

## ساختار ملکولی وتر خم‌کننده عمقی بندهای انگشت اسب پس از درمان موارد تجربی جراحی توسط

### بتآمینو پروپیونیتریل فومارات (BAPN-f)

دکتر کامران سرداری<sup>۱</sup> دکتر ایرج نوروزیان<sup>۲</sup>

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۲، ۶۳-۵۹، (۱۳۸۰)

در منابع بسیاری به نقش ماده زمینه‌ای خارج سلولی (Extracellular matrix) و نحوه ارتباطات عرضی (Cross-linking) الیاف کلاژن در روند ترمیم اشاره شده است، در این بین نقش مثبت ماده زمینه‌ای خارج سلولی در کمک به تولید الیاف کلاژن در التیام و ترمیم و نقش ضدالتهابی برخی از ماکرومولکولهای موجود در این ماده ثابت شده است (۲۳، ۲۲، ۲۰، ۲).  
جدا از نقش بسزای ماده زمینه‌ای در التیام و ترمیم، تولید زود هنگام ارتباطات عرضی از نوع کووالانسی (HP & LP Crosslinking) و بخصوص نوع HP آن بین الیاف کلاژن نوع III در روند ترمیم، مانع بلوغ این الیاف خواهد شد، و وتر التیام یافته هرگز توانایی قبلی خود را به دست نخواهد آورد.  
بتآمینوپروپیونیتریل فومارات (BAPN-f) به‌عنوان یک ماده شیمیایی دارای یک نیتریل فعال با توانایی جلوگیری از تولید بافت اسکار مطرح می‌باشد. BAPN-f با ممانعت از عمل آنزیم لیزیل اکسیداز (Lysyl Oxidase) مانع جدا شدن قسمت آمینو اسید آمینه لیزین شده و در واقع با این عمل از تولید ارتباطات عرضی بین الیاف کلاژن بخصوص از نوع HP ممانعت می‌شود (۲۱، ۱۷، ۶).

از لحاظ تئوری ممانعت از تولید این ارتباطات عرضی در ابتدای روند التیام این فرصت را فراهم خواهد کرد تا الیاف کلاژن از نوع III که در ابتدای روند التیام تولید می‌شوند بلوغ لازم را پیدا کرده و ارتباطات عرضی زود هنگام مانع از بلوغ این الیاف نشود (۱۷ و ۶).

محققین بسیاری به نقش BAPN-f در التیام و ترمیم اشاره کرده و تقریباً به‌طور درمناگهی اثرات بسیار مثبت BAPN-f در موارد تورم و وتر حاد و تحت‌حاد به اثبات رسیده است (۲۱ و ۱).

با توجه به اهمیت تورم و وتر در اسب و یافته‌های درمناگهی سایر محققین و نیز دستیابی به شیوه‌ای مطمئن، ساختار ملکولی و وتر خم‌کننده عمقی بندهای انگشت اسب متعاقب درمان موارد تجربی جراحی و تر توسط دوز درمانی بتآمینوپروپیونیتریل فومارات با نمونه‌های شاهد مورد مقایسه قرار گرفته است.

#### مواد و روش کار

مطالعه فوق روی ۸ رأس اسب دوخون بظاهر سالم با میانگین سنی ۷ سال و میانگین وزن ۳۲۰ کیلوگرم انجام گرفت. اسبها در باکسهای جداگانه در شرایط یکسان با دسترسی کافی به علوفه و آب نگهداری شدند، انگل‌زدایی با استفاده از خمیر رینتال ۱۵ روز قبل از شروع تحقیق در کلیه اسبها انجام شد. اسبها به‌صورت تصادفی به دو گروه ۴ رأسی تقسیم و به شرح زیر عمل گردید.

