی راد در شرایط آب‌وهوایی کنترل‌شده (دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ و با تهویه مناسب) نگهداری شدند و به‌صورت آزاد از طریق بطری‌هایی به آب مصرفی و غذای استاندارد (روزانه به‌میزان ۱۰ گرم به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، با توجه به وزن‌کشی هفتگی) ساخت شرکت به‌پرور به شکل پلت دسترسی داشتند. باید گفت که با توجه به گستردگی کار، مطالعه حاضر به‌صورت تیمی انجام گرفت. نحوه القای استئوآرتریت: القای OA برگرفته از مطالعه Bove و همکاران [۱۷] به‌روش جراحی صورت گرفت. بدین‌منظور، ابتدا حیوانات با استفاده از ترکیب کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس تحت شرایط استریل یک برش عمودی در بخش داخلی زانوی پای راست، ایجاد گردید. ابتدا پوست و سپس رباط جانبی داخلی (Medial Collateral Ligament-MCL) کنار زده شد تا مینیسک داخلی مشاهده گردد. بعد با ایجاد یک برش که به‌صورت ناقص به پارگی و ایجاد آسیب در مینیسک منجر شود، مدل OA القا شد و مجدداً ناحیه با روش استریل بخیه زده شد. پس از القای مدل پارگی مینیسک داخلی زانو (Medial Meniscus Tear-MMT)، ۳ هفته دوره ریکاوری در نظر گرفته شد و مراقبت‌های مناسب پس از عمل جراحی اعمال گردید. لازم به ذکر است که تمام مراحل کار توسط

یکی از مشکلات عمده قشر وسیعی از جامعه خواهد شد که در حال حاضر درمانی ندارد. تحقیقات انجام‌گرفته حاکی از این است که بین فعالیت ورزشی و آستانه درد ارتباط وجود دارد و تمرینات ورزشی می‌توانند در تغییر آستانه درد اثرگذار باشند [۷]. در این‌راستا، Burrows و همکاران [۸] در مطالعه‌ای گزارش کردند که تمرینات ورزشی سبب افزایش آستانه درد در بیماران استئوآرتریتی شد. در برخی از مطالعات هم به وجود رابطه بین شدت و نوع فعالیت ورزشی با کاهش درد اشاره شده است [۹]. به‌طوری‌که Jones و همکاران [۱۰] بیان کردند که تمرینات هوازی با شدت متوسط تا شدید، تحمل درد را در افراد سالم افزایش می‌دهد. فرهنگ و همکاران [۷] نیز ورزش‌های هوازی را برای افزایش آستانه درد مؤثر می‌دانند. در صورتی‌که Østerås و همکاران [۱۱] تغییر معنی‌داری را در آستانه تحمل درد بیماران استئوآرتریتی پس از تمرینات هوازی مشاهده نکردند. علاوه‌براین، تخریب غضروف در OA به‌طور مستقیم با افزایش سطح سایتوکین‌های التهابی ارتباط دارد، بنابراین استفاده از ترکیباتی که بیان این میانجی‌های التهابی را متوقف می‌سازد، می‌تواند به افزایش آستانه درد منجر گردد. در این‌راستا، تحقیقات انجام‌شده در بررسی مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک در OA نشان داده که ازون‌درمانی می‌تواند با بهبود عوامل التهابی و افزایش میزان اکسیژن بافت، موجب بهبود متابولیسم بافت غضروف شود و درد را کاهش دهد [۱۲]. درحالی‌که برخی مطالعات فقدان اثربخشی آن را بر آستانه درد نشان می‌دهند [۱۳]. امروزه، تزریق سلول‌های بنیادی برای مدیریت درد در OA استفاده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells-MSCs) با بیان سایتوکین‌های ضدالتهابی و تعدیل متابولیسم غضروف به کاهش درد منجر می‌گردند [۱۴]؛ اما در این مورد نیز توافق واضحی وجود ندارد. به‌طوری‌که Schafer و همکاران [۱۵] در مطالعه‌ای گزارش کردند که آلودینیای مکانیکی یا پردردی حرارتی تحت‌تأثیر پیوند MSCs قرار نگرفت. گذشته از اثرات مستقیمی که ممکن است فعالیت بدنی منظم، ازون و MSCs بر درد داشته باشند، این احتمال وجود دارد که تعامل این عوامل به تقویت، کاهش یا تعدیل اثرات درد منجر گردد. بنابراین، با توجه به مطالعات اندک و متناقض و نیز با توجه به این‌که درک درد در شرایط مختلف استرسی، متفاوت می‌باشد؛ پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تمرینات هوازی، ازون و MSCs بر تغییرات آستانه درد در موش‌های نر صحرایی مبتلا به OA با استفاده از آزمون صفحه داغ انجام گرفت.

