

Investigating the Destructive and Inflammatory Effects of Different Concentrations of Eugenol in Inducing Experimental Achilles Tendonitis in Rats

Amirhessam Torghabe¹, MohammadMahdi Molaei², Ehsanollah Sakhaee^{*3},
Reza Kheirandish⁴, Pourya Mohammadi⁵

1. Board Certificated of Veterinary Surgery, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2. Professor of Veterinary Surgery, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3. Professor of Large Animal Internal Medicine, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
4. Professor of Veterinary Pathology, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
5. Phd of Nano Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: 2024/02/29

Accepted: 2024/12/8

Abstract

Introduction: Tendon injuries are a significant challenge in veterinary medicine, often resulting from repetitive stress or overuse. Traditional methods for developing experimental tendon injury models, such as utilizing collagenase enzyme, face limitations including high costs and restricted availability. This study aims to investigate the destructive and inflammatory effects of different concentrations of eugenol in inducing experimental Achilles tendonitis in rats.

Materials and Methods: This research involved six groups of Wistar laboratory rats (one control group and five experimental groups). The experimental groups received varying concentrations of eugenol (diluted in DMSO) in volumetric ratios ranging from 4:1 to 64:1, administered via direct injection into the Achilles tendon to assess local effects.

Results: Macroscopic and histopathological assessments revealed that eugenol could induce tendon degradation and inflammation in a concentration-dependent manner. Higher concentrations caused more severe collagen fiber degradation and inflammatory responses, while lower concentrations produced more controlled damage.

Conclusion: Eugenol, as a natural compound, effectively induces controlled degradation and inflammation in tendons, presenting a cost-efficient alternative to collagenase for tendon injury modeling. These findings contribute to innovative therapeutic approaches in veterinary medicine and reduce dependence on expensive imported materials.

***Corresponding Author:** : Ehsanollah Sakhaee

Address: Kerman, Pajouhesh Square, Shahid Bahonar University of Kerman, Faculty of Veterinary Medicine

Tel: +989132952830

E-mail: Ehsan_Sakhaee@uk.ac.ir

Keywords: Tendons, Eugenol, Tendon Injuries, Achilles Tendon, Collagenases

How to cite this article: Torghabe.A, Molaei.M, Sakhaee.E, Kheirandish.R, Mohammadi.P., Investigating the Destructive and Inflammatory Effects of Different Concentrations of Eugenol in Inducing Experimental Achilles Tendonitis in Rats, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2025; 32(1):53-65, DOI: 10.30468/jsums.2025.7890.3128.

Introduction

Tendon injuries are prevalent in veterinary medicine, often resulting from excessive strain that leads to inflammation and lameness in animals. Treatment typically involves non-surgical methods such as rest and anti-inflammatory medications; however, surgical interventions may be necessary in severe cases. One approach to studying and treating these injuries is the experimental destruction of tendons, which allows researchers to examine the biological and molecular processes involved in tendon damage and evaluate various treatment methods. While collagenase enzyme is commonly used for tendon degradation in research, its high costs and limited accessibility in Iran cause significant challenges. This is the first study that used eugenol, a natural compound with anti-inflammatory and antibacterial properties, as a substitute for collagenase.

This study aims to assess the destructive effect of eugenol on Achilles tendonitis in rats and compare it with collagenase. The results of this research could contribute to the development of cost-effective methods for treating tendon injuries and help overcome existing limitations in accessing research materials. Moreover, eugenol's natural origin and availability may enhance new avenues for research into tendon repair and regeneration. Also, offer therapeutic benefits in reducing inflammation and promoting tissue healing.

Methodology

In this study, various materials and tools were used to investigate the effect of eugenol on Achilles tendonitis in rats. Eugenol (99% purity) was purchased from Merck and diluted in DMSO at different volumetric ratios. Insulin syringes were used for tendon injections, and local temperature was measured with a non-contact digital thermometer. Wistar albino rats weighing approximately 200 to 300 grams were purchased from an animal breeding center and housed in polyethylene cages under conditions compliant with European Laboratory Animal Committee guidelines (12-hour light-dark cycle, temperature maintained at $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$). The rats were fed commercial pellets from Javan Khorasan Company.

Following an adaptation period, the rats were randomly divided into six groups, each consisting

of six rats. Groups were divided based on different eugenol-to-solvent ratios. Eugenol at the specified concentrations was injected into the Achilles tendon of the right hind leg of each rat, and over six days, inflammatory factors, local temperature, and skin damage were monitored. On the second, fourth, and sixth days after injection, the rats were humanely euthanized, and full-thickness Achilles tendon samples were collected. These samples were fixed in 10% formalin for a minimum of ten days, after which 5-micrometer pathological sections were prepared and stained with H&E for detailed tissue analysis.

Results

Various approaches to tendon damage have been proposed in previous studies to investigate effective treatment methods, including mechanical, thermal, and chemical. Mechanical methods, such as surgery or applying pressure or tension, are fast but costly and require specialized equipment and expertise. Thermal methods involve using heat to damage tendon tissue but necessitate specialized tools. Chemical methods typically employ agents like matrix metalloproteinases or collagenase to break down the tendon's extracellular matrix. For instance, collagenase injections in horses have been shown to induce damage resembling naturally occurring tendonitis. However, the effects of eugenol on tendon tissue—both inflammatory and destructive—have not been previously reported.

This study is the first to examine the effects of eugenol as a chemical agent on tendon tissue through macroscopic and histopathological evaluations. The study monitored local temperature, inflammation, and skin damage over six days. In the control group, local temperature remained stable during the first two days, peaked on days three and four, and returned to normal by day six, indicating a body's biochemical and inflammatory response to the injection rather than the presence of eugenol. Notably, skin damage and inflammation from the needle were observed only during the initial two days.

In the first experimental group, the local temperature of the right Achilles tendon significantly increased during the first four days, which can be attributed to the inflammatory response to the higher concentration of eugenol. Skin damage and inflammation persisted for the

first four days, likely due to eugenol's destructive effects. The second group showed a less intense temperature rise due to lower eugenol concentration, with minimal inflammation and skin damage resolving by day four. In the third and fourth groups, there was an initial temperature rise, but it diminished by day four, with minimal or no visible skin damage or inflammation, indicating suitable dilution of eugenol that did not cause significant harm.