**ایجاد جراحی در وتر خم‌کننده عمقی بندهای انگشت (DDF-T) :** با استفاده از ترکیب دیازپام (Diazepam) ۰/۲ میلیگرم، زایلازین هیدروکلراید (Xylazine HCl) ۱/۱ میلیگرم و کتامین هیدروکلراید (Ketamin HCl) ۲/۲ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوشی عمومی در حیوانات ایجاد شد. سپس در حالت خوابیده به پهلو راست، ناحیه کف دستی هر اندام قدامی چپ تراشیده و برای جراحی در شرایط کاملاً استریل آماده شد. سپس با ایجاد برشی

بتآمینوپروپیونیتریل فومارات (BAPN-f) یک ماده شیمیایی با اثرات قوی ضدبافت اسکار می‌باشد. این ماده شیمیایی به‌واسطه ممانعت آنزیمی از ایجاد ارتباطات عرضی بین الیاف کلاژن بویژه HP (HP Crosslinking) جلوگیری می‌کند. تاکنون تأثیر این ماده شیمیایی بر ساختار ملکولی و تر خم‌کننده عمقی بندهای انگشت در اسب گزارش نشده است. اما گزارشهای اندکی دال بر اثرات مثبت این ماده شیمیایی در التیام و ترمیم و ترهای حاد و تحت حاد وجود دارد. در این مطالعه اثرات بتآمینوپروپیونیتریل فومارات بر ساختار ملکولی و تر به میزان ۰/۹ میلیگرم در هر میلی‌لیتر دارو در جراحات تجربی و ترهای خم‌کننده اسب در مقایسه با اثرات التیامی سرم فیزیولوژی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این تحقیق تعداد ۸ رأس اسب دورگ به ظاهر سالم با میانگین سنی ۷ سال و میانگین وزن ۳۲۰ کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفتند، تحت بیهوشی عمومی و با روش Splitting به‌صورت زیگ‌زاگ جراحی در طول ۳ سانتیمتر وتر خم‌کننده عمقی یک اندام قدامی در هر اسب ایجاد، سپس اسبها به‌صورت تصادفی به دو گروه ۴ رأسی تقسیم شدند و به ترتیب BAPN-f ۰/۹ میلیگرم در هر میلی‌لیتر و NaCl ۰/۹ درصد را به‌صورت تزریق داخل تری دریافت نمودند، عمل تزریق داخل تری به‌صورت یک روز در میان برای ۵ نوبت متوالی تکرار شد. شصت روز پس از آخرین تزریق داخل تری اسبها معدوم و به شکل متعارف نمونه‌های لازم جهت آنالیز بیوشیمیایی از وتر خم‌کننده دست مورد مطالعه هر اسب اخذ شد. در مطالعه بیوشیمیایی میزان DNA به‌دست آمده در بین دو گروه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $P < 0/05$ ). اما مقدار PSGAGs و کلاژن در گروه دریافت‌کننده BAPN-f به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0/05$ ). در این بین مقدار ارتباطات عرضی از نوع HP در حیوانات دریافت‌کننده BAPN-f نیز به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه، تزریق داخل تری و تر BAPN-f به میزان ۰/۹ میلیگرم در میلی‌لیتر قویاً مانع ارتباطات عرضی از نوع HP در ابتدای روند التیام بین الیاف کلاژن شده و به‌طور معنی‌داری به التیام و ترها کمک می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اسب، تورم و تر، بتآمینوپروپیونیتریل، کلاژن، ارتباطات عرضی. دومین عامل لنگش در اسب پس از ضایعات ناحیه سم جراحیات و ترها می‌باشد (۹ و ۷). در بین تئوریهای عنوان‌شده در مورد پاتوژنز تورم و ترها، تئوری نقش ترمیمات سخت حیوان در ابتدای زندگی و قبیل از بلوغ و همچنین نقش ارتباطات عرضی زود هنگام در ابتدای روند ترمیم جراحیات و ترها بیشتر مدنظر محققین می‌باشد (۲۲ و ۱۴).

شرایط التیام در و ترها جدا از حالت کلاسیک التیام در سایر بافت‌های همبند نمی‌باشد، اما به‌دلیل ساختار خورنسانی به این عضو و تمایل شدید الیاف نابالغ و تازه تشکیل شده در ابتدای روند ترمیم به ایجاد ارتباطات عرضی غیرقابل برگشت، التیام در و ترها نیاز به زمان بسیار طولانی‌تری نسبت به سایر بافت‌های همبند دارد و همین امر سبب بروز مشکلات فراوان در التیام و ترها شده است (۲۰ و ۲).

۱) گروه آموزشی علوم درمناگهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد - ایران.

۲) گروه آموزشی علوم درمناگهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.