جدول شماره ۱ ارائه شده است. همچنین، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد. گروه کنترل سالم نیز همزمان با گروه تمرینی و با مدت مشابه با آن‌ها، در معرض نوار گردان خاموش قرار گرفتند.

دامپزشک و دستیار انجام گرفت. نحوه اجرای پروتکل تمرینی: پس از ۳ هفته القای OA، موش‌های گروه‌های تمرین با دویدن روی نوار گردان ویژه چوندگان (۸کاناله)، ساخت شرکت تجهیزگستر امید ایرانیان) به مدت ۱ هفته با آن آشنا شدند. سپس، پروتکل تحقیق براساس مطالعه Liu و همکاران [۱۸] آغاز شد که جزئیات آن در

جدول شماره ۱- پروتکل تمرینی در طول ۸ هفته

عوامل تمرینی	سازگاری	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶	هفته ۷	هفته ۸
سرعت نوار گردان (متر / دقیقه)	۵-۸	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
مدت تمرین در هر جلسه (دقیقه)	۱۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
زاویه شیب (درجه)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
تکرار (روز در هفته)	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳

حاصل شود. غلظت آن با استفاده از اشعه ماوراء بنفش در ۲۵۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. در گروه‌های درمان با ازون، ۳ هفته پس از جراحی، در ۳ تکرار، در زمان‌های مختلف و به مدت ۳ هفته متوالی قبل از شروع برنامه تمرینی برای هر موش به میزان ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در خط مفصلی تیبیوفمورال تزریق گردید [۲۱]. به علاوه، در گروه ازون + MSCs بعد از تزریق ازون و در هفته چهارم تزریق MSCs به‌عنوان یک‌بار تزریق با دوز 1×10^6 سلول بر کیلوگرم اعمال شد.

آزمون صفحه داغ: این آزمون ۴۸ ساعت پس از تیمار و توسط یک فرد به جهت کاهش اشتباهات انسانی انجام گرفت. برای کاهش استرس، یک روز قبل از آزمون به مدت ۳ دقیقه بر روی صفحه داغ خاموش قرار داده شدند. در روز آزمون، درجه گرمای صفحه در ۵۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و حیوان بر روی صفحه داغ قرار گرفت و زمان سنج روشن شد. زمانی که حیوان شروع به لیسیدن پاهای جلویی و یا بالابردن پاهای عقبی کرد، فوراً ثبت زمان متوقف و حیوان از دستگاه خارج شد. در صورت عدم واکنش حیوان در برابر درد، بعد از ۳۰ ثانیه آزمایش خاتمه یافت [۲۲]. روش‌های آماری: کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ و از طریق آزمون‌های Shapiro-Wilk (به‌منظور بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها)، t مستقل (Independent samples t-test)، و variance Bonferroni مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