Histological analysis of tendon tissue was conducted to assess the level of damage across the groups. The control group exhibited healthy tendons with organized collagen fibers and elongated tenocytes throughout the study. Conversely, the first group displayed collagen disarray, cellular disintegration, and intense inflammation by day four, with severe damage to the peritendinous tissue by day six. The second group showed severe tendon damage and inflammation, while groups three and four exhibited moderate damage and inflammatory cell infiltration. Group four, in particular, demonstrated optimal damage for further therapeutic studies, being substantial yet treatable. The fifth group exhibited minimal tendon damage, with negligible inflammation and collagen disruption, making it unsuitable for detailed analysis.

Discussion

The results indicate that eugenol injection into the Achilles tendon of rats induces tendon damage comparable to that caused by collagenase injection, characterized by increased local temperature, inflammation, and collagen degradation. The study suggests that eugenol contributes to tendon tissue degradation by stimulating inflammatory cells and

generating free radicals. Group four, which exhibited moderate tendon damage, is identified as a suitable candidate for further research into treatment options for tendon injuries induced by eugenol. Future studies are needed to explore the potential mechanisms by which eugenol influences tendon damage and inflammation.

Conclusion

This study demonstrates that eugenol injection into the Achilles tendon of rats is an effective alternative to collagenase for tendon tissue destruction research. Eugenol, when administered at appropriate doses, eugenol balances tissue destruction and healing, providing valuable insights into tendon degradation mechanisms. The findings reveal that eugenol induces inflammation and tissue damage similar to that caused by collagenase, with variations depending on concentration. The most suitable group for further studies was Group 4, where moderate lesions were observed. However, improper dosing of eugenol may lead to severe, irreversible tendon damage. Therefore, careful monitoring and precise dosage control are essential for future investigations to prevent excessive damage and ensure the reliability of the results.

Acknowledgment

The authors would like to thank Shahid Bahonar University for supporting this research by providing access to the relevant labs.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

بررسی تأثیرات تخریبی و التهابی غلظت‌های مختلف اوژنول در ایجاد تاندونیت تجربی زردپی آشیل در رت

امیرحسام طرقله^۱، محمد مهدی مولایی^۲، احسان‌اله سخایی^۳، رضا خیراندیش^۴، پوریا محمدی^۵

۱. بورد تخصصی جراحی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۲. استاد جراحی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۳. استاد بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۴. استاد پاتولوژی دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۵. دکتری شیمی نانو، گروه شیمی، دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: آسیب به تاندون‌ها یکی از مسائل شایع و پیچیده در دامپزشکی است که اغلب به دلیل فشار یا فعالیت‌های مکرر ایجاد می‌شود. روش‌های موجود برای ایجاد مدل‌های تجربی آسیب تاندون، مانند استفاده از آنزیم کلاژناز، به دلیل هزینه بالا و دسترسی محدود، محدودیت‌هایی دارند. این مطالعه با هدف بررسی پتانسیل اوژنول به عنوان جایگزینی ارزان و در دسترس برای کلاژناز انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، شش گروه از رت‌های آزمایشگاهی نژاد ویستار (یک گروه کنترل و پنج گروه آزمایش) تحت بررسی قرار گرفتند. گروه‌های آزمایشی اوژنول را در نسبت‌های مختلف حجمی (۴:۱ تا ۶۴:۱) با حلال DMSO دریافت کردند. تزریق به صورت مستقیم در تاندون آشیل انجام شد تا تأثیرات موضعی اوژنول بر تاندون‌ها ارزیابی شود.

یافته‌ها: یافته‌های ماکروسکوپی و هیستوپاتولوژیک نشان دادند که اوژنول می‌تواند به طور وابسته به غلظت، تخریب و التهاب در تاندون ایجاد کند. غلظت‌های بالاتر باعث تخریب شدیدتر رشته‌های کلاژن و واکنش‌های التهابی شدند. در حالی که غلظت‌های پایین‌تر آسیب کنترل‌شده‌تری را ایجاد کردند.

نتیجه‌گیری: اوژنول به عنوان یک ترکیب طبیعی، توانایی ایجاد تخریب و التهاب کنترل‌شده در تاندون‌ها را دارد و می‌تواند به عنوان جایگزینی مؤثر و اقتصادی برای کلاژناز در مدل‌سازی آسیب تاندونی استفاده شود. این یافته‌ها به توسعه روش‌های جدید درمانی در دامپزشکی و کاهش وابستگی به مواد پرهزینه وارداتی کمک می‌کنند.

* نویسنده مسئول: احسان‌اله سخایی

نشانی: کرمان. میدان پژوهش.
دانشگاه شهید باهنر کرمان، کد
پستی ۷۶۱۶۹۱۳۴۳۹
تلفن: +۹۸۹۱۳۲۹۵۲۸۳۰
رایانامه:

Ehsan_Sakhaee@uk.ac.ir
شناسه ORCID:

0000-0003-3496-5532
شناسه ORCID نویسنده اول:
0000-0003-3169-6090

DOI:
10.30468/jsums.2025.78
90.3128

کلیدواژه‌ها:

تاندون‌ها، اوژنول، آسیب‌های
تاندون، تاندون آشیل، کلاژنازها

مقدمه

آسیب به تاندون‌ها یکی از مشکلات شایع در دامپزشکی است [۱]. این آسیب‌ها منجر به التهاب در ناحیه آسیب‌دیده و

بروز لنگش می‌گردد [۲]. اختلالات تاندون یکی از مهم‌ترین مسائل در کلینیک‌های دامپزشکی است به طوری که ۴۵ درصد ضایعات اسکلتی-عضلانی مربوط به این اختلالات می‌باشد [۳]. آسیب‌های تاندون در همه گونه‌ها، به ویژه در دام‌هایی که

اولین بار اثر تخریب‌کنندگی رقت‌های مختلف اوژنول در حلال DMSO بر تاندونیت زردپی اشیل در رت را بررسی کنیم. هدف از این مطالعه، ارزیابی کارایی اوژنول در تخریب و ایجاد التهاب در تاندون‌ها می‌باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند به توسعه روش‌های جدید برای درمان آسیب‌های تاندون کمک کند.