جدول ۱ - مقادیر PSGAGs، DNA، کلاژن و ارتباطات عرضی از نوع HP در گروه‌های مورد آزمایش (اعداد به همراه SE)

Statistical Significance	گروه‌های مورد آزمایش		پارامترهای بیوشیمیایی
	BAPN-f	NaCl	
NS	۱/۶۰ ± ۰/۰۴	۱/۵۸ ± ۰/۰۲	(mg % dry Wt) DNA
S	۱۲/۱۷ ± ۰/۵	۱۰/۹۰ ± ۰/۴۵	(mg % dry Wt) PSGAGs
S	۷۵/۱ ± ۱/۳	۶۹/۶۳ ± ۰/۷۶	(mg % dry Wt) Collagen
S	۰/۵۱ ± ۰/۰۳	۰/۹۳ ± ۰/۰۱	(mole per triple helix) HP- Cross linking

(NS اختلاف معنی‌دار وجود ندارد، SE خطای انحراف معیار، S اختلاف معنی‌دار وجود دارد.)

اندازه‌گیری PSGAGs از روش تغییر شکل یافته اندازه‌گیری ۱-۹ دی‌متیل‌متیلن‌بلو (DMMB) که توسط Farendal و همکاران در سال ۱۹۸۶ شرح داده شده است استفاده شد (۱۲).

مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول هضم‌شده در Papain به ۱۰۰ میکرولیتر سرم آلبومین گاوی ۳ درصد اضافه و کمپلکس قابل حل GAG-DMMB به دست آمد، به محلول به دست آمده، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول Farendal اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اطاق نگهداری شد. کمپلکس GAG-DMMB توسط روش اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این روش از منحنی کندروئیتین سولفات کوسه ماهی (Shark Chondroitin Sulphat) بعنوان شاهد استفاده شد.

۳ - اندازه‌گیری میزان کلاژن و ارتباطات عرضی الیاف کلاژن: برای اندازه‌گیری کلاژن و ارتباطات عرضی از نوع HP بین الیاف کلاژن ابتدا مقداری از نمونه منجمد شده و ترها برای ۲۴ ساعت به صورت لیوفلیزه نگهداری و وزن خشک آن محاسبه شد. نمونه فوق به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد با استفاده از اسید کلریدریک ۶ مول در لیتر هیدرولیز شد. نمونه فوق پس از خشک‌شدن در آب حاوی ۱۰ میکرومول در لیتر پیریدوکسین (Pyridoxine) بعنوان استاندارد داخلی برای ارتباطات عرضی و ۲/۴ میلی‌مول در لیتر هموارژنین (Homoarginine) بعنوان استاندارد داخلی برای اسید آمینه، مجدداً حل شد. محلول به دست آمده توسط محلول ۰/۵ درصد اسید هپتافلوروبوتیریک (Heptafluorobutyric acid) در ۱۰ درصد استونیتریل (Acetonitril) جهت اندازه‌گیری ارتباطات عرضی برای ۵ بار رقیق شد. سپس ارتباطات عرضی HP (Hydroxylysyl Pyridinolin) با استفاده از کروماتوگرافی در مایع اندازه‌گیری شد. این روش توسط Bank و همکاران در سال ۱۹۹۶ شرح داده شده است (۳ و ۴).

محلول رقیق‌شده برای اندازه‌گیری ارتباطات عرضی برای ۵۰ بار مجدد توسط محلول ۰/۱ مول در لیتر سدیم بورات بافر با pH = ۸ رقیق شد و میزان اسیدهای آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین بعنوان معیار اندازه‌گیری الیاف کلاژن توسط فاز معکوس کروماتوگرافی در مایع اندازه‌گیری شد. این روش توسط Kim و همکاران در سال ۱۹۹۶ شرح داده شده است (۱۹).  
مطالعه آماری: تمام مطالعه آماری توسط نرم‌افزار SPSS 7.5 (SPSS, Inc. Chicago IL, USA) تحت Windows انجام گرفت. میانگین تمام گروه‌های مورد آزمایش توسط روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و براساس  $P < 0.05$  مورد مطالعه قرار گرفتند.

