الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة منتوري–قسنطينة–

الرقم 338/Mag/2009
السلسلة 028/SN/2009

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

مذكرة
قدمت لنيل شهادة الماجستير
في البيولوجيا الخلوية والجزيئية
التخصص: علم السموم الخلوي

عنوان المذكرة

تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة الشندكورة *Ajuga iva(L.)* على التهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين نمط II عند الجرذان

تاريخ المناقشة : 15/10/2009

تقديم :
إسماعيل بودن

أمام اللجنة :

د.عبيدلي نصيرة	أستاذة محاضرة	رئيسا	جامعة منتوري قسنطينة
أ.د.عرعارلخميسي	أستاذ التعليم العالي	مقررا	جامعة فرحات عباس سطيف
د.بغياني عبد الرحمان	أستاذ محاضر	ممتحنا	جامعة فرحات عباس سطيف
د.خليفي توهامي فاطمة	أستاذة محاضرة	ممتحنا	جامعة منتوري قسنطينة

2008/2009

التشكرات

الحمد لله سبحانه وتعالى الذي أكرمنا بنعمة الوالدين، وأعزنا بنعمة الدين، وأمدنا بنعمة العقل والصحة وأتم علينا بنعمة القلم واليقين وسخر لنا كل شيء.

أشكر الله تعالى على منه وفضله الذي أنار لي دربي ويسر لي أمري وأعانني على الصبر والشكر لله أولا وأخرا.

أشكر الأستاذتين الفاضلتين عبيدلي و خليفي توهامي المسؤولتين عن هذا الماجستير والتي أتاحتا لي الفرصة بمواصلة مشواري الدراسي .

أشكر الأستاذ لخميسي عرعار الذي تفضل بالإشراف على هذا البحث والذي كان عونا وموجها لي في جميع الأطوار.

أشكر الأستاذة عبيدلي نصيرة على موافقتها مناقشة هذه الرسالة ورئاسة اللجنة الممتحنة وعلى إرشاداتها ونصائحها الثمينة كما اشكرها على روحها العلمية العالية ودعمها المتواصل لي طيلة فترات هذا البحث وتحفيزها لي على انجازه.

والأستاذة خليفي توهامي فاطمة على موافقتها المشاركة في تقييم هذه الرسالة كعضو ممتحن فيها وعلى مساعدتها الدائمة.

كما أتقدم إلى الأستاذ الفاضل بغياني عبد الرحمان الذي قبل المشاركة في تقييم هذه الرسالة كعضو ممتحن.

كما أتقدم بجزيل الشكر إلى جميع الأساتذة والزملاء والأصدقاء في جامعة فرحات عباس بسطيف الذين أعانوني وشجعوني على إتمام هذا العمل.

كما أتقدم بجزيل الشكر إلى جميع زملائي في هذا الماجستير الذين كانوا عونا لي وخير رفيق طيلة فترات هذا البحث.

الشكر والامتنان والعرفان لوالديا بصبرهما معي ومآزرهما لي وتشجيعهما لي.

الفهرس

الفهرس

	الصفحة
التشكرات	2
الفهرس	3
قائمة الأشكال والجداول	6
المختصرات	8
المقدمة	9
الفصل الأول: إلتهاب المفاصل الرثوي(RA)	
1.وبائية المرض	11
2. المظاهر السريرية للمرض	12
1.2. المظاهر المفصلية	12
2.2.المظاهرالجهازية	13
1.2.2. المظاهر البصرية	13
2.2.2. المظاهر القلبية	14
3.2.2. المظاهر الوعائية	14
4.2.2. المظاهر الرئوية	15
5.2.2.المظاهر العصبية	16
6.2.2.المظاهر الدموية	16
3. الفيزيولوجيا المرضية	16
1.3. أهم الخلايا المتدخلة فيRA	20
1.1.3دور البالعات الكبيرة	20
2.1.3. دور اللمفاويات T	21
1.2.1.3. الخلايا $T\ CD_8$	21
2.2.1.3.الخلايا $T\ CD_4$	22
3.1.3 دور اللمفاويات B	22
4.1.3 . دور خلاياFibroblastes	23
2.3. الوسائط الخلوية الالتهابية	24

1.2.3الايكازونويداتEicosanoids 24
2.2.3الجذور الحرة الأوكسجينية 26
3.2.3. إنزيمات metalloproteinases الحشوية 26
4.2.3.السيتوكينات 27
1.4.2.3.السيتوكينات المحفزة للالتهاب 27
2.4.2.3. السيتوكينات المضادة للالتهاب 29
4. الأضرار الناجمة عن الالتهاب 30
5. الطرق العلاجية للداء الرثوي 32
1.5.تثقيف المريض 32
2.5. المعالجة الفيزيائية والوظيفية 32
3.5. المعالجة الدوائية 32
1.3.5. مضادات الالتهاب غير الستيرويدية 32
2.3.5. الستيروئيدات 33
3.3.5المسكنات . 33
4.3.5. الأدوية المعدلة للمرض 33
4.5. العوامل الحيوية 35
1.4.5مثبطات عامل النخر الورميTNFα . 35
5.5المعالجة التقليدية بالنباتات الطبية 36
1.5.5 . الشندكورة(*Ajuga iva*) 37
6. النماذج الحيوانية للالتهاب المفاصل الرثوي 38
1.6.Adjuvant Arthritis 38
2.6. الالتهاب المفصلي المحرض بواسطة الجدار الخلوي لـــ SCW(streptococci) 39
3.6. التهاب المفاصل المحرض بالكولاجين نمطII 39

الفصل الثاني: المواد والطرق

1. المواد 40
1.1. الحيوانات 40
2.1.1. الكواشف والمواد المستعملة 40

3.1.1. النبات الطبي المستخدم 40
2. الطرق 40
1.2. تحضير المستخلص الميثانولي 40
2.2. تحريض التهاب المفاصل 41
3.2. حجم الأوديما 41
4.2. وزن الجرذان 42
5.2. تحضير الجرعات العلاجية 42
6.2. حساب عدد الكريات الدموية البيضاء 42
7.2. المقاطع النسيجية 42
8.2الدراسة الإحصائية . 43

الفصل الثالث: النتائج

1. دراسة معايير الالتهاب المفصلي المحرض بالكولاجين نمطII 44
2. دراسة الأثر المضاد للالتهاب لنبات الشندكورة 46
1.2. الاستخلاص 46
2.2. تأثير الجرعات العلاجية 46
1.2.2. تأثير الجرعات العلاجية على حجم الأوديما 46
2. 2.2. تأثير الجرعات العلاجية على وزن الجرذان 48
2. 2.3 . تأثير الجرعات العلاجية على عدد الكريات الدموية البيضاء 51

الفصل الرابع: المناقشة

المناقشة 53
المراجع 58
الملخص 66

قائمة الأشكال والجداول

الشكل 1: مختلف المظاهر الجهازية التي ترافق مرض التهاب المفاصل الرثوي. (أ) تشوه على مستوى المفاصل الصغيرة لليدين. (ب) توضع العقيدات تحت الجلدية في الأسطح الباسطة للذراع ،. (ج) التهاب الصلبة مع احمرار العين. (د) الإلتهابات الخارج مفصلية 6

الشكل 2 : الأضرار والتآكلات التي تصيب العظم والغضروف 9

الشكل 3 : اختلال التوازن بين السيتوكينات المؤيدة للالتهاب (pro-inflammatory) والسيتوكينات المضادة له (anti-inflammatory) في النسيج الزلالي 9

الشكل 4: الخلايا البلعمية ودورها في تنشيط الخلايا اللمفاوية Tالمساعدة 10

الشكل 5 : أهم الخلايا المتدخلة في الفيزيولوجيا المرضية للداء الرثوي 11

الشكل 6: دور خلايا FLS في تآكل العظم والغضروف في حالة RA 15

الشكل 7 : الآليات المرضية للالتهاب المفاصل الرثوي. 22

الشكل 8: نبات الشندكورة.(*Ajuga iva*) 28

الشكل 9: التهاب ثنائي للأرجل الخلفية للجرذان المصابة بالتهاب المفاصل المحرض بواسطةالكولاجين نمط II 63

الشكل 10: الأرجل الأمامية والخلفية للجرذ في الحالة العادية. 36

الشكل 11: تأثير مختلف الجرعات العلاجية على حجم الأوديما للجرذان المصابة المعالجة بالمقارنة مع الجرذان الشاهدة.القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري. ( ) المجموعة الشاهدة، ( ) الجرعة 10مغ/كغ، ( ) الجرعة 20مغ/كغ، ( ) الجرعة 40مغ/كغ، ( ) المجموعة السليمة .* زيادة معنوية ($p<0.05$) ، ** زيادة جد معنوية ($p<0.01$). 39

الشكل 12: تأثير الجرعات العلاجية على وزن الجرذان المصابة المعالجة بالمقارنة مع الجرذان الشاهدة. القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري. ( ) المجموعة الشاهدة . ( ) الجرعة 10مغ/كغ . ( ) الجرعة 20مغ/كغ. ( ) الجرعة 40مغ/كغ. ( ) المجموعة السليمة. 40

الشكل13 : تأثير الجرعات العلاجية لمستخلص *Ajuga iva* على عدد الكريات الدموية البيضاء للجرذان المصابة المعالجة بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة.القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري. ( ) المجموعة الشاهدة .( ) الجرعة 10مغ/كغ. (IIIII) 42

الجرعة 20مغ/كغ.(▨) الجرعة 40مغ/كغ.(▩) المجموعة السليمة. .* زيادة معنوية ($p<0.05$) ، ** زيادة جد معنوية ($p<0.01$) ،*** زيادة معنوية جدا.