۲. مواد و روش

حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد از شرکت سیگما-آلد ریچ، اوژنول ساخت شرکت مرک با درجه خلوص ۹۹ درصد خریداری شد. اوژنول در مراحل مختلف تحقیق پس از رقیق‌سازی با حلال DMSO با نسبت‌های مختلف حجمی-حجمی مورد استفاده قرار گرفت. برای آرام‌کشی رت‌ها از داروی بیهوشی کتامین ساخت شرکت برمر آلمان و زایلازین ساخت شرکت آلفاسان هلند استفاده شده است. به‌منظور تزریق دارو در تاندون از سرنگ انسولین ساخت شرکت شفا استفاده شد. رت‌ها در قفس‌هایی از جنس پلی‌اتیلن نگهداری شده‌اند. برای اندازه‌گیری دمای موضعی از دماسنج دیجیتال غیرتماسی استفاده شد. برای بررسی و تفسیر لام‌های پاتولوژی از میکروسکوپ نوری مارک نیکون ساخت ژاپن استفاده شده است.

۱.۲. تیمار حیوانات

برای انجام این مطالعه در ابتدا ۳۶ سر رت نژاد ویستار آلبینو با جنسیت نر و وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی زیست‌محور پژوهش پارس (کرمان، ایران) خریداری شد. در ابتدا حیوانات در ۶ قفس جداگانه به‌صورت تصادفی به ۶ گروه (هر گروه شامل ۶ سر رت) تقسیم‌بندی شدند و برای تطابق با محیط به مدت یک هفته در شرایط یکسان قرار گرفتند. این شرایط طبق دستورالعمل کمیته حیوانات آزمایشگاهی اروپا ایجاد گردید [۱۱]. طبق دستورالعمل مذکور، رت‌ها در سیکل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 8 ± 30 درصد قرار گرفتند. غذاهای حیوانات توسط پلت تجاری (شرکت جوانه خراسان) انجام پذیرفت. ترکیبات غذای مخصوص جوندگان استفاده‌شده در این پژوهش در جدول ۱ شرح داده شده است.

فعالیت‌های ورزشی مانند اسب‌های پرش و کورس دارند، بیشتر دیده می‌شود. از دیگر دلایل آسیب تاندون می‌توان به تروما و آسیب‌های فیزیکی اشاره کرد [۴]. آسیب به تاندون‌ها می‌تواند منجر به کاهش عملکرد و درد شدید شود که نیاز به درمان‌های تخصصی دارد [۵]. در بسیاری از موارد، درمان‌های اولیه شامل استراحت، فیزیوتراپی و داروهای ضدالتهابی می‌باشد. با این حال، در موارد شدیدتر، نیاز به مداخلات جراحی و درمان‌های پیشرفته وجود دارد [۲ و ۶].

برای انجام تحقیقات در زمینه درمان مشکلات ناشی از التهاب تاندون، نیاز به تخریب تاندون به صورت تجربی است، درواقع توسعه روش‌های جدید و مقرون‌به‌صرفه برای درمان آسیب‌های تاندون نیاز به تخریب تاندون دارد [۷]. برای تخریب تاندون به صورت تجربی، روش‌های مختلفی وجود دارد که می‌توان آن‌ها را با هم مقایسه کرد.

یکی از روش‌های متداول، استفاده از آنزیم کلاژناز است [۵]. کلاژنازها با تخریب کلاژن، ساختار اصلی ماتریکس خارج سلولی، باعث تجزیه بافت‌های همبند می‌شوند بنابراین کلاژناز آنزیمی است که کلاژن، ساختار اصلی تاندون، را تخریب می‌کند [۷] و باعث ایجاد آسیب و التهاب در تاندون می‌شود [۸]. با این حال استفاده از کلاژناز در تخریب تاندون با معضلاتی همراه است که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

الف) استخراج کلاژناز از منابع طبیعی یا تولید آن به‌صورت صنعتی، فرایندی پیچیده و زمان‌بر است [۹]، تولید و تهیه کلاژناز هزینه‌بر است و ج) به دلیل تحریم‌های اقتصادی، دسترسی به کلاژناز در ایران محدود و قیمت آن بسیار بالا است. با توجه به موارد ذکرشده، نیاز به ترکیبی داریم که عملکرد مشابهی با کلاژناز داشته و از طرفی ارزان‌قیمت و در دسترس باشد.

اوژنول، یک ترکیب طبیعی استخراج‌شده از گیاهانی مانند میخک، به دلیل خواص ضدالتهابی و ضدباکتریایی خود شناخته شده است و می‌تواند به کاهش التهاب و درد در بافت‌های مختلف بدن کمک کند [۱۰]. اگرچه اوژنول توانایی مهار فعالیت آنزیم‌های تخریب‌کننده کلاژن را دارد که می‌تواند به حفظ ساختار تاندون‌ها کمک کند ولی در غلظت‌های بالا به‌صورت عکس عمل می‌کند و سبب تخریب بافت تاندون می‌شود. در مطالعه حاضر، بر آن شدیم تا با استفاده از این ماده، برای

جدول ۱. ترکیبات تشکیل دهنده غذای مخصوص جوندگان شرکت جوانه خراسان

درصد	اقلام بر اساس ماده خشک
۲۱	پروتئین خام
۶/۵۷	چربی
۵/۵	فیبر خام
۰/۰۵	متیونین
۰/۰۵	لیزین
۰/۵	کلرید سدیم
بین ۱/۵ تا ۲/۵	کلسیم / فسفر

شامل شش رت بود. گروه بندی و مقدار ترکیب دریافت شده، در جدول ۲ خلاصه شده است.

۲.۲. گروه بندی و تزریق اوژنول به رت ها

پس از گذراندن دوره تطابق پذیری با شرایط محیطی جدید، رت ها به صورت تصادفی به شش گروه تقسیم شدند که هر گروه

جدول ۲. گروه بندی رت ها و نسبت اوژنول دریافت شده توسط هر گروه

گروه	نسبت (حجمی - حجمی) اوژنول: حلال
کنترل	حلال بدون اوژنول
گروه ۱	۱:۴
گروه ۲	۱:۸
گروه ۳	۱:۱۶
گروه ۴	۱:۳۲
گروه ۵	۱:۶۴

التهاب و آسیب پوستی ارزیابی شد. در گروه کنترل، افزایش دما در روزهای سوم و چهارم مشاهده شد که احتمالاً به دلیل پاسخ التهابی بدن به تزریق است و سپس به دمای طبیعی بازگشت. التهاب و آسیب پوستی نیز محدود به روزهای اول و دوم بود. در گروه اول، افزایش دمای موضعی در چهار روز اول ادامه یافت که به وجود غلظت بالای اوژنول نسبت داده شد؛ التهاب و آسیب پوستی نیز تا روز چهارم مشهود بود.