### نتایج

**DNA:** میزان DNA در نمونه‌های اخذ شده بعنوان معیار تولید سلول‌های جدید (Cellularity) مورد آزمایش قرار گرفت، این میزان برحسب میلیگرم

به طول ۵ سانتیمتر پس از نمایان‌شدن وتر خم‌کننده عمقی بندهای انگشت (DDF-T)، با استفاده از روش Splitting به صورت زیگ‌زاگ (Zig-Zag) جراحات با طول ۳ سانتیمتر و عرض تمام وتر ایجاد شد. پس از جراحی با استفاده از اولتراسونوگرافی اندازه و شکل ضایعات، مورد مطالعه قرار گرفت و مشابهت تقریبی ضایعات در تمام اندام‌های حرکتی مورد مطالعه تأیید شد. بانداژ استریل به مدت یک هفته در هر یک از اندام‌های حرکتی جراحی شده مورد استفاده قرار گرفت و اسبها برای مدت ۳ روز به صورت داخل عضلانی پنی‌سیلین پروکائین به میزان ۱۵۰۰ IU برای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

**روش درمان ضایعات:** ده روز پس از ایجاد جراحی و استراحت حیوانات داخل باکس، توسط تزریق داخل وریدی زایلایزین هیدروکلراید به میزان ۰/۵ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت شیمیایی مقید و پس از آماده‌سازی ناحیه به صورت استریل از ناحیه کف دستی توسط سر سوزن شماره ۲۷ تزریق محلول BAPN-f ۰/۹ میلیگرم در هر میلی‌لیتر برای گروه اول (۱) و سرم فیزیولوژی برای گروه دوم، در هر ۰/۵ سانتیمتر از طول آزرده وتر به مقدار ۰/۲ سانتیمتر مکعب انجام گرفت. انجام تزریقات داخل وتری به صورت یک روز در میان برای پنج نوبت متوالی تکرار شد.

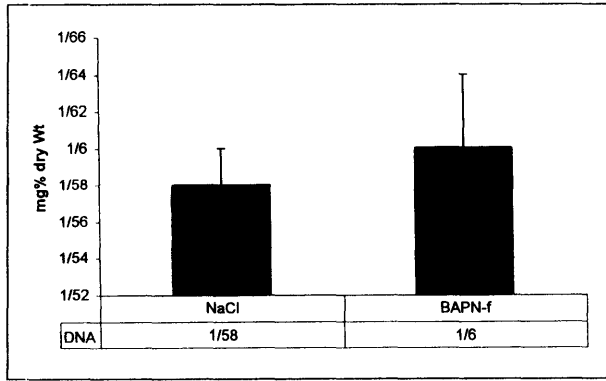
حیوانات مورد مطالعه ۶۰ روز پس از آخرین تزریق داخل وتری معدوم و نمونه‌های لازم جهت مطالعه بیوشیمیایی اخذ و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایشات لازم نگهداری شدند.

**آزمایش نمونه‌های اخذ شده:** تهیه محلول هضم‌شده و ترها (Papain digestion): حدود یک سوم از هر نمونه منجمد شده برای مدت ۲۴ ساعت به صورت لیوفلیزه (Lyophilised) نگهداری شد و پس از این مدت وزن خشک آن محاسبه شد و به هر نمونه لیوفلیزه شده مقدار ۴۰۰ میکرولیتر محلول Papain شامل ۱ میکروگرم در هر میلی‌لیتر Papain، ۵۰ نانومول در هر لیتر بافر فسفات با pH=6، ۲ نانومول در لیتر محلول Na<sub>2</sub>EDTA و ۲ میلی‌مول در لیتر سیستئین (Cystein) اضافه شد. محلول فوق به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس محلول به دست آمده در دمای اطاق سرد و جهت آزمایشات بیوشیمیایی نگهداری شد.