الجدول 1: تأثير المستخلص الميثانولي لـــ *Ajuga iva* على الالتهاب المحرض بواسطة الكولاجين لدى الجرذان . القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري

المختصرات ABBREVIATIONS

ARA	American Rheumatological Association
APC	Antigen presenting cell
CCP	Cyclic citrullinated peptide
CD	Cluster of differentiation
CIA	Collagen-induced arthritis
CII	Collagen type II
COX	Cyclooxygenase
DMARD	Disease-modifying antirheumatic drug
ESR	Erythrocyte sedimentation rate
FLS	Fibroblastes Like Synoviocyte
HLA	Human leukocyte antigen
H2O2	Hydrogen peroxide
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
IL-1R	Interleukin-1 receptor
IL-1ra	Interleukin-1 receptor antagonis
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
M-CSF	Macrophage colony stimulating factor
MCP-3	Monocyte chemoattractant protein-3
MIP	Macrophage inflammatory protein
MMP	Matrix metalloproteinase
MTX	Methotrexate
MHC	Major histocompatibility complex
NK	Natural killer
NO	Nitric Oxide
NSAID	Non-steroidal anti-inflammatory drug
PGE2	Prostaglandin E2
RA	Rheumatoid arthritis
RANKL	Receptor activator of nuclear factor -kappa B ligand
RF	Rheumatoid factor
ROS	Reactive oxygen species
TCR	T-cell receptor
Th	T helper
TNF	Tumor necrosis factor
TNFR	Tumor necrosis factor receptor
WBC	White blood cell count

المقدمة

المقدمة

يعتبر إلتهاب المفاصل الرثوي (Rheumatoid Arthritis) من أكثر الأمراض الروماتزمية انتشارا. يمس هذا المرض تقريبا جميع دول العالم بنسب متفاوتة. يتميز إلتهاب المفاصل الرثوي بإصابة إلتهابية للغشاء الزلالي تتركز أغلبها على مستوى مفاصل اليد والقدم والركبة بالإضافة إلى العديد من المفاصل الأخرى. يعتبر هذا المرض من أمراض المناعة الذاتية حيث تحدث عند الإصابة إختلالات في الجهاز المناعي الذي يهاجم المفاصل مسببا تآكل الغضروف والعظم مع ظهور العديد من المظاهر الخارج مفصلية.

دلت الدراسة الفيزيولوجية لإلتهاب المفاصل الرثوي على تدخل العديد من الجزيئات وخلايا المناعة الطبيعية والمكتسبة في نشوء وتطور المرض. تستعمل هذه المكونات كأهداف في البحث عن علاج فعال لهذا المرض.

تستعمل النماذج الحيوانية في مرض التهاب المفاصل الرثوى في البحث عن الأسباب والآليات المرضية التي ينتج عنها الالتهاب المفصلي وفى مجالات الصناعة الدوائية لاختبار العوامل المضادة للالتهاب. ومن أهم المعايير التي تم من خلالها اختيار هذه النماذج سهولة تحريض المرض عند الحيوانات وفى مدة معقولة وتشابه العوامل والآليات الممرضة مع ما يحدث عند البشر. يعتبر التهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين II من بين أهم هذه النماذج التي تستعمل بشكل واسع في دراسة التهاب المفاصل الرثوي عند الإنسان.

الهدف الرئيسي من علاج التهاب المفاصل الرثوي هو التخفيف من الألام والتصلب الذي يصيب المفاصل والتخفيض من تطور المرض. من بين أهم الأدوية المستعملة في علاج هذا المرض مضادات الإلتهاب الستيرويدية والعقاقير ضد الروماتيزمية المعدلة للمرض. أدت التأثيرات السلبية لهذه الأدوية إلى التفكير في طرق علاجية جديدة تكون أكثر فعالية وبتأثيرات سلبية أقل، ومن بين أهم هذه الطرق إستعمال النباتات الطبية.

تعتبر *Ajuga iva.L.* من بين النباتات المستعملة تقليديا في علاج الأمراض الروماتيزمية.

وسوف نحاول من خلال هذا البحث وبعد تحريض إلتهاب المفاصل لدى الجرذان من الصنف Albino Wistar،

دراسة تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة *Ajuga iva.L.* على التهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين.II.

الهدف من البحث:

- تحريض الالتهاب المفصلي لدى الجرذان بواسطة الكولاجين نمط II.
- متابعة المعايير الخاصة بالالتهاب المفصلي للجرذان المصابة .
- تحضير المستخلص الميثانولي من نبتة *Ajuga iva* L.
- دراسة الأثر العلاجي بمختلف الجرعات العلاجية على تطور المرض.

الدراسة المرجعية

الفصل الأول

إلتهاب المفاصل الرثوي

(RA)

الفصل الأول: إلتهاب المفاصل الرثوي(RA)

تم وصف إلتهاب المفاصل الرثوي (RA) لأول مرة من قبل الطبيب الفرنسي Beauvais سنة 1800، وإشتهر RA باسم "الروماتيزم المزمن" الذي كان يشبه النقرص في الكثير من الخصائص السريرية. أجريت العديد من الأبحاث على هذا المرض الذي أصبح يعرف باسم النقرص الروماتيزمي، ومنذ سنة 1858 أطلق عليه الباحث Garrod إسم التهاب المفاصل الرثوي. يُعرف RA على أنه مرض مناعي ذاتي (Ziff، 1990)، مزمن والتهابي الذي يصيب المفاصل بشكل أساسي، ويعتبر من أكثر الأمراض المفصلية انتشارا (Gabriel وآخرون، 1990). يتميز RA بإصابة التهابية متناظرة للمفاصل خاصة الصغيرة منها مثل اليد والقدم حيث تؤدي إلى تآكل وتخريب المفاصل. ينتج عن هذا التخريب إعاقة وظيفية للمصاب تشكل خطرا على حياته (Cohn de lara، 2006).

من أهم مميزات RA: إلتهاب السائل الزلالي وتآكل الغضروف والعظم. مراحل تطور هذا المرض جد معقدة حيث يتم تكاثر للخلايا الزلالية التي تتليف وتشكيل pannus ثم تآكل الغضروف والعظم. تتم هذه المراحل المختلفة عن طريق تدخل العديد من الوسائط نذكر منها السيتوكينات، البروستاغلوندينات والأنزيمات المحللة. تعتبر السيتوكينات المحفزة للالتهاب جد مهمة فيRA (Feledman وآخرون، 1996).

1. وبائية المرض

يبلغ معدل انتشار RA نحو 3 % من السكان، حيث لوحظت إصابة النساء بنحو 2-3 أضعاف الرجال قبل سن اليأس وبعده تصبح النسبة متساوية مما يدل على وجود دور للهرمونات الجنسية، حيث وجد أن نسبة الهرمون الجنسي الذكري (testosterone) تكون ضعيفة عند الرجال المصابين بـــ RA، كما أن المرض يتحسن أثناء فترة الحمل ويعود أثناء المرحلة المبكرة من النفاس وأن حدوثه يكون بنسبة قليلة عند السيدات اللواتي يتناولن حبوب منع الحمل(Brennan وآخرون، 1994). ذروة حدوث المرض بين 35-50 سنة ومن الممكن في حالات نادرة أن يظهر مند الطفولة.

يعتبر التدخين أحد العناصر التي تعمل تحريض ارتفاع إنتاج العوامل الروماتيزمية مما يساعد على تطور المرض خصوصا عند الرجال (Tuomi وآخرون، 1990)، كما اعتبر عدد كبير من

العوامل الجرثومية (الفيروسات والبكتيريا) من محرضات RA. وتزداد خطورة حدوث المرض عند الأشخاص ذوى المستضداد HLA-DW4, HLA-DW14, HLA-DR1,HLA-DR4 ، حيث يعتبر HLA-DR4 أكثرها شيوعا وخطورة فوجوده دليل على داء رثوي حاد وشديد، كما يتميز المرضى ايجابيو عامل الرثية (Rheumatoid Factor : RF) أن لديهم أعراض مرضية أشد، بالإضافة إلى تآكلات عظمية. من المعروف في هذا المرض أن الإصابة لا تتوقف على المفاصل بل يمكن أن تتعداها إلى أعضاء أخرى وهذا ما يسمى بالظواهر خارج مفصلية (O'Gradaigh وآخرون، 2001).

2. المظاهر السريرية للمرض

يمكن أن تأخذ الأعراض الأولية لـــ RA (غالبا مفصلية) أحد الشكلين: بداية مفاجئة بطيئة أو بداية مفاجئة متفجرة (تتطور بسرعة). من 55 حتى 65 % من الحالات تكون بشكل مفاجئ حيث تستمر من بعض أسابيع إلى عدة شهور، في حين أن من 8 إلى 15 % من المصابين لديهم بداية أعراض حادة تبلغ ذروتها في بضعة أيام (Khurana وBerney، 2005).

1.2. المظاهر المفصلية

تتمثل أهم المظاهر والأعراض التي ترافق هذا المرض في حدوث تورمات مع آلام على مستوى المفاصل المصابة وقد يحدث في أي مفصل ولكن عادة تؤثر على المفاصل الصغيرة لليد والقدم وكذلك الرسغين والركبتين والكتفين والمرفقين والكاحل، فتتأثر حركة المفصل المصاب مع استمرار الالتهاب فيصعب على المريض تحريك المفصل مما يؤدي مع مرور الوقت إلى ضمور في العضلات المحيطة به، بالإضافة إلى تصلب المفاصل لأكثر من 30 دقيقة في الصباح عند الاستيقاظ من النوم وتشوهات على مستوى المفاصل (الشكل1، أ) خاصة الصغيرة (اليدين والرسغين)، كما يتميز هذا المرض بأنه يمر بفترات ازدياد النشاط (الهيجان) حيث تزداد شدة الأعراض ويؤثر RA على فقرات العنق وخصوصا الفقرتين الأولى والثانية ويؤدى إلى الم وتيبس العنق كما قد يعانى المريض من ارتفاع درجة الحرارة وتعب وإرهاق ونقص في الوزن خصوصا في فترات ازدياد نشاط المرض(Clave، 2004).

2.2. المظاهر الجهازية

رغم أن التهاب المفاصل الرثوى يؤثر بشكل رئيسي على المفاصل إلا أنه قد يؤثر على أعضاء أخرى، ويمكن أن يحدث بشكل حاد مع أعراض جهارية عند المصابين، حيث يعتبر RA مرضا جهازيا يكون عادة مصحوبا بفقدان الشهية (anorexia) ونقص الوزن وآلام عضلية (Myalgia) وفي بعض الحالات يمكن أن تسبق الأعراض المفصلية. تظهر ضخامة العقد اللمفاوية Lymphadenopathy بشكل شائع قريبة من المفاصل المصابة وتكون عادة غير مؤلمة (Scott وآخرون، 1981). يظهر عند بعض المصابين تخلخل العظام (Osteoporosis) والضعف العضلي حول المفصل بشكل مباشر قريبا من المفصل المخرب، أما تخلخل العظام والضعف العضلي العام فيظهر في المراحل المبكرة للمرض كإختلاط ثانوي للالتهاب الجهازى.

تظهر العقيدات تحت الجلدية (Subcutaneous nodules) عند 20 % من المرضى، تتوضع عادة في مناطق الضغط والاحتكاك مثل السطوح المبسطة للذراع تحت المرفق (الشكل 1، ب) (Dreano وآخرون، 2002) وفروة الرأس (Scalp) والصفن (Sacrum) ولوح الكتف (Scapula) ووتر أخيل (Tendon achilles) بالإضافة إلى الأصابع. عادة ما تكون العقيدات مرفقة بايجابية عامل الرثية (Eyquem وآخرون، 1981).