در گروه دوم، با کاهش غلظت اوژنول، دمای موضعی همچنان در روزهای اول تا چهارم افزایش یافت اما کمتر از گروه اول بود و التهاب و آسیب پوستی تنها در روزهای اول و دوم مشاهده شد. در گروه سوم، افزایش دما در روزهای اول تا سوم دیده شد و سپس کاهش یافت. گروه چهارم نیز نشان داد که افزایش دما از روز دوم شروع شد و التهاب یا آسیب پوستی قابل مشاهده ای نداشت که احتمالاً به دلیل رقت مناسب اوژنول بوده است. در گروه پنجم، افزایش دما در دو روز اول مشاهده شد و سپس به تدریج کاهش یافت. به دلیل رقت مناسب اوژنول، تقریباً هیچ التهاب یا آسیب پوستی در این گروه وجود نداشت. به طور کلی، نتایج نشان می دهد که با کاهش غلظت اوژنول، التهاب و آسیب پوستی کاهش یافته و تغییرات دمایی نیز کمتر بوده است.

اوژنول با غلظت های مورد نظر به میزان ده واحد انسولین در تاندون آشیل پای راست هر رت به صورت آسپسی تزریق شد و به مدت شش روز فاکتورهای دمای موضعی، التهاب و آسیب پوستی سنجیده و مطالعه شد. رت ها در روزهای دوم، چهارم و ششم پس از تزریق به صورت انسانی آرام کشی شدند و نمونه های تمام ضخامت از بافت تاندون آشیل آنها پس از انتقال به محلول فرمالین ۱۰ درصد و گذشت مدت زمان لازم برای تثبیت بافتی (حد اقل ده روز)، مقاطع پاتولوژیک به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و رنگ آمیزی H&E انجام شد [۱۲].

۳. یافته ها

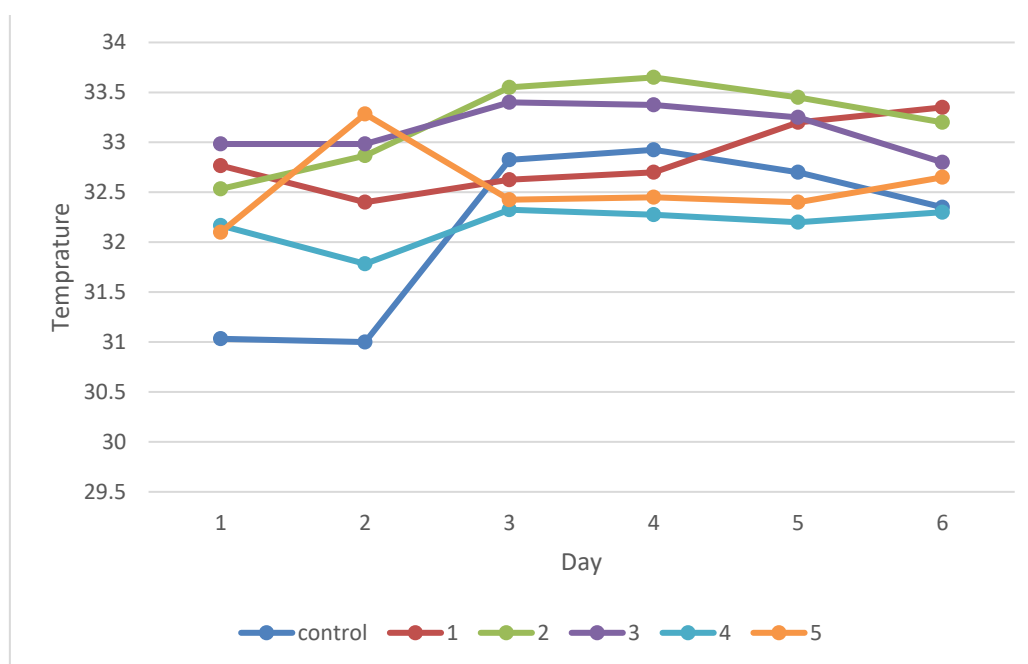
در مطالعه حاضر برای اولین بار نتایج حاصل از تأثیر اوژنول به عنوان یک ماده شیمیایی مؤثر بر تخریب تاندون به صورت مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی (هیستوپاتولوژیک) بررسی می شود.

۱.۳. نتایج مطالعات ماکروسکوپی بافت تاندون

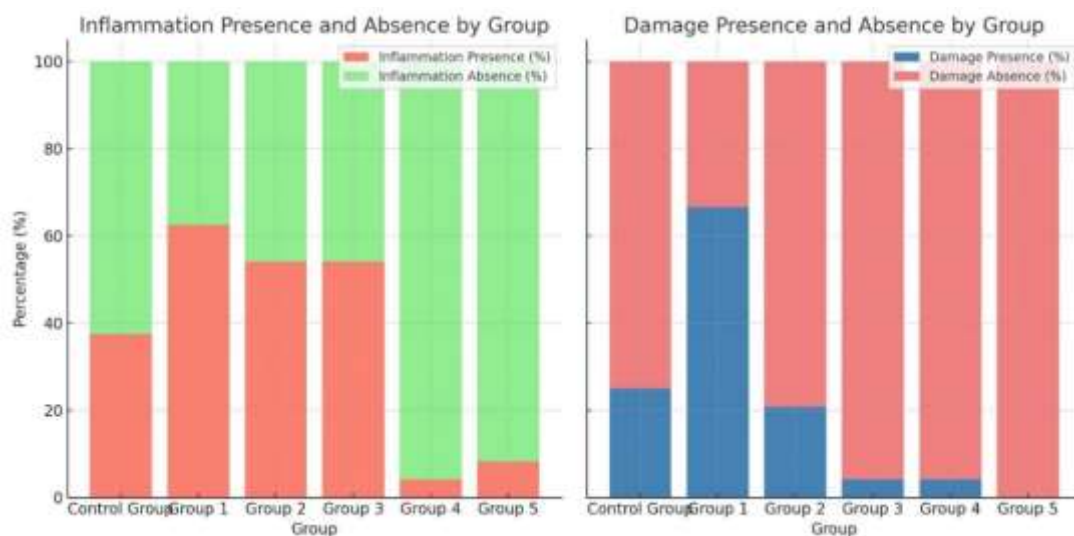
در بررسی ماکروسکوپی شش روزه بافت تاندون رت ها، در گروه کنترل و گروه های مختلف آزمایش، تغییرات دمای موضعی و علائم