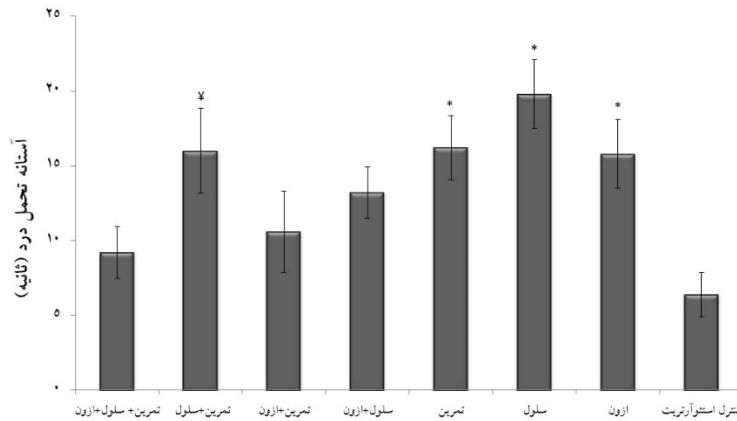
نتایج

ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون آماری Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت که نتایج این بررسی

تهیه و کشت سلولی: در این مطالعه، سلول‌های رده بنیادی مزانشیمی مغز استخوان از مرکز ملی ذخایر ژنتیک تهیه شدند و به انکوباتور منتقل گردیدند. بعد از ۲ روز، محیط رویی خارج شد و پس از شستشو با PBS، محیط DMEM/F12 گرم و تازه به آن اضافه گردید. سلول‌ها از نظر مورفولوژی و روند رشد، مورد بررسی کیفی قرار گرفتند. محیط سلول‌ها هر ۲-۳ روز یک‌بار به مدت حدود ۲ هفته تعویض شد تا سلول‌ها در هر گروه به تراکم مناسب رسیدند. سپس پاساژ اول صورت گرفت، بدین ترتیب که سلول‌ها با استفاده از ۰/۲٪ Trypsin/EDTA (Gibco, Germany) از کف ظروف کشت کنده و به نسبت ۳ به ۱ کشت داده شدند. در حدود ۱۵-۱۰ روز پس از هر پاساژ، پاساژ بعدی انجام شد. این سلول‌ها پس از پر کردن کف ظرف کشت و رسیدن به تراکم ۹۰٪، در پاساژ موردنظر منجمد شدند تا جهت اهداف تزریقی مورد استفاده قرار گیرند. بررسی درصد زنده‌مانی سلول‌های بنیادی و تزریق داخل مفصلی MSCs: برای تعیین درصد سلول‌های زنده رنگ‌آمیزی تریان‌بلو انجام شد. برای تشخیص MSCs جداشده از بافت مغز استخوان از فلوسایتومتری و به‌منظور تعیین هویت سلول‌ها از آنتی‌بادی‌های اختصاصی CD₉₀ و CD₄₅ استفاده شد [۱۹]. در نهایت، سلول‌ها با بقای ۹۸ درصد، برای هر موش تعداد 1×10^6 سلول بر کیلوگرم وزن بدن آماده‌سازی و پس از بیهوشی کامل حیوان در گروه‌های درمان با MSCs در طی دوره ریکاوری (۳ هفته پس از جراحی) به‌عنوان یک‌بار تزریق در محل القای مدل، تزریق شدند [۲۰]. تهیه و تزریق داخل مفصلی ازون: ازون از اکسیژن پزشکی درجه ۲ توسط دستگاه Ozomed 01 ساخته شد و توسط یک تخلیه الکتریکی با شدت کم تولید گردید. سپس، سرنگ ۱۰ میلی‌لیتری به خروجی ژنراتور وصل شد و ۱۰ میلی‌لیتر از گاز تولیدشده به‌کار گرفته شد تا ازون با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

جدول شماره ۴- نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی بر سطوح آستانه تحمل درد در گروه‌های تمرین، ازون، MSCs و کنترل

متغیر	گروه	گروه‌ها	میانگین تفاوت‌ها	خطای انحراف	P
آستانه تحمل درد	تمرین	کنترل	-۶/۳۵۰	۱/۰۰۱	۰/۰۰۱
	ازون	کنترل	-۷/۹۵۰	۱/۰۰۱	۰/۰۰۰۱
	MSCs	کنترل	-۳/۲۵۰	۱/۰۰۱	۰/۰۰۳



نمودار شماره ۲- تغییرات سطوح آستانه تحمل درد (ثانیه) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است (* نشانه اثر معنی‌دار بر افزایش سطح آستانه تحمل درد و † نشانه اثرات تعاملی معنی‌دار بر افزایش سطح آستانه تحمل درد).