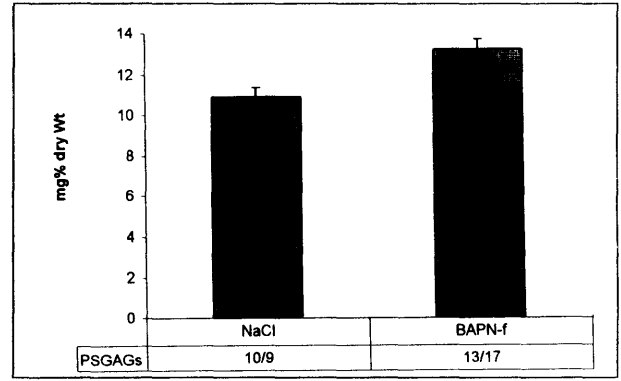
۱ - اندازه‌گیری DNA: تولید سلول‌های جدید در هر وتر مورد آزمایش براساس اندازه‌گیری DNA ارزیابی شد. برای اندازه‌گیری DNA رنگ شماره ۳۳۲۵۸ هوخوست (Hoechst 33258) به محلول هضم‌شده در Papain اضافه و بلافاصله با استفاده از فلورومتري (Perkin Elmer, Beaconsfield, Bucks fluorimeter) (Ls-2b) میزان DNA براساس میلیگرم درصد در ماده خشک محاسبه شد (Emission at 460nm and Extention at 365nm). در این روش از منحنی DNA تیموس گوساله بعنوان شاهد استفاده شد. این روش در سال ۱۹۸۸ توسط Kim و همکاران شرح داده شده است (۱۹).

۲ - اندازه‌گیری پلی‌سولفات گلیکوز آمینوگلیکانها (PSGAGs): برای

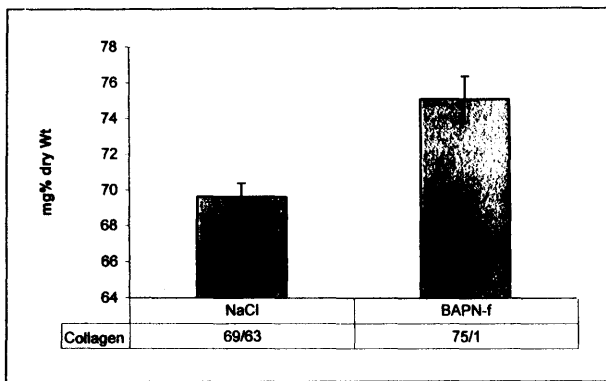




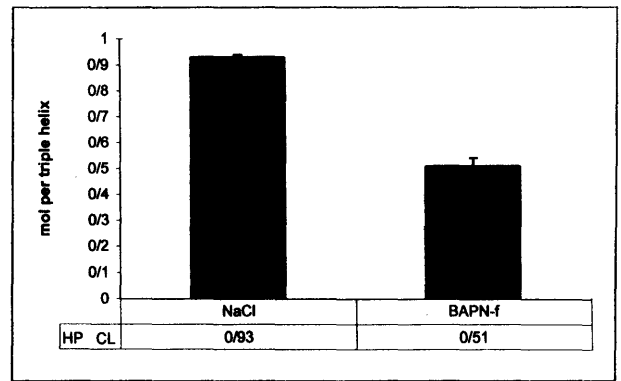
نمودار ۱ - مقادیر DNA برحسب میلیگرم درصد در ماده خشک در گروههای مورد آزمایش.



نمودار ۲ - مقادیر PSGAGs براساس میلیگرم درصد در ماده خشک در گروههای مورد آزمایش.



نمودار ۳ - مقادیر کلاژن براساس میلیگرم درصد ماده خشک در گروههای مورد آزمایش.



نمودار ۴ - مقادیر ارتباطات عرضی از نوع HP برحسب mole per triple helix در گروههای مورد آزمایش.

خم‌کننده سطحی بندهای انگشت (SDFT) انتخاب شد و به روش Zig-Zag splitting) جراحاتی با شکل تقریباً مشابه در وترهای خم‌کننده عمقی به وجود آمد.

در تورم وترها این فرضیه وجود دارد که تولید زود هنگام ارتباطات عرضی از نوع کووالانسی به خصوص نوع HP (HP crosslink) بین الیاف کلاژن نوع III در روند ترمیم مانع بلوغ این الیاف خواهد شد، براین اساس ماده شیمیایی بتا آمینوپروپیونیتریل فومارات (BAPN-f) که قویاً به واسطه مهار آنزیمی توانایی پیشگیری از تولید این ارتباطات عرضی را داراست و نتایج مثبتی از استفاده این ماده به صورت درمانگاهی در درمان تورم وترها وجود دارد انتخاب شد (۱، ۱۰، ۱۳، ۲۰).