جدول ۳. میانگین پارامتر دمای موضعی هر گروه در روزهای ۱ تا ۶

روز	گروه					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
کنترل	۳۱/۰۳	۳۱/۰۰	۳۲/۸۲	۳۲/۹۲	۳۲/۷۰	۳۲/۳۵
اول	۳۲/۷۶	۳۲/۴۰	۳۲/۶۲	۳۲/۷۰	۳۲/۲۰	۳۲/۳۵
دوم	۳۲/۵۳	۳۲/۸۶	۳۳/۵۵	۳۳/۶۵	۳۳/۴۵	۳۳/۲۰
سوم	۳۲/۹۸	۳۲/۹۸	۳۳/۴۰	۳۳/۳۷	۳۳/۲۵	۳۲/۸۰
چهارم	۳۲/۱۶	۳۱/۷۸	۳۲/۳۲	۳۲/۲۷	۳۲/۲۰	۳۲/۳۰
پنجم	۳۲/۱۰	۳۳/۲۸	۳۲/۴۲	۳۲/۴۵	۳۲/۴۰	۳۲/۶۵



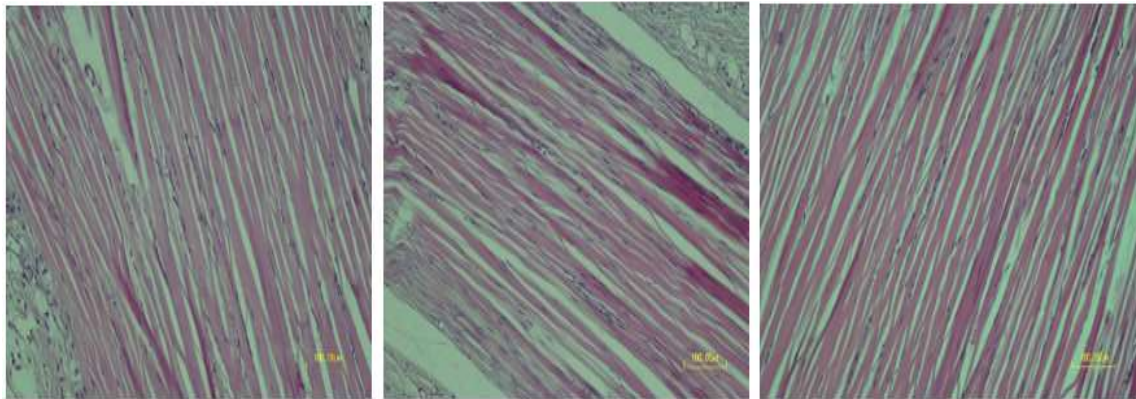
نمودار ۱. میانگین پارامتر دمای موضعی هر گروه در روزهای ۱ تا ۶



نمودار ۲. پارامترهای التهاب و آسیب پوستی

۲.۳. نتایج هیستوپاتولوژیک بافت تاندون

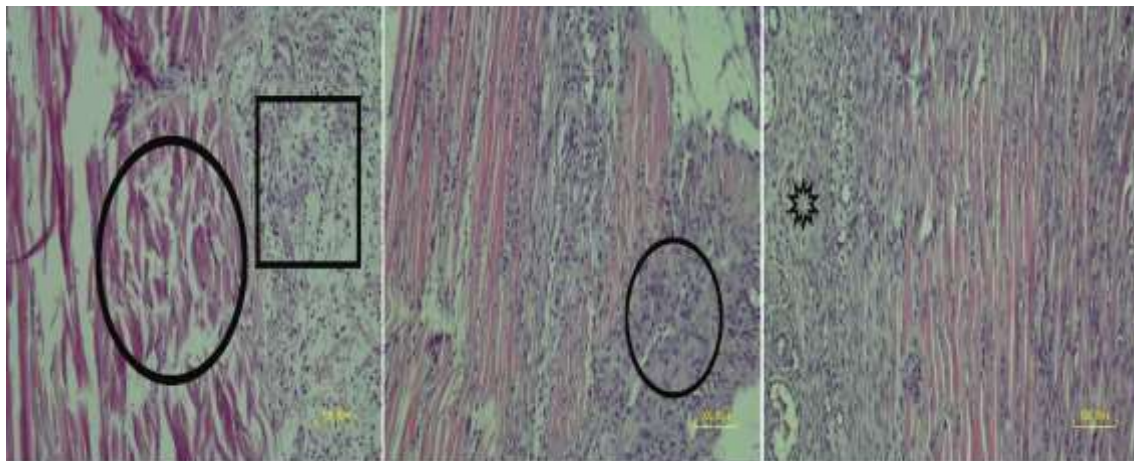
تصاویر مربوط به بررسی‌های بافت‌شناسی تاندون آشیل، به‌منظور یافتن مناسب‌ترین گروه که پس از تزریق اوژنول ضایعات متوسط ایجاد کرده و قابل درمان باشد، در گروه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. نتایج بافت‌شناسی تاندون در گروه کنترل - از چپ به راست روز دوم و چهارم و ششم. رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین مقیاس ۱۰۰ میکرون

تخریب کلژن کاملاً مشهود است. در روز ششم واکنش آماسی و پرولیفراتیو شدید در پری تاندون (ستاره) وجود دارد (شکل ۲).

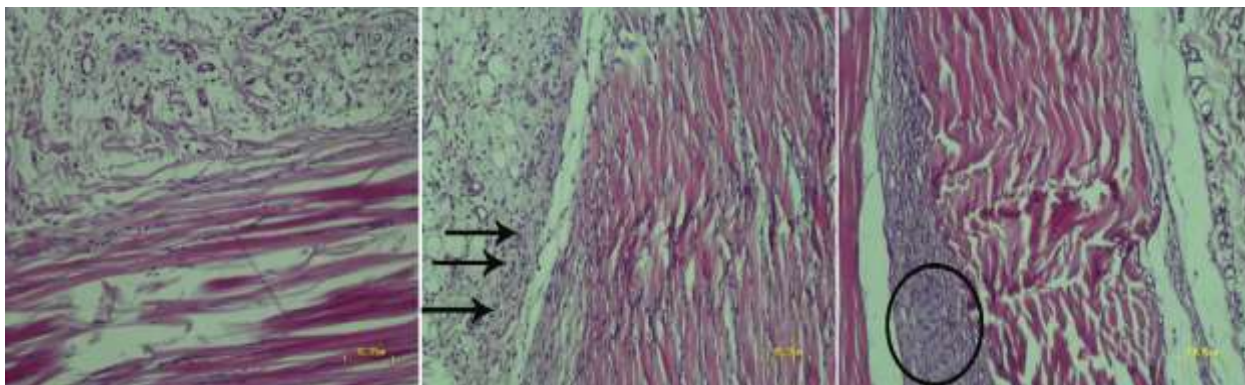
در گروه اول در روز دوم به هم‌ریختگی رشته‌های کلژن (داخل دایره) و حضور سلول‌های آماسی (داخل مربع) دیده می‌شود. در روز چهارم پرولیفراسیون سلول‌های تنوسیت (داخل دایره) و



شکل ۲. نتایج بافت‌شناسی تاندون در گروه اول - از چپ به راست روز دوم و چهارم و ششم. رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین مقیاس ۱۰۰ میکرون

که در روز شش فاز پرولیفراتیو قابل‌توجهی آسیب به پری تاندون شدید و هسته‌ها گرد شدند.