1.2.2. المظاهر البصرية

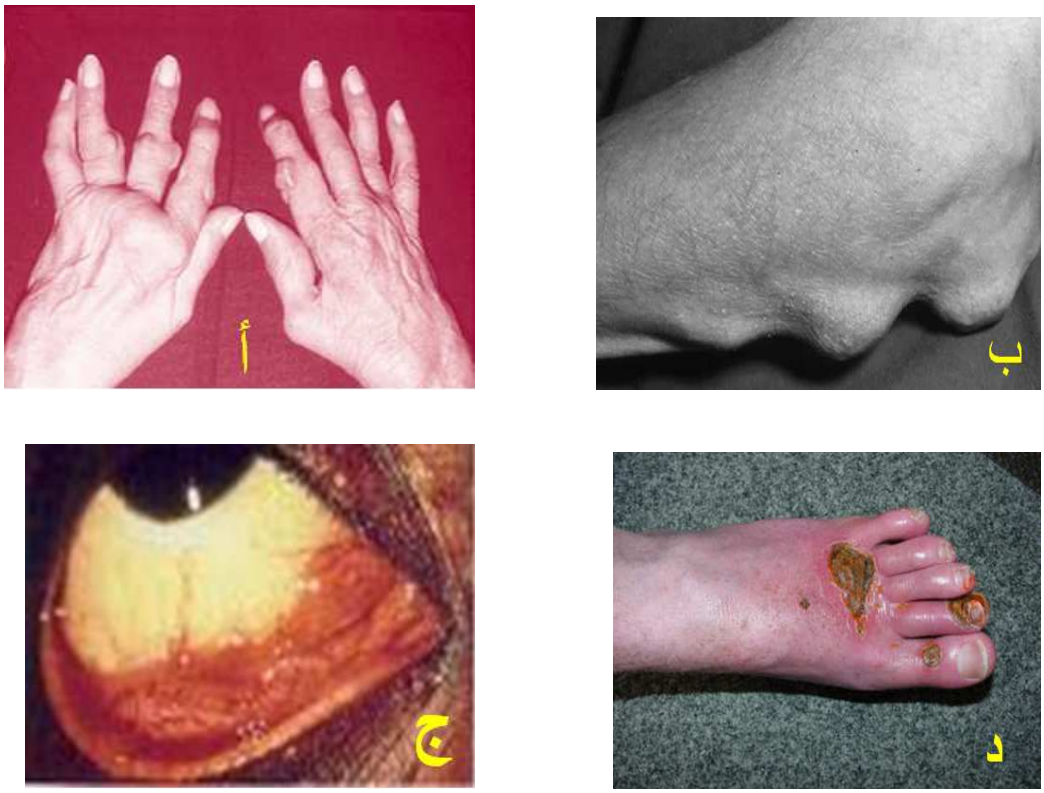
إن التهاب ظاهر الصلبة (Episcleritis) شائع في الداء الرثوي وهو عادة غير مؤلم، كما يترافق مع خلل في الرؤية ولا يحتاج علاجا خاصا، ويحدث إلتهاب الصلبة (Scleritis) بشكل أقل لكنه أكثر خطورة حيث تصبح العين حمراء (الشكل1،جـــ) (Khurana وBerney، 2005) ومؤلمة مع تغيرات التهابية مؤدية لحدوث إلتصاقات في القزحية (Synechiae) التي قد تؤدى بدورها إلى ضعف في الرؤية, كما قد يحدث التهاب القرنية والملتحمة الجافة (eratoconjunctivitis sicca) (متلازمة جورغن الثانوية) عند نحو 10 % من المرضى، حيث يؤدى نقص إفراز الدمعي إلى حرقة أو حكة مرفقة مع خيوط مخاطية سميكة يمكن الكشف عنها باختبار شيرمر (Schirmer test) (Cooper وآخرون، 1990).

2.2.2. المظاهر القلبية

يظهر التهاب التامور (Pericarditis) غير العرضي عند ثلث المرضى ويمكن أن يترافق مع انصباب تامورى (Pericardial effusion) أو التهاب تامور عاصر (Constrictive pericarditis) في حالات نادرة (del Rincon وآخرون، 2001).

3.2.2. المظاهر الوعائية

يشاهد التهاب الأوعية المنخر (Necrotizing vasculitis) المنتشرة عند المرضى ذوى العقد الرثوية أو مع ايجابية عامل الرثية، تتنوع التظاهرات بحسب الأوعية المصابة ومكان الإصابة. يترافق التهاب الأوعية الصغيرة للشرينات (Arterioles) النهائية والأوعية الشعرية (Capillaries) مع آفات لا تتجاوز تمزق الثنية الظفرية. أما المساحات الواسعة من التنخرات الجلدية فيمكن أن تدل على وجود حالة شديدة تدعى الداء الرثوي الخبيث (Malignant RA) حيث يعاني المرضى من حمى شديدة مع أعراض جهازية شديدة وظواهر خارج مفصلية متعددة (الشكل1،د)،(Dreanoوآخرون، 2002). أما التهاب الشرايين المتوسطة والذي يظهر بشكل التهاب الشريان العقدي المتعدد (Polyarteritis nodosa) تسبب في انسدادات كارثية للشرايين المساريقية والكلوية والدماغية والإكليلية 'Coronary' (Wallberg-Jonsson وآخرون، 2001).



الشكل 1: مختلف المظاهر الجهازية التي ترافق مرض التهاب المفاصل الرثوى. (أ) تشوه على مستوى المفاصل الصغيرة لليدين(Clave ، 2004)، (ب) توضع العقيدات تحت الجلدية فى الاسطح الباسطة للذراع(Dreano وآخرون، 2002)، (ج) التهاب الصلبة مع احمرار العين (Khurana وBerney، 2005), (د) الإلتهابات الخارج مفصلية(Dreano وآخرون، 2002)

4.2.2. المظاهر الرئوية.

يعد التهاب الاسناخ المليف (Alveolitis fibrosing) من أشهر المظاهر الرئوية للداء الرثوي ، ومن المظاهر الأخرى انصباب الجنب (Plural effusion) الذي يعد شائعا عند الرجال موجبي العامل الرثوي. تظهر العقيدات الرثوية في الرئة بشكل شائع، ويمكن أن تؤدى إلى تشخيص خاطئ في حالة الانتقالات الرئوية (Metastatis) أو العقيدات السلية (tuberculosis). إن ترافق العقيدات الرئوية مع تغبر الرئة (Pneumoconiosis) يدعى بمتلازمة كابلان (Caplan's Syndrome). ومن المظاهر الأخرى نجد التهاب القصبات (Bronchitis) وتوسع القصبات (Bronchiecatasis) (Peter؛ Eric، 2004).

5.2.2. المظاهر العصبية

تعد الاعتلالات العصبية الانحصارية (Entrapment Neuropathy) شائعة يسببها الضغط الناتج عن نمو وزيادة حجم الغشاء الزلالى، وتعد متلازمة نفق الرسغ (Carpal tunnel syndrome) من أشهر الاضطرابات الحاصلة. ويمكن في بعض الحالات أن تحدث اعتلالات عصبية متناظرة محيطية مؤدية إلى أعراض وعلامات خفيفة من نقص الحس على شكل فقدان الحس بالقفاز والجورب (Glove and Stocking sensory loss)، يمكن أن يحدث التهاب الأعصاب نتيجة انسداد الأوعية المغذية لها في حالات التهاب الأوعية. كما يحدث انضغاط النخاع الشوكي الرقبي (Vaillancourt، 1990).

6.2.2. المظاهر الدموية

يعد فقر الدم المرافق للمرض المزمن وغير المستجيب للعلاج الفموي بالحديد من أشيع الاختلالات الدموية. ويمكن أن يترافق مع نقص في الحديد نتيجة التريف الهضمي الناتج عن مضادات الالتهاب غير الستيرويدية المستخدمة في العلاج. تدل كثرة الصفيحات (Thrombocytosis) على فعالية المرض الجهازية. يمكن في بعض الحالات أن تحدث متلازمة فيلتي (Felty's Syndrome) والتي تتضمن الضخامة الطحالية (Splenomegaly) ونقص الخلايا المتعادلة (Neutropenia) والداء الرثوي (Piper وآخرون، 2006).

3. الفيزيولوجيا المرضية

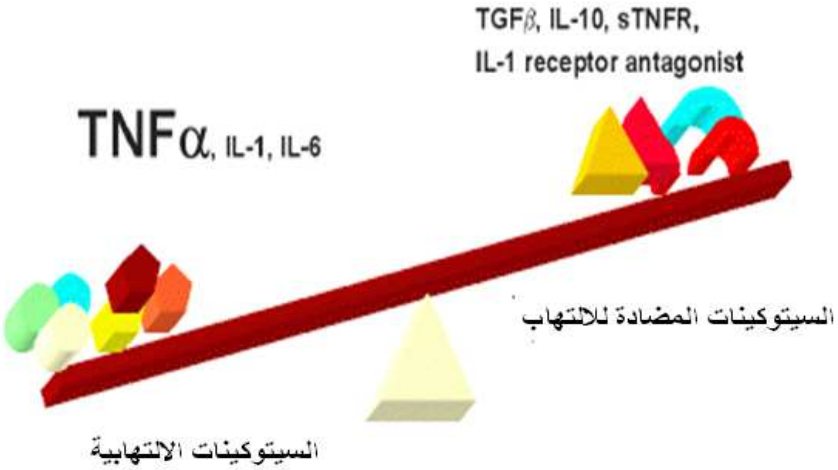
تعد الآليات المناعية المرضية (immunopathologie) لمرض التهاب المفاصل الرثوى غير واضحة، فبوجود عوامل ممرضة مجهولة السبب تحدث استجابة مناعية غير نوعية، حيث تبدأ الآفات المفصلية في الداء الرثوي بآفة التهابية ضمن الغشاء الزلالي تدعى pannus وهى عبارة عن تكاثر في النسيج الزلالي مع ارتشاح الخلايا وحيدات النواة خاصة الخلايا اللمفاوية T، فيغزو هذا النسيج السطح الغضروفي والعظمى للمفصل مؤديا لتشكل تآكلات فيه (الشكل 2)، يغزو بعد ذلك الأنسجة الأخرى كالأوتار (Sany وآخرون،1997؛ Bresnihan وآخرون، 1999).