بحث

به علت ناکافی بودن مدت زمان تمرین و یا مبتلا بودن نمونه‌های این پژوهش به درد نوروپاتی باشد. هرچند در مطالعه Østerås و همکاران [۱۱] نیز تغییر معنی‌داری در آستانه تحمل درد بیماران استئوآرتریتی پس از تمرینات هوازی مشاهده نشد که علت این امر ناشی از کوچکی جامعه آماری بوده است. افزایش آستانه تحمل درد و کاهش حساسیت به درد در حین تمرین و بعد از آن می‌تواند ناشی از کاهش حساسیت به محرک‌های درد یا پدیده هایپوآلژزی (hypoalgesia) باشد [۲۶]. هایپوآلژزی درد و سطح نورون‌های مرکزی و نخاعی در حین تمرینات ورزشی فعال می‌شود. یکی از مکانیسم‌های مطرح‌شده هایپوآلژزی در حین تمرین را می‌توان با مسدود شدن نورون‌های حسی درد با آزاد شدن اپیوئیدها مرتبط دانست [۲۷]. مکانیسم بالقوه مطرح دیگر پس از تمرینات ورزشی، تعامل بین تنظیم درد مرکزی و سیستم قلبی - عروقی است. کنترل درد و فشار خون بر عهده نورون‌های یکسانی در ساقه مغز است و نوروترانسمیترهای یکسانی آن‌ها را کنترل می‌کنند [۲۸]. سومین مکانیسم احتمالی را می‌توان ناشی از اثر تحریکی هایپوآلژزی [۲۶] و کنترل نورون‌های وایران مسیره‌های نخاعی دانست [۲۸]. همسو با نتایج این مطالعه، Mishra و همکاران [۲۹] به بررسی تأثیر ازون‌تراپی بر احساس درد و آستانه تحمل درد در OA زانو پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که تزریق ازون تأثیرات بهتری نسبت به متیل پردنیزولون در تسکین درد، آستانه تحمل درد و کاهش ناتوانی ناشی از بیماری داشت. علاوه‌براین، Xu و

مطالعه حاضر جهت بررسی اثرات تمرینات هوازی، ازون و MSCs بر تغییرات آستانه تحمل درد با استفاده از آزمون صفحه داغ در موش‌های نر صحرایی مدل OA انجام گرفت. نتایج پژوهش نشان داد که ایجاد مدل استئوآرتریتی با کاهش معنی‌دار آستانه تحمل درد در موش‌های صحرایی همراه است. بخشی از نتایج این پژوهش با یافته‌های Kuni و همکاران [۲۳] که اظهار کردند OA به کاهش آستانه تحمل درد منجر می‌گردد و Shetty و همکاران [۲۴] که با استفاده از آزمون صفحه داغ بر روی مدل حیوانی کاهش آستانه تحمل درد را در گروه کنترل بیمار گزارش کردند؛ همسو می‌باشد. علاوه‌براین، نتایج مطالعه حاضر مشخص کرد که در گروه‌های بیمار تحت سلول‌درمانی، ازون‌درمانی و تمرین، آستانه تحمل درد افزایش یافت. همسو با نتایج پژوهش حاضر، فرهنگ و همکاران [۷] با بررسی اثر تمرینات هوازی و مقاومتی بر تغییرات آستانه تحمل درد التهابی بیان کردند که در گروه تمرین هوازی افزایش آستانه تحمل درد در موش‌ها بیشتر بود و توانایی تحمل درد بیشتری داشتند. در مطالعه Burrows و همکاران [۸] نیز تمرینات ورزشی سبب افزایش آستانه تحمل درد در بیماران استئوآرتریتی گردید، اما ممکن است این اثر با توجه به پیچیدگی مکانیسم درد و ویژگی‌های فردی بیمار متفاوت باشد. در تضاد با این یافته‌ها، Cobianchi و همکاران [۲۵] نشان دادند که تمرین دوییدن طولانی می‌تواند باعث کاهش آستانه تحمل درد در موش‌های صحرایی گردد. البته این مغایرت می‌تواند