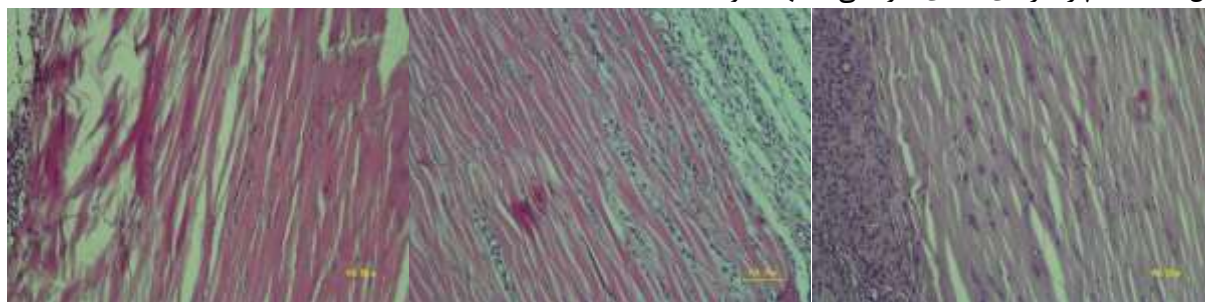
همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در گروه دو تا پایان روز دوم تخریب و آماس کمتری در تاندون مشاهده شد و در روز چهارم روند پرولیفراتیو ترمیم تاندون آغاز شد به‌گونه‌ای



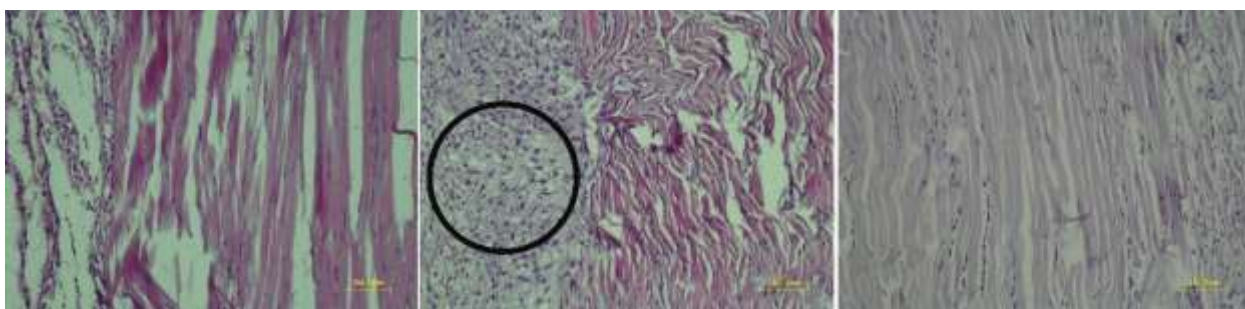
شکل ۳. نتایج بافت‌شناسی تاندون در گروه دوم - از چپ به راست روز دوم و چهارم و ششم. رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین مقیاس ۱۰۰ میکرون

پوستی، این گروه (گروه چهارم) مناسب تشخیص داده شد به‌گونه‌ای که اوژنول تزریقی، ضایعات متوسط ایجاد کند و درعین حال قابل درمان باشد.

در گروه سوم (شکل ۴) و گروه چهارم (شکل ۵) آماس کمتری دیده شد ولی در گروه چهارم به دلیل افزایش تعداد سلول‌ها و ضایعات پرولیفراتیو متوسط و همچنین همخوانی با جداول مقایسه پارامترهای دمای موضعی، التهاب و آسیب



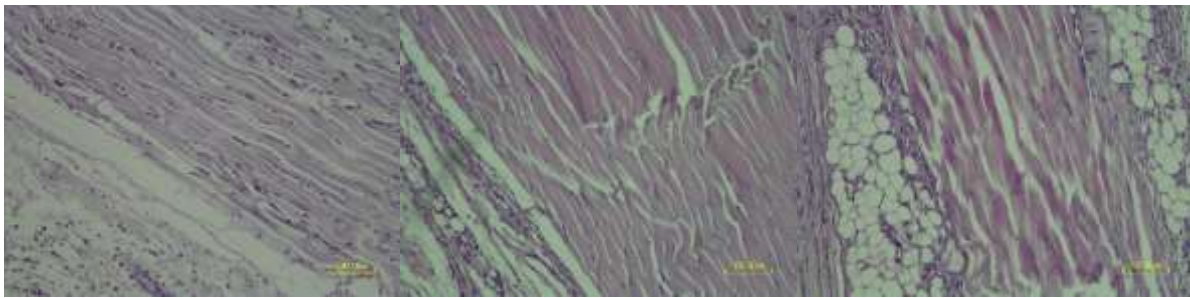
شکل ۴. نتایج بافت‌شناسی تاندون در گروه سوم - از چپ به راست روز دوم و چهارم و ششم. رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین مقیاس ۱۰۰ میکرون



شکل ۵. نتایج بافت‌شناسی تاندون در گروه چهارم - از چپ به راست روز دوم و چهارم و ششم. رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین مقیاس ۱۰۰ میکرون

شده که برای مطالعه و بررسی مناسب نیستند. شکل ۶ به نمایش وضعیت بافت‌شناسی تاندون در این گروه می‌پردازد.