أمكن تقسيم الآليات المرضية إلى ثلاثة مراحل رئيسية (Combe وآخرون، 2001): المرحلة

الأولى هي مرحلة البداية حيث يتم فيها هجرة بعض الخلايا إلى النسيج الزلالي وتتميز هذه المرحلة على أنها غير نوعية وتعتمد على مختلف العوامل البيئية التي لها صلة سريرية بالتهاب المفاصل وهذا الروماتيزم قد ينتهي في كثير من الأحيان بالشفاء الكامل في وقت قصير أو طويل أو يقود إلى التهاب مزمن مسؤول عن المرحلة الثانية التي تتميز بالتهاب النسيج الزلالي وتجنيد خلوي مع تطور قليل الحدة للخلايا الزلالية. تعد هذه المرحلة مشابهة لالتهاب روماتيزمي مزمن لكن غير نوعي. المرحلة الثالثة تشمل عملية تخليق الأوعية الدموية (angiogenesis) مهمة جدا، تتضمن اتصالات خلوية، تطور وانتشار التهاب النسيج الزلالي وتدمير المفاصل. تتسبب هذه المرحلة في تحطيم العظام والغضروف بشكل غير عكسي. كل هذه المظاهر تمثل الأعراض المميزة لـــ RA (Raissouni وآخرون، 2005).

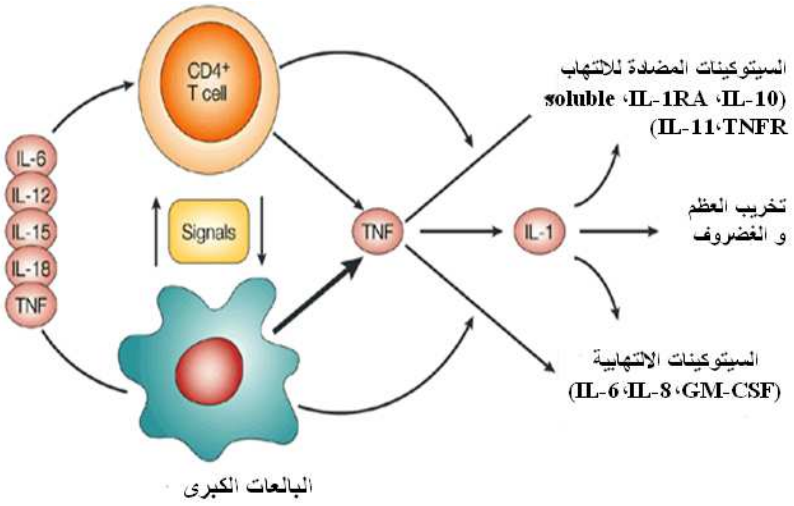
ينتج الضرر الذي يحدث على مستوى الغشاء الزلالي جراء أربعة أنواع من الآليات التي تتمثل في آليات إنزيمية غير نوعية بواسطة تحرير كمية كبيرة من الإنزيمات المحللة للبروتينات (metalloproteases، collagenases) التي تعمل على تدهور الغضروف، وآليات مناعية بوساطة خلطية (humoral) مع إنتاج العوامل الرثوية (FR) (غلوبيولينات مناعية مضادة للـــ IgG)، أجسام مضادة ذاتية لعدد من المستضدات (anti-nuclear, anti-cytoplasm, anti-collagen … antibodies)، وبوساطة خلوية مع فرط نشاط الخلايا اللمفاوية المساعدة في غشاء النسيج الزلالي، بالإضافة إلى آليات يقوم بها مختلف السيتوكينات ولا سيما IL-1 ، IL-6، TNFα بواسطة أثرها الالتهابي وIL-8 وأثره على الخلايا المتعادلة متعددة النوى (Kardes وآخرون، 2004). وتلعب السيتوكينات المحفزة للالتهاب دورا ممرضا مفتاحيا في العمليات الالتهابية وعلى تكاثر النسيج الزلالي وتحطيم الغضروف، حيث يحدث داخل المفاصل الملتهبة اختلال في التوازن بين السيتوكينات المحفزة مثل TNFα، IL-1، IL-6 والسيتوكينات المضادة للالتهاب والمتمثلة في IL-10 ، IL-4، IL-13 (الشكل3) كما أن مستقبلات TNFα الذائبة ومنافس مستقبل IL-1 (IL-1−RA) والمقدمة بكمية قليلة غير كافية إذ لا يمكنها إيقاف الفعل الالتهابي (Golbach وآخرون، 2003).

الشكل 2 : الأضرار والتآكلات التي تصيب العظم والغضروف(Brooks ، 1998)



الشكل3 : اختلال التوازن بين السيتوكينات المؤيدة للالتهاب (pro-inflammatory) والسيتوكينات المضادة له (anti-inflammatory) في النسيج الزلالي (Sany وآخرون، 1997)

على مستوى الغشاء الزلالي تتميز الآليات المناعية للداء الرثوي على أنها معقدة، حيث يوجد تداخل كبير بين الخلايا اللمفاوية T وB والبالعات الكبيرة macrophages والسيتوكينات. ويعتقد أن أول آلية تبدأ بتفعيل أو تنشيط الخلايا اللمفاوية $TCD4^{+}$ ويتم هذا التنشيط بواسطة الخلايا المقدمة للمستضد (الشكل4) (Sany وآخرون، 2003؛ Bresnihan وآخرون، 1999).



الشكل 4: الخلايا البلعمية ودورها في تنشيط الخلايا اللمفاوية Tالمساعدة (Brooks ، 1998)

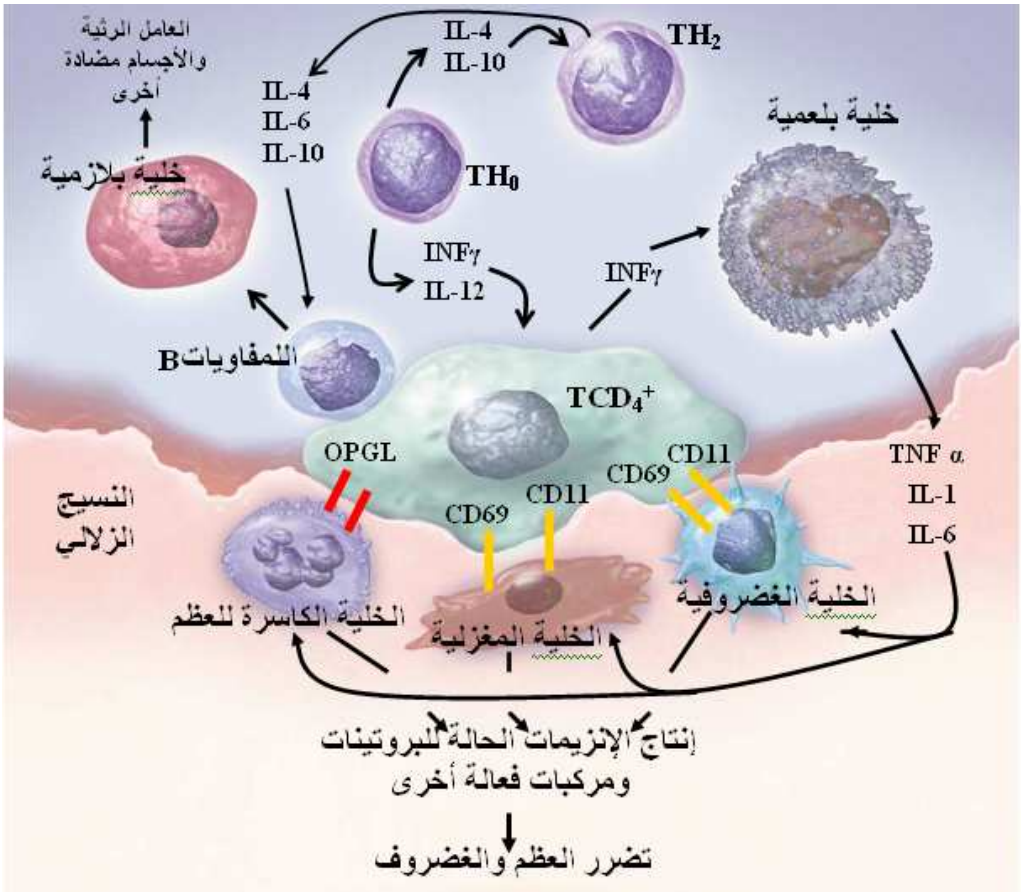
يؤدى تنشيط $TCD4^+$ إلى إفراز الانترلوكين 2 (IL-2) والانترفرون غاما (INFγ) حيث تعمل على تنشيط كل من الخلايا T الأخرى واللمفاويات B والخلايا الزلالية وهى التي تلعب الدور الأهم في العملية الالتهابية. يؤدى تفعيل الخلايا اللمفاوية B إلى تشكيل خلايا منتجة للأجسام المضادة. كما أن تنشيط الخلايا الزلالية يؤدى إلى إفراز إنزيمات الحشوة المحللة للبروتينات (Matrix metalloprotienases : MMPs) التي تعمل على تخريب الغضروف والعظم مباشرة، ويتم تحرير عدد من السيتوكينات (IL-1، TNFα، GM-CSF) ويعد الـــ TNF العامل الاساسى في تفعيل MMPs، أما IL-1 فهو الأساس في حث البروستاغلوندين PGE2 (prostaglandin E2)، كما أن لكل من للـــ TNFαوIL-1 دورا هاما في تنشيط الخلايا الكاسرة للعظام Osteoclastes مؤدية إلى زيادة التخريب العظمى والغضروفي (Colville-Nash وآخرون، 1992).

على مستوى السائل المفصلي (Synovial fluid : SF) تكون الخلايا المتعادلة هي المسيطرة ويتم جذبها بواسطة عدد من عوامل الجذب الكيميائي مثل المتممة واللوكترين LTB4. تعمل هذه الخلايا على توليد الأنواع الأكسجينية النشيطة التي تلعب دورا في تآكل الغضروف والعظم، كما أن الإنزيمات التي تفرزها الخلايا المتعادلة مثل الكولاجيناز (collagenases) وغيرها تسبب الائتكال الغضروفي السطحي (Ferrara وآخرون، 1991). يوجد في السائل الزلالي غلوبيولينات مناعية مكونة بشكل أساسي من عامل الرثية من النوع IgM وIgG تشكل معقدات مناعية وتؤدي إلى تفعيل المتممة التي تزيد من الالتهاب. ومنه فان RA ينطلق بدءا بنشاط $TCD4^+$ التى تضاعف

الاستجابة المناعية وذلك بتحفيز خلايا مناعية أخرى وهى الخلايا أحادية النواة وخلايا Fibroblastes، وخلايا chondrocytes والخلايا الكاسرة للعظم (Ostéoclastes)، وأن تحرير السيتوكينات خاصة TNFα، IL-1وIL-6 تحدث إلتهابا على مستوى النسيج الزلالي (Weyand، 2000).

1.3. أهم الخلايا المتدخلة في RA

تتميز الآليات المرضية لمرض RA بتدخل العديد من الخلايا التي تملك دورا فعالا فى مختلف المراحل ومن أهم هذه الخلايا نجد الخلايا اللمفاوية B و T، البالعات الكبيرة، الخلايا الغضروفية، الخلايا الكاسرة للعظم بالإضافة الى أنواع أخرى (الشكل 5).