دوزهای متفاوت بتا آمینوپروپیونیتریل فومارات جهت درمان تورم وترهای حاد و مزمن مورد استفاده درمانگاهی قرار گرفته‌اند، و مطالعات درمانگاهی و سونوگرافی نشان‌دهنده التیام مناسبی بوده است اما در تحقیقات انجام‌شده استفاده از دوز ۰/۹ میلیگرم در هر میلی‌لیتر محلول فوق بهترین پاسخ درمانگاهی را به همراه داشته است روی این اصل دوز فوق در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت (۱، ۱۵، ۱۶).

تحقیقات چندی به اثرات التیامی این ماده شیمیایی در روند التیام وترها اشاره کرده‌اند و تقریباً در حال حاضر این ماده شیمیایی به عنوان داروی درمان تورم وترها در آغاز قرن بیست و یکم شناخته می‌شود اما تاکنون ساختار و

درصد در ماده خشک ۶۰ روز پس از آخرین تزریق داخل وتری در دو گروه مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۱ و نمودار ۱).

**پلی‌سولفات گلیکوز‌آمینوگلیکانها:** PSGAGs به عنوان ماده زمینه‌ای خارج سلولی در دو گروه مورد آزمایش اندازه‌گیری شد، این میزان برحسب میلیگرم درصد در ماده خشک ۶۰ روز پس از آخرین تزریق داخل وتری به طور معنی‌داری در گروه دریافت‌کننده BAPN-f نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۱ و نمودار ۲).

**کلاژن (Collagen):** مقادیر کلاژن در نمونه‌های مورد آزمایش براساس اندازه‌گیری اسیدهای آمینه مورد اشاره در بخش مواد و روش کار برحسب میلیگرم درصد در ماده خشک محاسبه شد. ۶۰ روز پس از آخرین تزریق داخل وتری مقادیر کلاژن در گروه دریافت‌کننده BAPN-f به میزان معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد ( $P < 0/05$ ) (نمودار ۳ و جدول ۱).

**ارتباطات عرضی از نوع HP (HP Crosslink):** میزان ارتباطات عرضی از نوع HP براساس mole per triple helix در نمونه‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری شد. میزان این نوع ارتباط عرضی در گروه دریافت‌کننده BAPN-f به میزان معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۱ و نمودار ۴).

### بحث

وتر خم‌کننده عمقی بندهای انگشت (DDFT) به عنوان مدلی برای وتر



2. Back, W., Schamharht, H.C., Hartman, W. and Barneveld, A. (1995): Repetitive loading and oscillation of the distal fore and hind limbs as predisposing factors for equine lameness. *Am. J. of Vet. Res.*, 56, 1522-1528.
3. Bank, R., Jansen, E., Beekman, B. and Tekppele, M. (1996): Amino acid analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatography: Improved derivatization and detection condition with 9-fluorenylmethyl chloroformate. *Anal. Biochem.* 240: 167-176.
4. Bank, R., Beekman, B., Verzijl, N., Roos, A., Sakkee, A.N. and Tekppele, M. (1997): Sensitive fluorometric quantisation of pyridinium and pentosidine crosslinks in biological samples in a single-high-performance liquid chromatographic run. *J. Chromatography B.* 703: 37-44.
5. Bank, R., Bayliss, M., Lafeber, F. Maroudas, A. and Tekopple, M. (1997): Aging and zonal variation in post-translation modification of collagen. The age-related increase in non-enzymatic glycation affects biomechanical properties of cartilage *Biochem. J.* 330: 345-351.
6. Brule, A. and Ortoft, G. (1998): Inhibition of crosslinks in collagen is associated with reduced stiffness of the aorta in young rats *Atherosclerosis* 140: 135-145.
7. Cherdchutham, W., Becker, C., Smith, R.K.W., Barneveld, A. and Van Weeren, P.R. (1999): Age-related changes and effect of exercise on the molecular composition of immature equine SDFT *Equine Vet. J. Supple.* 31: 86-94.
8. Dahi, T., Sabsay, B. and Veis, A. (1998): Type I collagen-phosphorylation interaction: Specificity of the monomer-monomer binding *J. Struct. Biol.* 123: 162-168.
9. Dart, A. and Dwling, B. (1998): Tendon problems in horses: Does anything work? *Equine research seminar 98 Proceedings* 312 University of Sydney 73-94.
10. Doolin, E.J., Tsuno, K., Strande, L.F. and Santos, C. (1998): Pharmacological inhibition of collagen in an experimental model of subglottic stenosis *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 107: 275-279.
11. Fackelman, G.E. (1973): The nature of tendon damage and its repair *Equine Vet. J.* 5: 141-149.
12. Farendale, R., Buttle, D. and Barrett, A. (1986): Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue *Biochem. Biophys. Acta.* 883: 173-177.
13. Fulton, I. and Maclean, A. (1994): Superior check ligament desmotomy for treatment of superficial digital flexor tendonitis in thoroughbred and standardbred horses. *Aus. Vet. J.* 71: 233-235.
14. Genovese, R. (1996): Development a system for bowed tendon rehabilitation *J. Equine Vet. Sci.* 152-155.