در گروه پنجم حداقل ضایعه و آماس مشاهده شد، همچنین حداقل ضایعات در پری تاندون و در تاندون در این گروه ایجاد



شکل ۶. نتایج بافت‌شناسی تاندون در گروه پنجم - از چپ به راست روز دوم و چهارم و ششم. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین مقیاس ۱۰۰ میکرون

۴. بحث و نتیجه‌گیری

تاکنون مطالعات میدانی بسیاری در مورد روش‌های تخریب تاندون به‌منظور یافت روش‌های درمانی مؤثر پیشنهاد و گزارش شده است. بر این اساس برای تخریب تاندون سه روش عمده وجود دارد [۷]: الف) روش‌های مکانیکی: استفاده از روش‌های مکانیکی مانند جراحی یا ضربه برای تخریب تاندون، ایجاد فشار یا کشش به‌وسیله ابزارهای مخصوص و ... این روش‌ها معمولاً سریع‌تر هستند به این حال این روش‌ها هزینه‌بر می‌باشد، نیاز به ابزارهای مخصوص دارد و فردی متخصص برای انجام آن نیاز است. ب) روش‌های حرارتی: استفاده از حرارت برای تخریب بافت تاندون که می‌تواند دقیق‌تر باشد اما نیاز به تجهیزات خاص دارد و ج) به‌کارگیری مواد شیمیایی، در این روش‌ها عموماً از مواد شیمیایی مختلفی مانند ماتریکس متالوپروتئینازها، که به تجزیه ماتریکس خارج سلولی کمک می‌کنند و یا آنزیم کلاژناز استفاده می‌شود [۱۳]. برای مثال دهقان، م.م و همکارانش [۱۴] تغییرات بالینی و اولتراسونوگرافی تاندونیت حاد ایجادشده در تاندون خم‌کننده سطحی بندهای انگشت در اسب را پس از تزریق کلاژناز ارزیابی کردند. متعاقب تزریق کلاژناز که بر روی ۵ رأس اسب سالم، به این نتایج رسیدند که تزریق کلاژناز باعث ایجاد جراحات مرکزی فاقد اکوژنسیته می‌شود و از نظر سونوگرافی ضایعات ایجادشده توسط کلاژناز شبیه به جراحاتی است که به‌طور طبیعی در تاندون‌ها رخ می‌دهند و باعث ایجاد تاندونیت نسبتاً مشابهی در هر دو اندام قدامی اسب‌ها و همچنین بین حیوانات مختلف می‌شود. در مقاله هادی‌پور جهرمی، م و همکاران [۱۵] تحت عنوان «ایجاد مدل تجربی کراتوکونوس در موش سوری با استفاده از کلاژناز» نتایج نشان داد که کراتوکونوس ناشی از تزریق دوز ۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کلاژناز در قرنیه چشم موش سوری اثر تخریب‌کنندگی دارد و تزریق کلاژناز در دوزهای ۱، ۳ و ۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر

به‌طور وابسته به دوز باعث تغییر شکل و کدورت قرنیه می‌گردد.

عباسی و همکاران [۱۶] در مطالعه‌ای با عنوان «جوانه‌زدایی بزغاله به روش شیمیایی با تزریق زیرجلدی اوژنول صناعی: بررسی هیستوپاتولوژی و مورفومتری» نشان دادند که تزریق زیرجلدی اوژنول می‌تواند به‌عنوان یک روش نوین برای جوانه‌زدایی شیمیایی در بزغاله‌ها به‌کار رود. همچنین در پژوهش مولایی و همکاران [۱۷] از تزریق اسانس گل میخک در جوانه شاخی بزغاله به‌عنوان یک تکنیک جدید شاخ‌زدایی شیمیایی استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس گل میخک، رشد شاخ را متوقف می‌کند و پس از پنج روز منجر به نکرور کامل اپیدرم و لایه درم زیرین شد. در روز دهم نیز شواهدی از روند ترمیم زخم مشاهده گردید. به‌طور کلی، این پژوهش اثربخشی اسانس گل میخک در جلوگیری از رشد شاخ بدون تأثیرات جانبی بر پارامترهای بالینی بزغاله‌ها را نشان داد.

در مطالعه آبشناس و همکاران [۱۸] با عنوان «عقیم‌سازی شیمیایی سگ با تزریق داخل بیضه‌ای روغن اوژینا کاریوفیلتا (میخک): یک مطالعه هیستوپاتولوژیک» نشان داده شد که اسانس میخک تغییرات دژنراتیو شدیدی در بافت بیضه ایجاد می‌کند. این تغییرات شامل نکرور اپیتلیوم ژرمینال و حذف کامل سلول‌های زایا و لیدیگ بود و هیچ نشانه‌ای از بازسازی در این سلول‌ها دیده نشد. بررسی میکروسکوپی بیضه‌های تحت درمان با اسانس میخک نیز نکرور شدید لوله‌ای و درجات مختلف التهاب، فیبروز، خونریزی و حتی کلسیفیکاسیون را نشان داد. تاکنون گزارشی درباره تأثیرات التهابی یا تخریبی اوژنول بر بافت تاندون در منابع علمی موجود نیست و بیشتر گزارش‌ها به بررسی تأثیر تزریق کلاژناز بر بافت تاندون برای اهداف آزمایشگاهی و بالینی اشاره دارند [۱۹].

با توجه به نتایج بحث‌شده می‌توان گفت که تزریق اوژنول

تشکر و قدردانی

همه نویسندگان از دانشگاه شهید باهنر برای حمایت از این مقاله و فراهم کردن امکانات لازم در آزمایشگاه‌های مرتبط تشکر می‌کنند.

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی در این پژوهش با کسب اجازه از کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان بررسی و با شناسه اخلاق IR.UK.VETMED.REC. ۰۰۴.۱۴۰۲ تصویب شده است.

سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در بخش گردآوری داده‌ها آنالیزهای آماری و نگارش مقاله مشارکت فعال داشته‌اند.

حمایت مالی

این مطالعه بدون حمایت مالی صورت گرفته است.

تضاد منافع

بین نویسندگان در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

همانند تزریق آنزیم کلاژناز به تاندون باعث تخریب بافت آن می‌شود [۲۰]. به عنوان یک پیشنهاد می‌توان گفت اوژنول با غلظت‌های گروه‌های یک تا پنج با تحریک سلول‌های التهابی و تولید رادیکال‌های آزاد به تخریب بافت‌های تاندونی کمک می‌کند و شرایط را برای تخریب بافت تاندون فراهم می‌آورد و باعث ایجاد میزان متفاوتی التهاب و تخریب در تاندون آشیل رت می‌گردد ولی با توجه به مطالب ذکر شده، التهاب و تخریب ایجاد شده در گروه ۴ برای بررسی روش‌های درمانی تاندونیت مناسب‌تر می‌باشد.