الشكل 5 : أهم الخلايا المتدخلة في الفيزيولوجيا المرضية للداء الرثوي (Ernest وآخرون، 2002)

1.1.3. دور البالعات الكبيرة

تلعب البالعات الكبيرة دورا رئيسيا فى التهاب الغشاء الزلالي عند الأشخاص المصابين بـــ RA حيث تتعلق قوة وشدة نشاطها مع شدة المرض (Mulherin وآخرون، 1996). تقوم هذه

الخلايا بإفراز الجزيئات المحفزة للالتهاب أو السيتوكينات المنظمة وعوامل النمو، IL-1، IL-6، IL-10، IL-13، IL-15 ، IL-18، TNF-α، chemokines (GM-GSF، IL-8)، metalloproteinases و neopterin. كل هذه الجزيئات تم الكشف عنها فى المفصل الملتهب (Kinne وآخرون، 2000).

2.1.3 .دور اللمفاويات T

لا يزال الدور الحقيقي للخلايا اللمفاوية T أثناء الآليات المرضية لمرض RA غير مفهوم تماما، إلا أنها تلعب دورا مهما خصوصا وأن شدة وخطورة المرض مرتبط بنوع المستضدات HLA-DR حيث يعتبر المستضد HLA-DR4 أكثرها شيوعا وخطورة فى نفس الوقت (van Zeben وآخرون، 1991). كذلك وجدت أعداد كبيرة من الخلايا $CD4^+$ فى الغشاء الزلالي للمرضى المصابين بـــ RA (Iannone وآخرون، 1994).كما أدى زرع اللمفاويات T المأخوذة من حيوانات مصابة (من النسيج الزلالي) فى أحد النماذج الحيوانية إلى ظهور المرض (Klareskog وآخرون، 1983).

1.2.1.3. الخلايا CD_8 T

تلعب الخلايا CD_8 T دورا مهما في الاستجابة المناعية، ويتمثل الدور الطبيعي لها في الحماية من الإصابات الفيروسية والأورام. تقوم هذه الخلايا بوظيفتها عن طريق قتل جميع الخلايا التي تعبر عن MHC القسم I والمستضدات البيبتيدية المرتبطة عليه. بالإضافة إلى ذلك تفرز الخلايا CD_8 T كميات معتبرة من عامل النخر الورمي (TNF) وIFNγ التي تساهم بطريقة مباشرة أو غير مباشرة في تخريب الخلايا المصابة بالعدوى (Skapenko وآخرون، 2005). ويتمثل الدور الأساسي الذي تلعبه الخلايا CD_8^+ في التطور المرضي لازال غير معروف بشكل جيد، إلا أن بعض الأبحاث دلت على أن التحفيز الذاتي لهذه الخلايا يمكن أن يساهم في الالتهابات الروماتيزمية (Lipsky وHendrik، 2004).

2.2.1.3. الخلايا CD_4 T

اتضح في السنوات الأخيرة أن الخلايا CD_4 T تلعب دورا مهما، حيث تكون مسؤولة عن مراقبة وانطلاق الاستجابة المناعية المتخصصة (Skapenko وآخرون، 2005). تقسم الخلايا Th إلى قسمين حسب السيتوكينات المفرزة. تتطور Th_1 خلال الإصابة بالعدوى البكتيرية داخل خلوية وتفرز خلال نشاطها سيتوكينات ما قبل الالتهاب IFNγ، IL-2 وlymphotoxin (TNF-β)، تنشط هذه السيتوكينات البالعات الكبيرة لتفرز الجذور الأوكسيجينية وأكسيد النتريك (NO)، تحفز قيامها بالابتلاع وتزيد من شراهتها للمستضد وقدرتها على عرض جزيئاته على MHCII. تفرز Th_2 السيتوكينات المضادة الالتهاب IL-4 وIL-5 وIL-6، IL-10 وIL-13، وهي تتدخل خاصة في الاستجابة المناعية الخلطية وتخفض من نشاط البالعات الكبيرة التي يتدخل فيها IL-4 بشكل كبير (Lipsky وHendrik، 2004).

3.1.3. دور اللمفاويات B

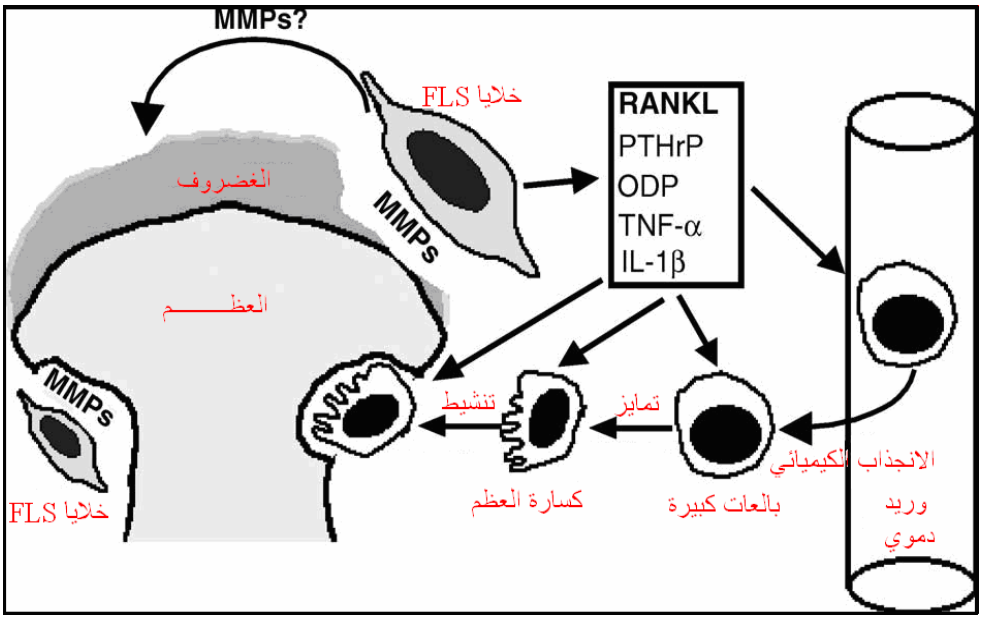
بالرغم من أن دور الخلايا T وAPC في التطور المرضي RA تمت دراسته بشكل واسع، فان الدور الأساسي للخلايا B لم يتم التعرف عليه بشكل دقيق لحد الآن. إن الميزة الأساسية لـــ RA هي الالتهاب المزمن للغشاء الزلالي في المفاصل المصابة. بالمقارنة بالغشاء الزلالي العادي فان الغشاء الزلالي الملتهب يتميز بتسرب اللمفاويات، تنتشر هذه اللمفاويات في الغشاء الزلالي وتأخذ شكل جريب، حيث تحتوي هذه الجريبات على تكتلات من الخلايا T المحيطية حول الأوعية الدموية التي تحاط بالخلايا B. يملك حوالي 30 % من المصابين سائل زلالي يحتوي على جريبات متسربة. تعتبر الخلايا B المكون الأساسي للجريبات المتسربة يمكن أن تتمايز هذه الخلايا إلى خلايا بلازمية (Panayi، 2001).

لقد اقترح في البداية على أن السبب الرئيسي في RA هو الخلايا B، ويرجع ذلك إلى المستويات المرتفعة من الأجسام المضادة الذاتية عند المصابين. من أهم هذه الأجسام المضادة العوامل الرثوية (RF) التي هي عبارة عن أجسام مضادة ذاتية موجهة ضد القطعة Fc للغلوبيولين المناعي IgG. تنتج RF خلال أغلب الاستجابات المناعية ولكن RF من الصنف IgM ترتبط بأمراض المناعة الذاتية (Carson وآخرون، 1991). بالإضافة إلى إنتاج RF ، يمكن للخلايا B أن تلعب دور الخلايا APC، حيث تجمع هذه الخلايا المستضد المتخصص من خلال الغلوبيولينات

المناعية الموجودة على سطحها. ثم اندماج وتحليل المستضد بواسطة الخلايا B المتخصصة (Chaiamnuay وBridges، 2005). يتم عرض هذا المستضد للخلايا T التي تتنشط وتقوم بتحفيز العديد من الاستجابات تساهم في تطور مرض RA (Panayi، 2001).

4.1.3. دور خلايا Fibroblastes

يحتوي النسيج الزلالي العادي من الناحية التشريحية على نوعين مختلفين من الطبقات؛ الطبقة السطحية (البطانة الزلالية) وطبقة تحتية (تحت البطانة الزلالية)، تتصل الطبقة البطانية بشكل مباشر مع مكونات التجويف الداخلي، يتراوح سمكها بين 20 و40 ميكرومتر، وعمقها من واحد إلى ثلاث خلايا تتميز بتنظيم جيد ووعائية و هي غير مدعمة بغشاء قاعدي. تتميز الطبقة التحتية بتنظيم أكثر واحتوائها على أوعية دموية. تحتوي الطبقة البطانية والتحتية على نمطين من الخلايا الغالبة هي الخلايا الزلالية المشابهة للبالعات كبيرة(Macrophages Like Synovial) (خلايا زلالية النمط A) والخلايا الزلالية المشابهة للفيبروبلاست (Fibroblastes Like Synoviocyte) (خلايا زلالية النمط B). تمثل FLS ثلثي الخلايا الزلالية (Adam وآخرون، 2005). تم التأكيد على أن زيادة عدد FLS يسبق تجمع الخلايا الالتهابية الأخرى وهذا يدل على دورها المهم كما أنها تتدخل في أمراض المناعة الذاتية وذلك بواسطة العديد من الآليات. تستجيب خلايا FLS بإفراز العديد من الوسائط الالتهابية المختلفة مثل IL-1، IL-6 و TNF-α (Deng وLenardo، 2006)، كما تقوم بإفراز العديد من الإنزيمات المحللة للحشوة الخارج خلوية والأنسجة الضامة (Tolboom وآخرون، 2002؛ MacNaul وآخرون، 1990). بالإضافة إلى الدور الذي تلعبه خلايا FLS في الالتهاب فبإمكانها أن تحرض تخريب الأنسجة في أي مكان (الشكل 6)، (Mor و آخرون، 2005).



الشكل 6: دور خلايا FLS في تآكل العظم والغضروف في حالة RA. (Mor و آخرون، 2005)

بإمكان خلايا FLS في pannus المجاورة للغضروف أن تغزو الغضروف بشكل مباشر عن طريق إنزيمات MMPs، كما تفرز العديد من العوامل مثل RANKL (Receptor activator of nuclear factor-κB Ligand) الذي يملك العديد من الأدوار مثل خاصية جذب البالعات الكبيرة كما يحرض تمايز البالعات الكبيرة إلى كسارة العظم وتنشيط كسارة العظم الموجودة على واجهة العظم التي تؤدي إلى تآكله.