همسو با نتایج Gupta و همکاران [۳۵] است که گزارش کردند به دلیل محدود بودن فضای مفصل زانو، تزریق بیش از حد محلول و سلول‌های زیاد می‌تواند اثرات نامطلوبی مانند درد مفاصل و تورم ایجاد کند. علاوه بر این، ممکن است تزریق‌های متعدد واکنش‌های نامطلوب را کاهش و اثر را در مقایسه با یک تزریق واحد از تعداد سلول‌های بالا افزایش دهد [۳۶]؛ با این حال، تحقیقات در این زمینه محدود است که می‌تواند مشوقی برای انجام تحقیقات در آینده باشد. در ادامه، کاربرد توأم تمرین + MSCs اثر معنی‌داری بر افزایش آستانه درد داشت. از آنجایی که تمرین + MSCs بیشترین هم‌افزایی را در افزایش توان تحمل درد نشان دادند، این احتمال وجود دارد که مکانیسم‌های درگیر در هایپوآلژزی در تمرینات ورزشی و تزریق سلول‌های بنیادی نقاط مشترک بسیاری داشته و یا در مکانیسم‌ها و سیگنال‌های سلول - مولکولی در تعامل با یکدیگر باشند. هرچند نیاز به مطالعات دقیق‌تری در این زمینه وجود دارد. با وجود نقش هر یک از مداخلات مذکور در درد، احتمال همپوشانی دوز ضددردی این مداخلات با دوزی که بر عملکرد حرکتی تأثیر می‌گذارد، وجود دارد. از طرفی، با توجه به اثر هم‌افزایی تمرین + MSCs پیشنهاد می‌شود که تعامل مکانیسم‌های درگیر در این بیماری و تأثیر تمرین + درمان‌های سلولی بر جنبه‌های مختلف درد و جنبه‌های ساختاری و التهاب مفصل در مدل‌های متعدد OA (به‌ویژه مدل MIA) و با تزریقات مکرر برای رسیدن به این اهداف در پژوهش‌های آتی بررسی گردد. گفتنی است که به دلیل وجود فنوتیپ‌های مختلف درد و مکانیسم‌های گوناگون آن، از جمله مسیرهای التهابی و نوروپاتیک، درد پدیده‌ای پیچیده است که در مطالعه حاضر به دلیل کمبود بودجه پژوهش فقط یکی از پارامترهای مستقیم ارزیابی درد مورد مطالعه قرار گرفت و از سایر شیوه‌های سنجش درد نظیر آزمون فرمالین و پس کشیدن دم موش استفاده نشد و جزء محدودیت‌های پژوهش بود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که بین OA با آستانه درد ارتباط وجود دارد و انجام تمرین، تزریق ازون و MSCs، دارای خواص ضددرد می‌باشد و افزایش آستانه درد ممکن است به کاهش درد ناشی از القای OA در مدل صفحه داغ منجر گردد؛ اما تعامل تمرین + MSCs در افزایش آستانه درد و تعدیل درد مؤثرتر بود که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این نوع مداخله بر افزایش تحمل درد در OA می‌باشد.