به کمک تزریق یک دوز مناسب، تعادل بین تخریب و التیام به‌خوبی حفظ می‌شود و تأثیرات مطلوبی را در مطالعه بافتی فراهم می‌آورد. این روش می‌تواند به بافت‌شناسان در درک بهتر از مکانیزم‌های تخریب و بازسازی تاندون کمک کند. با توجه به اینکه تنظیم‌نشدن دوز اوژنول می‌تواند باعث آسیب شدید و غیرقابل برگشت به تاندون شود، کنترل واکنش‌های سایر حیوانات به اوژنول نیازمند انجام آزمایش‌های دقیق‌تری است. همچنین با توجه به تعداد حیوانات مورد مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که تزریق اوژنول در تاندون آشیل رت پتانسیل لازم برای بررسی به‌عنوان یک روش جایگزین تحقیقاتی برای کلاژناز را دارد اما برای تأیید قطعی این نتیجه، انجام مطالعات تکمیلی و آزمایش‌های گسترده‌تر ضروری به‌نظر می‌رسد.

References

- [1]. Maffulli N, Wong J, Almekinders LC. Types and epidemiology of tendinopathy. Clinics in sports medicine, 2003; 22(4): 675-92. DOI: 10.1016/s0278-5919(03)00004-8
- [2]. Zecher S, Leach R. Lower leg and foot injuries in tennis and other racquet sports. Clinics in sports medicine, 1995; 14(1): 223-39. PMID: 7712551
- [3]. Silver IA, Brown PN, Goodship AE, Lanyon LE, McCullagh KG, Perry GC, Williams IF. A clinical and experimental study of tendon injury, healing and treatment in the horse. Equine veterinary journal, 1983; (1): 1-43. PMID: 9079042
- [4]. Molloy A, Wood EV. Complications of the treatment of Achilles tendon ruptures. Foot and ankle clinics, 2009; 14(4): 745-59. DOI: 10.1016/j.fcl.2009.07.004
- [5]. Foland JW, Trotter GW, Powers BE, Wrigley RH, Smith FW. Effect of sodium hyaluronate in collagenase-induced superficial digital flexor tendinitis in horses. American journal of veterinary research, 1992; 53(12): 2371-6. PMID: 1476324
- [6]. Keg PR, Van Den Belt AJ, Merckens HW, Barneveld A, Dik KJ. The effect of regional nerve blocks on the lameness caused by collagenase induced tendonitis in the midmetacarpal region of the horse: a study using gait analysis, and ultrasonography to determine tendon healing. Journal of Veterinary Medicine Series A, 1992; 39(1 - 10): 349-64. DOI: 10.1111/j.1439-0442.1992.tb00192.x
- [7]. Thomopoulos S, Parks WC, Rifkin DB, Derwin KA. Mechanisms of tendon injury and repair. Journal of Orthopaedic Research, 2015; 33(6): 832-9. DOI: 10.1002/jor.22806
- [8]. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. The Journal of Bone and Joint Surgery, 2005; 87(1): 187-202. DOI: 10.2106/JBJS.D.01850
- [9]. Millar NL, Murrell GA, McInnes IB. Inflammatory mechanisms in tendinopathy-towards translation. Nature reviews rheumatology, 2017; 13(2): 110-22. DOI: 10.1038/nrrheum.2016.213
- [10]. Wu Z, Wang Y, Yan G, Wu C. Eugenol protects chondrocytes and articular cartilage by downregulating the JAK3/STAT4 signaling pathway. Journal of Orthopaedic Research, 2023; 41(4): 747-58. DOI: 10.1002/jor.25420
- [11]. Council of Europe. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg; 1986 Mar 18. Council of Europe Publications; 1986.
- [12]. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitti C, Denaro V. Movin and Bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. Clinical Orthopaedics and Related Research, 2008; 466(7): 1605-11. DOI: 10.1007/s11999-008-0261-0
- [13]. Marxen S, Lacerda Neto JC, Canola JC, Moraes JR, Ribeiro G. Intralesional polysulphated glycosaminoglycan as treatment of equine collagenase induced tendinitis: clinical, ultrasonographic and histopathologic evaluation.

- Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2004; 56: 701-8. DOI:10.1590/S0102-09352004000600002
- [14]. Dehghan MM, Kazemi MH, Masoudifard M, Baghban EM, Sharifi d, Vajhi AR. Clinical and ultrasonographic findings of collagenase induced tendinitis in the horse. Iranian Journal of Veterinary Surgery, 2007; 2(2): 47-58. DOI: 20.1001.1.20083033.2007.02.2.6.2
- [15]. Moghadam FA, Jahromy MH, Fazelpour S, Khakpour S, Younesian M. Induction of experimental keratoconus in mice using collagenase. J. Physiol. Pharmacol, 2009; 13: 209-15. DOI: 10.3390/cells12232681
- [16]. Abbasi MF, Molaei MM, Kheirandish R, Mostafavi A. Chemical disbudding of goat kids with subcutaneous administration of synthetic eugenol: Histopathology and morphometry. InVeterinary Research Forum 2018 (Vol. 9, No. 3, p. 225). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. DOI: 10.30466/vrf.2018.32084
- [17]. Molaei MM, Mostafavi A, Kheirandish R, Azari O, Shaddel M. Study of disbudding goat kids following injection of clove oil essence in horn bud region. InVeterinary Research Forum 2015 (Vol. 6, No. 1, p. 17). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. PMID: 25992247
- [18]. Abshenas J, Molaei MM, Derakhshnfar A, Ghalekhani N. Chemical sterilization by intratesticular injection of eugenia caryophyllata essential oil in dog: a histopathological study. Iranian Journal of Veterinary Surgery. 2013 Dec 1;8(2):9-16. DOI: 20.1001.1.20083033.2013.08.2.2.0
- [19]. Magnusson SP, Langberg H, Kjaer M. The pathogenesis of tendinopathy: balancing the response to loading. Nature Reviews Rheumatology, 2010; 6(5):262-8. DOI: 10.1038/nrrheum.2010.43
- [20]. Scott A, Cook JL, Hart DA, Walker DC, Duronio V, Khan KM. Tenocyte responses to mechanical loading in vivo: a role for local insulin - like growth factor 1 signaling in early tendinosis in rats. Arthritis & rheumatism, 2007; 56(3):871-81. DOI: 10.1002/art.22426