2.3. الوسائط الخلوية الالتهابية

تعتبر الوسائط الالتهابية المسؤول الأول عن تطور الأعراض السريرية للالتهاب حيث تسبب توسع الأوعية الدموية وزيادة نفاذيتها وهجرة الكريات الدموية البيضاء إلى مكان الالتهاب. تنتج هذه الوسائط من الطلائع الموجودة في البلازما أو تصنع أثناء نشاطية الالتهاب أو في الأنسجة الخلوية. وقد تم التعرف على مئات الجزيئات، البعض منها جد متخصص والبعض الآخر يملك تأثيرا واسعا (Moilanen، 2002).

1.2.3. الايكازونويدات Eicosanoids

يعتبر حمض الأراشيدونيك (arachidonic acid) طليعة لمجموعة كبيرة من الجزيئات التي تسمى eicosanoids، يشتق AA من الفوسفليبيدات الغشائية تحت التأثير المباشر لإنزيم الفوسفوليباز A2 أو

بطريقة غير مباشرة تحت تأثير إنزيم الفوسفوليباز C (Larsen وHenson، 1983). تقسم الايكازونويدات إلى كل من prostacyclins (PGI2)، prostaglandins (PGs) (PGD2, PGE2, PGF2a)، tromboxans (TXA2) وLeucotriens (LTs) (LTA4, LTB4, LTC4, LTD4, LTE4). الايكازونويدات عبارة عن جزيئات محفزة للالتهاب، يتم إفرازها من عديد الخلايا مثل الخلايا المحببة، البالعات الكبيرة، الصفائح الدموية، الخلايا المتعادلة، الخلايا الأم والخلايا البطانية (Harizi وآخرون، 2008)، تعتبر هذه الجزيئات كوسائط جد مهمة في RA، حيث دلت نتائج زرع الخلايا الزلالية للأشخاص المصابين RA على إنتاج كمية كبيرة منها (Bomalaski وآخرون، 1989)، كما دلت نتائج فحص السائل الزلالي للمصابين RA على وجود تراكيز مرتفعة من PGE2 وLTB4 (Menkès، 2004). تعتبر prostanoids واحدة من بين أسباب الالتهاب في مرض RA خاصة PGE2.

يتم التخليق الحيوي PGE2 أثناء الالتهاب، وذلك بتدخل إنزيم cyclooxygenase وإنزيم PGE2- synthases (Sampey وآخرون، 2005). يوجد الإنزيم الأخير في العديد من الخلايا مثل الخلايا الطلائية والخلايا الوعائية والخلايا العضلية الملساء والخلايا الغضروفية (Raymondje، 2007). يتم تأثير PGE2 عن طريق تدخل أربعة مستقبلات مختلفة على الأقل التي تعرف باسمEP (مستقبلات البروستاغلندين)، وهي تقسم منEP1 حتى EP4. يتم التعبير عن هذه المستقبلات في حالة RA في الغشاء الزلالي ولخلايا الغضروفية والكبد والبالعات الكبيرة (McCoy وآخرون، 2002). بالإضافة إلى ذلك فان من أهم الأدوار التي يلعبها PGE2 في حالة RA هي تدخله في تخريب الغضروف عن طريق تثبيط بناء الكولاجين من الخلايا الغضروفية (O'Keefe وآخرون، 1992) ويزيد من بناء MMPs من الخلايا الغضروفية وخلايا الفيبروبلاست (Mehindate وآخرون، 1995) ويساهم في الموت الخلوي المبرمج للخلايا الغضروفية المحفز بواسطة NO (Notoya وآخرون، 2000).

وعلى عكس البروستاغلوندينات فإن LTs يتم إنتاجها بشكل أساسي بواسطة خلايا الجهاز المناعي مثل الخلايا متعددة النوى، البالعات الكبيرة والخلايا الأم. تؤثرLTs بواسطة مستقبلات غشائية داخل خلوية بتدخل مستقبلات نووية. تملك LTB4 المفرزة خاصية الجذب الكيميائي للكريات الدموية البيضاء وخاصة للخلايا المتعادلة، حيث تسهل تجمع هذه الخلايا في مكان الالتهاب والتصاقها بجدار الأوعية (Raymondje، 2007). دلت العديد من الأبحاث على أن LTB4

يعتبر كوسيط جد مهم في RA، حيث بين تحليل السائل الزلالي على وجود كمية معتبرة من هذا الوسيط عند المصابين (Moilanen وآخرون، 1989).

2.2.3. الجذور الحرة الأوكسجينية

لقد دلت العديد من التجارب على أن الجذور الأوكسجينية النشطة (ROS) المتمثلة في جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\cdot}$)، الماء المؤكسد (H_2O_2)، جذر الهيدروكسيل($OH^{\cdot}$)، حمض هيبوكلوريد (HOCl) والجذور النيتروجينية النشطة (RNS) المتمثلة في أكسيد النتريك ($NO^{\cdot}$) وبيروكسيد النتريك ($ONOO^{-}$) تساهم في تخريب الأنسجة خلال الأمراض الالتهابية المزمنة. يتم تخليق هذه الجذور النشيطة بواسطة الخلايا مثل الخلايا المتعادلة والبالعات الكبيرة والخلايا الغضروفية الموجودة في pannus وبواسطة الإنزيم المؤكسد للكزانثين xanthine oxidase الموجود في الغشاء الزلالي (Kaur وآخرون، 1996). تتمثل الأدوار الأساسية التي تلعبها ROS وRNS خلال مرض RA في (Hitchon وEl-Gabalawy، 2004):

1 - التخريب المباشر للجزيئات الخلوية في الغضروف وتخريب مكونات الحشوة الخارج خلوية بطريقة مباشرة أو غير مباشرة عن طريق تدخل العديد من الوسائط.

2- تعديلات في بنية الأحماض الأمنية عن طريق الأكسدة أو العديد من الآليات الأخرى، تؤدي هذه التعديلات إلى تغير البنية الأساسية للبروتينات التي تفقد وظائفها البيولوجية مما يؤدي إلى موت الخلية.

3- يمكن ROS أن تؤثر على استجابة الخلايا الغضروفية لعوامل النمو وتمنع هجرتها إلى موضع الغضروف المتآكل.

4 - يمكن ROS وRNS أن تخرب مكونات الحشوة الخارج خلوية بطريقة غير مباشرة وذلك عن طريق تنشيط إنزيمات MMPs الحشوية.

3.2.3. إنزيمات metalloproteinases الحشوية

يعتبر تآكل الأنسجة المفصلية التي تشمل الغضروف المفصلي، العظم، الأربطة داخل مفصلية والأوتار من أهم مميزات أمراض الالتهابات المفصلية التي تؤدي إلى فقدان الوظائف الأساسية. تلعب الإنزيمات المحللة للبروتينات دورا مهما في تآكل الأنسجة الضامة، وكما هو معروف منذ

وقت بعيد فان عائلة إنزيمات MMPs تلعب دورا مهما في هذا التآكل. تفرز هذه الإنزيمات من الخلايا الموجودة في النسيج المفصلي وبشكل خاص من الخلايا المتسربة، وتملك القدرة على تحليل كل مكونات الحشوة الخارج خلوية (Murphy وآخرون، 2002).

4.2.3. السيتوكينات

تعتبر السيتوكينات كوسائط جد مهمة في الاستجابة المناعية والالتهابية، وهذا ما أدى إلى اقتراح دورها في أمراض المناعة الذاتية، وخاصة سنة 1983 عندما تم اكتشاف وجود علاقة بين السيتوكينات وزيادة عرض المستضد التي تؤدي إلى تطور المناعة الذاتية (Feldmann وآخرون، 1996). لقد تمت دراسة السيتوكينات عند المصابين بمرض RA ووجد أن السيتوكينات المحفزة للالتهاب مثل TNF، IL-1 و IL-6 تلعب دورا مهما في التطور المرضي، كما لوحظ أن التعبير عن هذه السيتوكينات يزداد بزيادة المرض (Voulgari وآخرون، 1999). وبالمقابل تؤدي إلى خفض التعبير عن وسائط الالتهاب عن طريق إنتاج السيتوكينات المضادة للالتهاب مثل IL-10 وTGF-β والسيتوكينات المثبطة مثل منافسات مستقبل IL-1 (IL-1ra) ومستقبلات TNF-α الذائبة (Firestein وآخرون، 1994). وعلى الرغم من وجود هذه الوسائط المضادة للالتهاب إلا أن المفاصل تصاب بالالتهاب المزمن الذي يميز مفاصل المصابين RA.

1.4.2.3. السيتوكينات المحفزة للالتهاب

- **عامل النخر الورمي**

عامل النخر الورمي (TNFα) هو سيتوكين قوى وفعال يؤدى تأثيره على مجموعة واسعة من الخلايا وهو عبارة عن بروتين ذائب وزنه الجزئي (17 kD) يتكون من 3 تحت وحدات متشابهة يتم إنتاجه أساسا من طرف الخلايا وحيدة النواة والبالعات الكبيرة، كما تنتجه أيضا الخلايا اللمفاوية TوB وخلايا fibroblastes. إن TNFα المصنع حديثا يندمج في غشاء الخلية المنتجة له وبعدها يقطع الجزء الداخل غشائي بواسطة سلسلة من إنزيمات MMPs لهذا يمكن كبح إفراز TNFα بواسطة مثبطات هذا الأنزيم. يتميز TNFα بتأثيره الذاتي ويعمل TNFα على تسهيل تثبيت الخلايا الالتهابية في المفاصل وتحفيز خلايا fibroblastes التي تعبر عن جزيئات الالتصاق الداخل خلوية I ، حيث تندمج جزيئات الالتصاق هذه مع الربيطة النوعية الخاصة بها على سطح كريات الدم البيضاء في الدم، كما يعمل TNFα وبطريقة غير مباشرة على تحفيز تحرير corticotrophine من الغدة النخامية،

يعمل هذا الهرمون على تحفيز قشرة الكضر من أجل إفراز الكورتزول (cortisol) الذي يعمل على تنشيط الالتهاب.