پراکنندگی ملکولی وتر آزرده پس از استفاده از این ماده شیمیایی مورد مطالعه قرار نگرفته است.

Dahi و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Kato و همکاران در سال ۱۹۹۵ بیان نمودند که مهمترین راه برای کمک به بلوغ الیاف کلژن در بافت همبندی جلوگیری از ایجاد ارتباطات عرضی بین الیاف کلژن تازه تشکیل شده می باشد (۱۸ و ۸). به دلیل ساختار وترها این مسئله از اهمیت بالایی برخوردار است و در صورت عدم بلوغ کامل رشته های کلژن بافت همبندی تولید شده در واقع شامل الیاف کلژن نوع III خواهد بود (۱۱ و ۷).

در تحقیق حاضر میزان ارتباطات عرضی از نوع HP به طور معنی داری در گروه دریافت کننده BAPN کمتر از گروه شاهد بود. این مسئله تأیید بر تئوری موجود در روند التیام وترها می باشد زیرا تحقیق براساس مطالعات هیستوپاتولوژی نشان داده در صورت استفاده از BAPN ۰/۹ میلی گرم در میلی لیتر در موارد تجربی جراحات وترها تشکیل رشته های موازی الیاف کلژن و دستجات موازی آنها به طور معنی داری نسبت به سایر گروه های مورد آزمایش بیشتر خواهد بود (۱). وجود رشته های موازی الیاف کلژن در اسب های دریافت کننده بتا آمینوپروپیونیتریل فومارات نسبت به سایر گروه های مورد آزمایش بجز با ممانعت از تولید ارتباطات عرضی بین الیاف کلژن تازه تشکیل شده امکان پذیر نخواهد بود. گزارشاتی دال بر افزایش میزان الیاف کلژن رشته ای در گروه های دریافت کننده بتا آمینو پروپیونیتریل فومارات به میزان ۰/۹ میلی گرم در میلی لیتر به صورت هیستوپاتولوژی وجود دارد (۱).

در تحقیق حاضر نیز میزان کلژن به دست آمده به صورت معنی داری در گروه دریافت کننده BAPN نسبت به گروه شاهد بیشتر بود که نشان دهنده تمایل وترهای تحت درمان با BAPN به تولید الیاف بیشتر می باشد. میزان پلی سولفات گلیکوز آمینو گلیکانها (PSGAGs) در گروه دریافت کننده BAPN-F نیز به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود، اما یافته فوق افزایش میزان کلژن در این گروه را نسبت به گروه شاهد تا حدودی توجیه می کند. با وجود افزایش در میزان کلژن و PSGAGs در گروه دریافت کننده BAPN-F، مقادیر به دست آمده در مورد DNA در هر گروه هیچ اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. BAPN-F هیچ تأثیری در تحریک یا تولید سلولهای جدید ندارد. عدم اختلاف معنی دار در مقادیر DNA نشانگر این مسئله است که گروه دریافت کننده BAPN-F علی رغم نداشتن اختلاف معنی دار در مقادیر سلولهای جدیدی که در ناحیه وجود دارند تمایل بیشتری به تولید دستجات موازی کلژن دارد (۱).

توجیه این مسئله تنها به علت ممانعت تولید ارتباطات عرضی HP توسط BAPN-F می باشد، در این شرایط الیاف تازه تشکیل شده امکان بلوغ و تولید دستجات موازی را خواهند داشت. با توجه به تحقیقات انجام شده به صورت هیستوپاتولوژی و تحقیق حاضر می توان عنوان نمود استفاده از BAPN-F به میزان ۰/۹ میلی گرم در میلی لیتر داروی مناسب جهت کمک به بلوغ الیاف کلژن در موارد تورم وترهای حاد و تحت حاد می باشد.