تشکر و قدردانی

همکاران [۳۰] نشان دادند که تزریق داخل مفصلی ازون در مدل OA ناشی از تزریق منویدواستات (MIA) می‌تواند رفتارهای مرتبط با درد را کاهش دهد. هرچند در مطالعه Saad و همکاران [۱۳] تفاوت معنی‌داری در اثربخشی ازون و کاهش درد وجود نداشت که علت آن می‌تواند به دلیل فرسایش اعصاب ژنیکولار با فرکانس رادیویی در بیماران مبتلا به OA زانو باشد. تصور بر این است که مکانیسم ضددرد ازون، از تحریک دستگاه ضددرد (Antinociceptive) که توسط اوپیئوئیدهای اندوژن و سروتونین فعال می‌شود، می‌تواند آستانه درد را بالا ببرد [۳۱]. به علاوه، ویژگی‌های ضدالتهابی ازون می‌تواند با کاهش ادم و تورم مفصل و فشار بر ساختارهای عصبی همراه باشد که خود در کاهش درد، اکسیژن‌رسانی بهتر بافتی و افزایش واسکولاریزاسیون (به دنبال رگ‌زایی جدید) مؤثر باشد و تغذیه موضعی بافت و ظرفیت بازدارنده متابولیت‌های التهابی را بهبود بخشد که عامل مؤثری در کاهش احساس درد و افزایش توان تحمل درد به حساب می‌آید [۳۲]. علاوه بر این، همسو با نتایج مطالعه حاضر، Lopa و همکاران [۳۳] در مطالعه متاآنالیز نشان دادند که تزریق MSCs به زانوی بیماران استئوآرتریتی به‌طور معنی‌داری در اکثر مطالعات موجب کاهش درد و افزایش آستانه درد شد. چراکه MSCs به واسطه عملکرد پاراکراین قوی که دارند می‌توانند از طریق تنظیم فرآیندهای ایمنی و التهابی در سیستم عصبی مرکزی و محیطی، سبب کنترل حس درد و افزایش توان تحمل درد در بیماری‌های ایجادکننده دردهای مزمن شوند. با این حال، Schafer و همکاران [۱۵] در مطالعه‌ای گزارش کردند که پیوند MSCs اثر ضددرد یا ضدالتهابی نشان نداد. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند که به دلیل گرفتار شدن احتمالی سلول‌های پیوندی، تزریق داخل نخاعی مسیر مناسبی برای تحویل سلول‌ها برای درمان التهاب و کاهش رفتارهای درد نمی‌باشد که نحوه تزریق می‌تواند دلیل اختلاف با مطالعه حاضر باشد. هرچند اطلاعات درمورد چگونگی مکانیسم اثر MSCs بر آستانه تحمل درد به‌طور دقیق مشخص نیست؛ اما به نظر می‌رسد که ترکیبی از تعاملات سلول - سلول بین MSCs با سلول‌های ایمنی، سلول‌های گلیال و سلول‌های عصبی و رهاسازی بسیاری از عوامل محلول در مایعات زیستی بدن در کنترل درد نقش داشته باشد [۳۴]. یکی دیگر از عوامل دخیل در تأثیر MSCs می‌تواند زمان تزریق باشد که در مطالعه حاضر سه هفته پس از القای OA انجام گرفت. از طرفی، ممکن است انواع سلول‌ها، تعداد سلول‌ها، روش‌های کشت سلولی بر اثر درمانی مؤثر باشند. با توجه به این که دوزهای سلولی کمتر از ۳۰ میلیون سلول، درد و عملکرد را به بهترین شکل بهبود می‌بخشند [۱۴]؛ بنابراین بخشی از مطالعه حاضر

References:

- [1] Thomas E, Peat G, Mallen C, Wood L, Lacey R, Duncan R, et al. Predicting the course of functional limitation among older adults with knee pain: do local signs, symptoms and radiographs add anything to general indicators? *Ann Rheum Dis* 2008; 67(10): 1390-8.
- [2] Ford GK, Finn DP. Clinical correlates of stress-induced analgesia: evidence from pharmacological studies. *Pain* 2008; 140(1): 3-7.
- [3] McCarberg BH, Billington R. Consequences of neuropathic pain: quality-of-life issues and associated costs. *Am J Manag Care* 2006; 12(9): 263-8.
- [4] Mohammadi F, Mohammadkhani P, Dolatshahi B, Asghari MA. The effects of "mindfulness meditation for pain management" on the severity of perceived pain and disability in patients with chronic pain. *Sija* 2011; 6(1): 59-66. [in Persian]
- [5] Yuan XC, Zhu B, Jing XH, Xiong LZ, Wu CH, Gao F, et al. Electroacupuncture potentiates cannabinoid receptor-mediated descending inhibitory control in a mouse model of knee osteoarthritis. *Front Mol Neurosci* 2018; 11(112): 1-15.
- [6] Syx D, Tran PB, Miller RE, Malfait A-M. Peripheral mechanisms contributing to osteoarthritis pain. *Curr Rheumatol Rep* 2018; 20(2): 9.
- [7] Farhang D, Talebi N, Hasan pour Ezzati M. Comparison of the effects of aerobic and resistance training on changes in inflammatory pain threshold in male rats. *Feyz* 2021; 25(3): 987-93. [in Persian]
- [8] Burrows NJ, Booth J, Sturnieks DL, Barry BK. Acute resistance exercise and pressure pain sensitivity in knee osteoarthritis: a randomised crossover trial. *Osteoarthr Cartil* 2014; 22(3): 407-14.
- [9] Juhl C, Christensen R, Roos EM, Zhang W, Lund H. Impact of exercise type and dose on pain and disability in knee osteoarthritis: a systematic review and meta-regression analysis of randomized controlled trials. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66(3): 622-36.
- [10] Jones MD, Booth J, Taylor JL, Barry BK. Aerobic training increases pain tolerance in healthy individuals. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46(8): 1640-7.
- [11] Østerås H, Paulsberg F. The effect of medical exercise therapy on pressure sensitivity in patients with knee osteoarthritis: a cohort pilot study. *Pain Ther* 2019; 8(1): 79-87.
- [12] Cuadros ME, Moro OS, Florin MJ, Canelo JA. Ozone improves pain, function and quality of life in patients with knee osteoarthritis: A prospective quasi-experimental before-after study. *Middle East J Rehabil Health* 2017; 4(1): 418-21.
- [13] Saad SI, Elrabiey MA, Elazzazi HM, Shaboob EA, Elbagoury ZM. Comparison of efficacy of radiofrequency alone or steroid or ozone intra-articular after radiofrequency ablation of genicular nerves in patients with chronic pain due to knee osteoarthritis: A prospective, randomized, controlled clinical trial. *Benha J Appli Sci* 2021; 6(6): 119-25.
- [14] Wang J, Zhou L, Zhang Y, Huang L, Shi Q. Mesenchymal stem cells-a promising strategy for treating knee osteoarthritis: a meta-analysis. *Bone Joint Res* 2020; 9(10): 719-28.
- [15] Schäfer S, Berger JV, Deumens R, Goursaud S, Hanisch UK, Hermans E. Influence of intrathecal delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on spinal inflammation and pain hypersensitivity in a rat model of peripheral nerve injury. *J Neuroinflammation* 2014; 11(1): 1-5.
- [16] Kaya A, Sonmez M, Kar T, Haholu A, Yildirim Y, Müftüoğlu T, et al. Efficiency of ozone therapy in a rat model of experimental uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2017; 25(5):700-5.
- [17] Bove SE, Laemont KD, Brooker RM, Osborn MN, Sanchez BM, Guzman RE, et al. Surgically induced osteoarthritis in the rat results in the development of both osteoarthritis-like joint pain and secondary hyperalgesia. *Osteoarthr Cartil* 2006; 14(10): 1041-8.
- [18] Liu SS, Zhou P, Zhang Y. Abnormal expression of key genes and proteins in the canonical Wnt/ β -catenin pathway of articular cartilage in a rat model of exercise-induced osteoarthritis. *Mol Med Rep* 2016; 13(3): 1999-2006.
- [19] Rezaie M, Azarbayjani MA, Peeri M, Hosseini SA. The effect of aerobic exercise with ozone and stem cell on anandamide concentration in desert rat with osteoarthritis. *Feyz* 2022; 26(1): 38-46. [in Persian]
- [20] Li M, Luo X, Lv X, Liu V, Zhao G, Zhang X, et al. In vivo human adipose-derived mesenchymal stem cell tracking after intra-articular delivery in a rat osteoarthritis model. *Stem Cell Res Ther* 2016; 7(1): 1-3.
- [21] Lopes de Jesus CC, Dos Santos FC, de Jesus LM, Monteiro I, Sant'Ana MS, Trevisani VF. Comparison between intra-articular ozone and placebo in the treatment of knee osteoarthritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *PloS One* 2017; 12(7): 179-85.
- [22] Zarmehri HA, Haidari-Oranji N, Soleimani NE, Sofiabadi MO. Effects of lidocaine injections into the rostral ventromedial medulla on nociceptive behaviours in hot-plate and formalin tests in rats. *Koomesh* 2013; 14(4): 490-96. [in Persian]
- [23] Kuni B, Wang H, Rickert M, Ewerbeck V, Schiltewolf M. Pain threshold correlates with

functional scores in osteoarthritis patients. *Acta Orthopaedica* 2015; 86(2): 215-9.