يوجد نوعين من مستقبلات TNFα هما : p55 (ويسمى أيضا p60 أوTNF-R I) و p75 (ويسمى p80 أو TNF-R II). ويتم التعبير عن مستقبلات TNFα من طرف العديد من الخلايا مثل الخلايا المتعادلة متعددة النوى والطلائية وfibroblastes. وتتواجد هذه المستقبلات في الغشاء الزلالي الملتهب في منطقة اتصاله بالغضروف. لوحظ عند زرع عينة من خلايا مشتقة من النسيج الزلالي لمرضى RA ومعاملتها بواسطة أجسام مضادة لـــ TNFα أدت إلى اختزال إنتاج IL-1، IL-6 ،IL-8 والخلايا الحبيبية. كما بينت معالجة الفئران المعاملة بـــ CII بواسطة جسم مضادة وحيد النسيلة لـــ TNFα أدت إلى توقيف تطور المرض. فكل هذه الأعمال تشير إلا إن النشاط البيولوجي لـــ TNFα يؤدى بشكل كبير إلى إنتاج وسائط أخرى ومنه فان تثبيط TNFα هو الهدف الاستراتيجي الفعال في علاج التهاب المفاصل الرثوي (Ernest وآخرون، 2002).

- **الانترلوكين 1 (IL-1)**

هو بروتين وزنه الجزيئي (kD17) يفرز أساسا من الخلايا وحيدة النواة والبالعات الكبيرة والخلايا الطلائية والخلايا اللمفاويات B وT المنشطة (Koch وآخرون، 1995)، وهو نظام تنبيه أكثر تعقيدا من نظام TNFα، ويرتبط IL-1 بنوعين من المستقبلات، لكن المستقبلات النمط I وحدها تمتاز بوجود استطالة سيتوبلازمية قادرة على القيام بالتنبيه الداخل خلوي، بينما تحول مستقبلات النمط II مرتبطة بـــ IL-1. وقد أظهرت الدراسات التي أجرت على التهاب المفاصل الرثوي عند الحيوانات الدور الكبير للـــ IL-1 في إصابة المفاصل حيث أدى حقن IL-1 في مفاصل الركبتين عند الأرانب إلى تآكل الغضروف في حين أن حقن الأجسام مضادة الموجهة ضد IL-1 ثم إحداث مرض التهاب المفاصل لديها بواسطة collagen أدى إلى تحسين وضعها والتقليل من الأضرار اللاحقة بالغضروف ويبدو أن البالعات الكبيرة في الأنسجة الزلالية لدى المرضى RA تمثل عنصر مهم كمصدر لـــ IL-1. وكما هو الحال بالنسبة لـــ TNFα فإن IL-1 يمكنه إحداث الأضرار بتحفيز تحرير الإنزيمات الحالة لبروتينات ابتداء من خلايا fibroblastes و chondrocytes، كما نجد أن تركيز منافسات مستقبلات IL-1 مرتفعة في السائل الزلالي لدى مرضى RA لكن تركيزها ليكفى للقضاء على الالتهاب (Ernest وآخرون، 2002).

• **الانترلوكين 6 (IL-6)**

يعد الانترلوكين 6 من السيتوكينات الالتهابية يفرز من اللمفاويات T وخلايا وحيدات النواة والبالعات الكبيرة وخلايا fibroblastes الزلالية ، حيث تم التعرف عليه في بادئ الأمر كعامل يحرض التمايز النهائي للخلايا B، ويتدخل IL-6 في العديد من التفاعلات البيولوجية لتنشيط الخلايا T وتحريض مرحلة الاستجابة الحادة وتحفيز نمو وتمايز طلائع الخلايا الدموية وتكاثر الخلايا العضلية الزلالية (Ernest وآخرون، 2002).

• **الانترفيرون غاما** IFN-γ

الانترفيرون غاما عبارة عن سيتوكين ثنائي الوحدات، يبلغ وزنه الجزيئي 34 كيلودالتون. يفرز هذا السيتوكين بشكل أساسي من الخلايا T والخلايا القاتلة الطبيعية ويملك مستقبلات خاصة به في جميع خلايا الجسم. من بين أهم الأدوار التي يلعبها IFN-γ تنشيط البالعات الكبيرة والخلايا البطانية وتحفيز إفراز NO من البالعات الكبيرة ويزيد من التعبير عن جزيئات MHCII كما أنه يرفع من قابلية الخلايا على عرض المستضد. في الخلايا البطانية يحرض IFN-γ التعبير عن جزيئات الالتصاق (Schulze-Koops وKalden، 2001). يحفز IFN-γ أيضا إفراز IL-12 وIL-18 من الخلايا وحيدة النواة (Watanabe وآخرون، 1991).

2.4.2.3. السيتوكينات المضادة للالتهاب

باعتبار أن بعض السيتوكينات تساهم في حدوث الالتهاب، هنالك سيتوكينات أخرى تعمل على عكس ذلك نجد نوعين منها وأكثرها دراسة هما IL-10، IL-4 حيث بينت النتائج المخبرية أن هذين النوعين يتعاونان على تثبيط إنتاج السيتوكينات الالتهابية (Ernest وآخرون، 2002).

• **الانترلوكين 10**

يظهر هذا السيتوكين في الدم والسائل الزلالي للمصابين بمرض RA (Feldmann وآخرون، 1996) وهو عبارة عن سيتوكين ثنائي وحدات يبلغ وزنه الجزيئي 35 كيلودالتون (Katsiki وآخرون، 1994). يفرز هذا السيتوكين من الخلايا وحيدة النواة والخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا T وB. يحسن IL-10 العديد من أمراض المناعة الالتهابية من خلال تثبيط مختلف مظاهر الاستجابة المناعية حيث يثبط إفراز العديد من السيتوكينات المحفزة للالتهاب مثل IL-1β، IL-6 ، IL-8، IL-12 وTNF-α ويحفز إنتاج مستقبل IL-1Ra ومستقبلات TNF-α الذائبة، كما يخفض من التعبير

عن جزيئات MHC II على سطح الخلايا وحيدة النواة. كما يخفض من إفراز NO وجذور فوق الأكسيد وPGE2 من البالعات الكبيرة. أما في الخلايا T فان IL-10 يثبط إفراز كل من IL-2 و-IFN γ ويوقف تكاثرها (Schulze-Koops وKalden، 2001).

- **الانترلوكين 4**

يتم إنتاجه من طرف الخلايا اللمفاوية T المساعدة ويساهم في تمايز ونمو اللمفاويات B، مخبريا يثبط IL-4 نشاط Th1 و يعمل كذلك على التقليل من إنتاج IL-1 وTNFα ويوقف الأضرار التي تصيب الغضروف ويعمل على تثبيط إنتاج IL-6 ، IL-8. عند زرع عينات من الخلايا الزلالية لمرضى RA يعمل IL-4 على إيقاف إنتاج IL-1 وعلى زيادة التعبير عن منافسات مستقبلات IL-1 في آن واحد مما يؤدى إلى التقليل من الالتهاب (Ernest وآخرون، 2002).

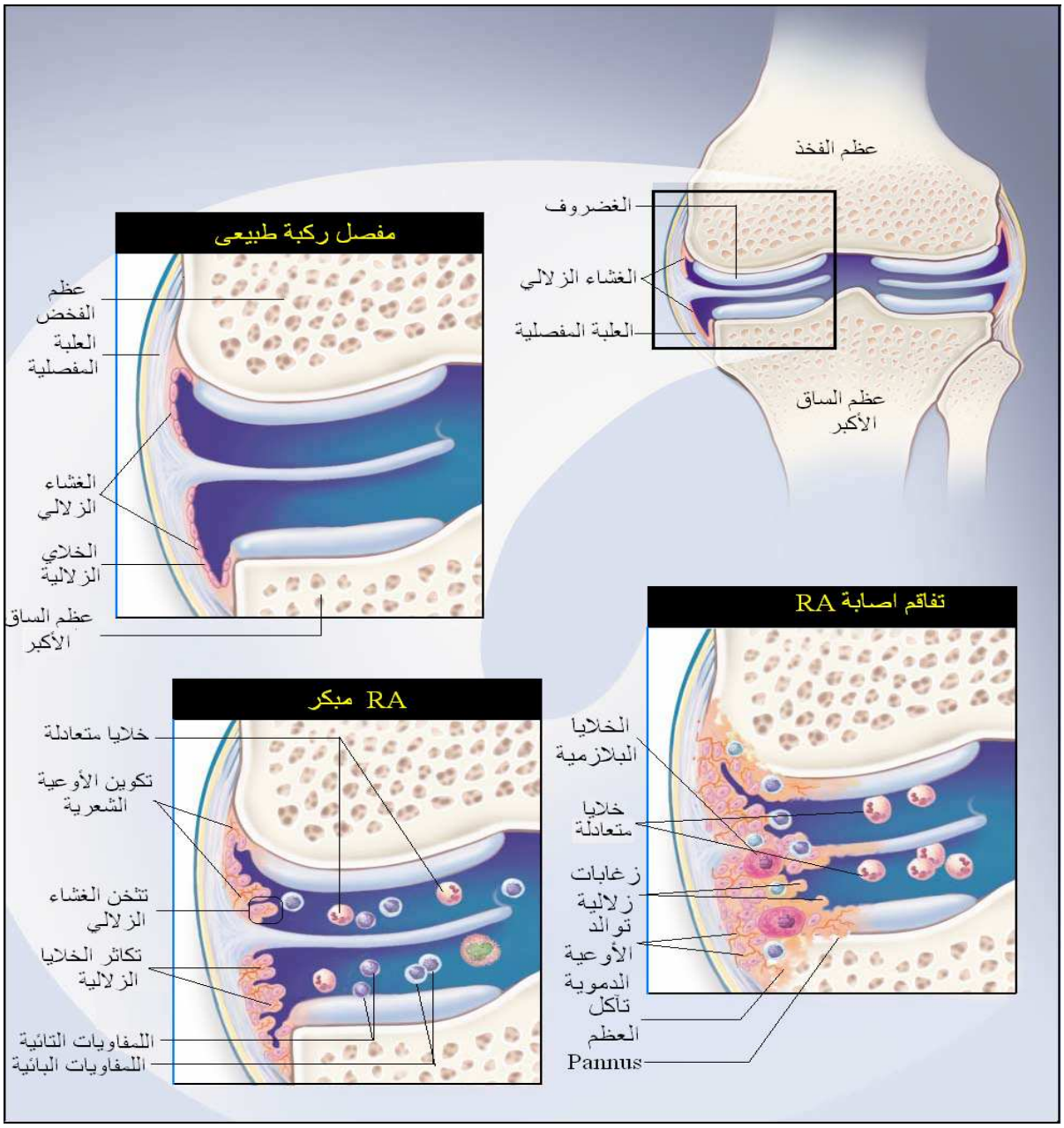
- **الانترلوكين 13**

IL-13 عبارة عن بروتين يتراوح وزنه الجزيئي بين 12 و17 كيلودالتون. يشترك هذا السيتوكين في تأثيراته المضادة للالتهاب مع IL-4، حيث تعتبر الخلايا T النشيطة في السائل الزلالي للمصابين بمرض RA المصدر الرئيسي لهذا السيتوكين (Feldmann وآخرون، 1996). يملك IL-13 تأثيرات مضادة للالتهاب عن طريق تثبيط إفراز السيتوكينات الالتهابية (IL-1β، IL-8، TNF-α وIL-6) من الخلايا وحيدة النواة في الدم (Feghali وWright، 1997). كما يعيق تآكل الغضروف عن طريق تحفيز إنتاج IL-1Ra ويمنع تآكل الغضروف عن طريق إنزيمات MMPs (Otero وGoldring، 2007).