### تشکر و قدردانی

نگارنده بر خود لازم می داند از همکاریهای صمیمانه دکتر رنی ون ویرن دانشیار تحقیقات ارتوپدی اسب در دانشگاه اوترخت هلند که مقدمات آنالیز بیوشیمیایی نمونه های این تحقیق را فراهم نمودند سپاسگزاری نماید.

### منابع

۱. سرداری، ک. (۱۳۷۹): مطالعه اثرات التیامی بتا آمینوپروپیونیتریل فومارات و سدیم هیالورونات در جراحات تجربی وترهای خم کننده اسب. پایان نامه دکترای تخصصی جراحی دانشگاه تهران.



15. Genoves, R., Rantanen, N., Nauser, M. and Simpson, B. (1985): Clinical application of diagnostic ultrasound to the equine limb Proc. 31st Ann. Conv. Am. Ass. Equine Pract. 701-721.
16. Genoves, R., Rantanen, N., Hauser, M. and Simpson, B. (1986): Diagnostic ultrasonography of equine limbs. Vet. Clin. N. Am. (Equine practice) 2: 145-226.
17. Gillis, C., Pool, R., Meagher, D.M. and Stover, S. (1997): Effect of maturation and aging on the histomorphometric and biochemical characteristics of equine superficial flexor tendon Am. J. Vet. Res. 58: 425-430.
18. Kato, S. and Spinale, F. (1995): Inhibition of collagen crosslinking: Effects on fibrillar collagen and ventricular diastolic function. Am. J. Physiol. 269: 863-868.
19. Kim, Y., Sah, R., Doong, J. and Grodzinsky, A. (1988): Fluorometric assay of DNA in Cartilage explants using Hoechst 33258. Anal. Biochem. 174: 168-176.
20. Oxlund, H. and Barchman, M. (1995): Reduced concentration of collagen cross-links are associated with reduce strength of bone. Bone 17: 365-371.
21. Reef, V., Genovese, R., Byrd, J.W., Reed, P.K. and Davis, W.M. (1996): Treatment of superficial digital flexor tendon injuries with BAPN-f. Sonographic evaluation of early tendon healing and remodeling. Dubai Inter. Equine Symposium 423-430.
22. Van Weeren, P. and Barneveld, A. (1999): Study design to evaluate the influence of exercise on the development of musculoskeletal system of foals up to age 11 months. Equine Vet. J. Suppl. 31: 4-8.
23. Watkins, J. (1996): Tendon and ligament biology: In Equine Surgery, W.B. Saunders., P: 910-924.

### **Molecular composition of deep digital flexor tendon after treatment of the experimental injuries by BAPN-f in horses**

Sardari, K.<sup>1</sup>, Nowrouzian, I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi Mashhad University, Mashhad - Iran. <sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.

Beta-aminopropionitril fumarat (BAPN-f) is evaluated as a scar remodeling drug, and can inhibit HP cross-linking between collagen bundles by enzyme block. There is no report on affecting BAPN-f on molecular composition of flexor tendon in horses, but a few clinical trail was report the good effects of BAPN-f on acute and sub acute tendonitis in horses. In this study the effect of BAPN-f

(0.9 mg/ml) on molecular composition of experimental injured flexor tendon in horses was compared with physiologic normal saline (0.9% NaCl). Eight aparently healthy horses (Age mean 7 years and weight mean 320kg) were used. Under general anaesthesia Zig-Zag splitting was performed on DDF-T on one forelimb of all horses, the horses divided into two groups and recived BAPN-f 0.9mg/ml and NaCl 0.9% respectively, by injection into the site of injury every other days for five successive days. Sixthy days after last injection horses were euthanatized and samples were taken for biochemistry evaluations. In biochemistry evaluation there was no statistical differences between DNA content in two groups ( $P<0.05$ ). PSGAGs and collagen content were significantly increased in BAPN-f group ( $P<0.05$ ). HP crosslinking in BAPN-f group was significantly decess to compare NaCl group ( $P<0.05$ ). Therefore, intralesional injection of BAPN-f 0.9 mg/ml can improved healing significantly in this model of tendonitis by inhibit HP cross linking in early stage of healing.

**Key words :** Horse, Tendonitis, BAPN-f, Collagen, Cross-linking.