[24] Shetty YC, Singh VK, Manjesh PS, Nagarajan VB, Patil P, Chawda M, et al. Evaluation of the effect of an ayurvedic formulation Myostaal Forte tablets on chondroprotective biomarkers in an experimental model of osteoarthritis in rats. *Phytomedicine Plus* 2021;1(3):1000-82.

[25] Cobianchi S, Marinelli S, Florenzano F, Pavone F, Luvisetto S. Short-but not long-lasting treadmill running reduces allodynia and improves functional recovery after peripheral nerve injury. *Neurosci* 2010; 168(1): 273-87.

[26] Cunha CO, Pinto-Fiamengui LM, Sampaio FA, Conti PC. Is aerobic exercise useful to manage chronic pain? *Revista Dor* 2016; 17(1): 61-4.

[27] Naugle KM, Naugle KE, Fillingim RB, Samuels B, Riley III JL. Intensity thresholds for aerobic exercise-induced hypoalgesia. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46(4): 817.

[28] Naugle KM, Fillingim RB, Riley III JL. A meta-analytic review of the hypoalgesic effects of exercise. *J pain* 2012; 13(12): 1139-50.

[29] Mishra SK, Pramanik R, Das P, Das PP, Palit AK, Roy J, et al. Role of intra-articular ozone in osteo-arthritis of knee for functional and symptomatic improvement. *Ind J Phys Med Rehabil* 2011; 22(2): 65-9.

[30] Xu W, Zhao X, Sun P, Zhang C, Fu Z, Zhou D. The effect of medical ozone treatment on cartilage chondrocyte autophagy in a rat model of osteoarthritis. *Am J Transl Res* 2020; 12(9): 59-67.

[31] Hashemi M, Nabi BN, Saberi A, Sedighinejad A, Haghighi M, Farzi F, et al. The comparison between two methods for the relief of knee osteoarthritis pain: Radiofrequency and intra-periarticular ozone injection: A clinical trial study. *Int J Med Res Health Sci* 2016; 5(7): 539-46.

[32] Calunga JL, Menéndez S, León R, Chang S, Guanche D, Balbín A, Zayas J, García P. Application of ozone therapy in patients with knee osteoarthritis. *Ozone: Sci Engineering* 2012; 34(6): 469-75.

[33] Lopa S, Colombini A, Moretti M, de Girolamo L. Injective mesenchymal stem cell-based treatments for knee osteoarthritis: from mechanisms of action to current clinical evidences. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2018; 27(6): 2003-20.

[34] Hua Z, Liu L, Shen J, Cheng K, Liu A, Yang J, et al. Mesenchymal stem cells reversed morphine tolerance and opioid-induced hyperalgesia. *Scientific reports* 2016; 6(1): 1-13.

[35] Gupta PK, Chullikana A, Rengasamy M, Shetty N, Pandey V, Agarwal V, et al. Efficacy and safety of adult human bone marrow-derived, cultured, pooled, allogeneic mesenchymal stromal cells (Stempeucel®): preclinical and clinical trial in osteoarthritis of the knee joint. *Arthritis Res Ther* 2016; 18(1): 1-8.

[36] Matas J, Orrego M, Amenabar D, Infante C, Tapia-Limonchi R, Cadiz MI, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells (MSCs) for knee osteoarthritis: repeated MSC dosing is superior to a single MSC dose and to hyaluronic acid in a controlled randomized phase I/II trial. *Stem Cells Transl Med* 2019; 8(3): 215-24.