4. الأضرار الناجمة عن الالتهاب

يمتاز مرض التهاب المفاصل الرثوي بظهور أضرار عدة عبر مختلف آلياته (الشكل 7). تكون بداية تآكل الغضروف والعظام مصحوبة بتشكل pannus. يكون السطح المشترك بين pannus والغضروف مشغولا بشكل أساسي بالبالعات الكبيرة النشيطة وخلايا fibroblastes التي تنتج الإنزيمات الحالة للبروتينات وcathepsines. يعمل IL-1 وTNFα على تحفيز إنتاج جزيئات الالتصاق على الخلايا الطلائية وزيادة تجنيد الخلايا المتعادلة في المفاصل حيث تقوم بتحرير protéases وélastase التي تقوم بهدم الـــ proteoglucanes في الطبقات السطحية للغضروف مما يؤدي إلى تفاقم الوضع وترسب الكولاجين والخلايا الغضروفية. يؤدي تحفيز الخلايا الغضروفية

الزلالية وخلايا fibroblastes بواسطة IL-1 وTNFα أو بواسطة TCD_4^+ إلى تحرير الإنزيمات الحالة للبروتينات وتعد كل stromelysine وcollagenases من الإنزيمات الهادمة للأنسجة المرتبطة بالحشوة لذلك يعتقد أنهما الوسيطان الأساسيان في إصابة المفاصل في الداء الرثوي، كما أن تنشيط $TCD4^+$ يمكنه أيضا تحفيز توليد الخلايا الكاسرة للعظم Osteoclastogenesis (الشكل 7)، (Ernest وآخرون، 2002) .



الشكل 7 : الآليات المرضية للالتهاب المفاصل الرثوي (Ernest وآخرون، 2002)

5. الطرق العلاجية للداء الرثوي

1.5. تثقيف المريض

يجب شرح المظاهر المختلفة خلال سير الداء الرثوي، مع التأكيد على أن معظم المرضى يتحسنون عند تطبيق العلاج الملائم. يجب مناقشة الطبيعة المزمنة والمتقطعة للأعراض عند المريض وأن التموجات الحاصلة في المرض هي أمر طبيعي، كما يجب إيضاح المرافقات الجهازية للمرض وأن كلا من الوهن ونقص الوزن عادة ما تكون مرافقة للمرض (Hochberg وآخرون، 1995).

يجب نصح المرضى بالراحة خاصة في حالات الإصابات المفصلية المتعددة حيث تساعد فترات الراحة المتقطعة وفترات القيلولة المتكررة في تحسين الوهن والتعب عند المرضى. كما يجب تشجيع التدريبات الرياضية للعضلات المحيطة بالمفاصل المصابة للمحافظة على حركة دائمة للمفصل.

2.5. المعالجة الفيزيائية والوظيفية

تستخدم المعالجة الوظيفية عند المرضى لتحسين استخدام المفاصل بشكل فعال دون الضغط عليها ومساعدة المرضى على تخفيف الانزعاج في المفاصل عبر الأربطة الضاغطة المصممة ومساعدتهم على التعامل اليومي مع عملهم ووظائفهم (Banwell وآخرون، 1988).

3.5. المعالجة الدوائية

1.3.5. مضادات الالتهاب غير الستيرويدية

تملك هذه الأدوية فعالية كبيرة في تخفيف الألم والتصلب المفصلي وتستخدم عادة مترافقة مع الأدوية المعدلة للمرض (Disease-Modifying Anti Rheumatic Drugs : DMARDs). تقوم هذه الأدوية بتثبيط إنزيم السيكلو اوكسيجيناز 1و2 cyclo-oxygenase وبالتالي فهي تثبط إفراز البروستاغلاندينات مؤدية إلى تأثيرات جانبية عديدة أهمها الاضطرابات الهضمية، حيث يعتبر النزيف الهضمي من أشهر التأثيرات السمية خاصة عند كبار السن. وتبين أن خمس حالات النزيف الهضمي في المستشفيات كان عند المرضى فوق 60 سنة. ويمنع استعمال هذه الأدوية في حالة وجود قرحة هضمية. ومن التأثيرات السامة الأخرى احتباس السوائل والطفح الجلدي والسمية الكبدية. وقد تم اكتشاف مجموعة جديدة من هذه الأدوية تعمل على تثبيط إنزيم Cox-2 فقط

تدعى مجموعة الكوكسيب (coxib)، تتميز هذه الأدوية بقلة حدوث التقرحات الهضمية مقارنة بالجيل القديم، كما أنها أقل تأثيرا على الصفيحات الدموية، لكن يجب الحذر عند استعمالها لدي مرضى الآفات الكلوية (Emery وآخرون، 1999).

2.3.5 .الستيروئيدات

تلعب هذه المركبات دورا هاما في تثبيط الحديثة الالتهابية الشديدة، لكنها كمضادات الالتهاب غير الستيروئيدية (Non steroidal anti inflammatory Drugs : NSAIDs) ليس لها دور في تطور المرض، عادة ما يتم استخدامها للسيطرة على المرافقات الجهازية للمرض.

يفيد الحقن الموضعي داخل المفصل في إزالة الألم وتخفيف الأعراض الالتهابية لمدة أيام إلى أسابيع. لكن يجب عدم تكرار هذه الحقن في فترات متقاربة، بسبب خطورتها على الغضروف المفصلي. ومن الأدوية المستخدمة في الحقن المفصلي Methylprednisolone acetate. ويؤدي الاستخدام المستمر للستيروئيدات إلى تأثيرات جانبية عديدة أهمها : تخلخل العظام والتقرحات الهضمية.

3.3.5 .المسكنات

وهى مركبات ليس لها خاصية مضادة للالتهاب تستخدم في تسكين الألم. يمكن تقسيمها إلى أدوية محيطية مثل البراسيتامول (Paracetamol) والمركبات المخدرة المركزية مثل Dextropropyxiphene. عادة ما يتم استخدام هذه الأدوية مرافقة للأدوية الأخرى من أجل تسكين الألم.

4.3.5. الأدوية المعدلة للمرض

يجب وصف هذه الأدوية (DMARDs) دائما في حال وجود أعراض أو علامات على الحالة الالتهابية الفعالة، هذه الأدوية ليس لها تأثيرات مباشرة مضادة للالتهاب، لكنها تحسن من الألم المفصلي والتصلب والتورم كما تقلل من الأعراض الجهازية والعامل الرثوي خلال عدة أشهر من استعمالها. إن الاستخدام المبكر لهذه الأدوية له تأثيرات قوية في تخفيف 'الإصابات الإشعاعية' للمرض بشكل ثانوي، ويعتبر تأثيرها الأساسي هو تخفيف الأعراض المرافقة (Ziswiler وآخرون، 2001). ومن بين الأدوية المعدلة لطبيعة المرض :

- **الميتوتركسات Methotrexate**

يعتبر هذا الدواء الخيار الأول من DMARDs. يعمل هذا الدواء بصورة أسرع من بقية الأدوية ويؤدى إلى حدوث تحسن في الأعراض خلال 4-6 أسابيع من بدء الاستعمال. عادة مايتم إعطاؤه على شكل جرعة وحيدة أسبوعيا عبر الفم كما يمكن إعطاؤه تحت الجلد، عادة مايتم ابتلاعها بجرعة من الفولات في اليوم التالي. وتعد التقرحات المخاطية (mucosal ulcers) والغثيان وقلة الكريات (cytopnias) (الناجمة عن نقص الفولات folate) من التأثيرات السمية للميتوتركسات الشائعة (Strand وآخرون، 1999).

- **السلفاسالازين Sulfasalazine**

يعد هذا الدواء من الأدوية ذات الفعالية العالية وأحيانا يمكن استخدامه كخيار أول فى معالجة الداء الرثوي، يحدث التحسن عند 50 % من المرضى خلال 3-6 أشهر. ومن تأثيراته الجانبية عدم التحمل الهضمي، الاكتئاب والطفح وفقر الدم والتهاب الكبد (Hepatitis) ولهذا يجب دائما مراقبة وظائف الكبد وتعداد الدم عند استعمال هذا الدواء (Ziswiler وآخرون، 2001).

- **مضادات الملا ريا**

تعد هذه الأدوية الأقل سمية في DMARDs، وغالبا ما يتم استعمالها في الحالات الخفيفة من الداء الرثوي أو كأدوية مرافقة. تعطى هذه الأدوية 10 أشهر في السنة للتخفيف من تأثيراتها السمية ويتم إيقافها في حال لم تحدث استجابة خلال 6 أشهر. وتتضمن تأثيراتها الجانبية الغثيان والإسهال والطفح الجلدي بالإضافة للسمية العينية حيث يمكن أن تؤدى إلى حدوث اعتلالات شبكية خلال سنة من الاستعمال (Ziswiler وآخرون، 2001).

- **الليفلونوميد**

من الأدوية المعدلة للمناعة (immune modulatory drugs) يعمل على تثبط الاستجابة المناعية للمفاويات مؤديا للتخفيف من التأثيرات الالتهابية المخربة للمفصل. من أهم تأثيراته الجانبية الإسهال، إما تأثيراته الجانبية البعيدة المدى فهي ليست معروفة حتى الآن. يجب دائما كما في Methotrexate مراقبة وظائف الكبد والتعداد الدموي بشكل مستمر، وإذا أرادت المريضة الحمل فيجب إيقاف الدواء مع الخضوع لمعالجة مزيلة للدواء بواسطة الكوليسترامين (Cholestyramine) (Sharp وآخرون، 2000).

- **الازاتيوبرين**

يعد من الأدوية الفعالة مثل Methotrexate ويظهر التحسن السريرى عادة بعد 3-6 أشهر، وعادة ما يتم إعطاؤه بالمشاركة مع الأدوية الأخرى. من تأثيراته الجانبية التقيؤ والتهاب المعدة والإسهال والتهاب الكبد وتثبيط جزئي لنقى العظم(Sharp وآخرون، 2000).

- **السيكلوسبورين**

من الأدوية الفعالة التي يتم إعطاؤها يوميا عبر الفم، تؤثر نوعيا على الخلايا T. يستعمل بمقادير قليلة وبالمشاركة مع أدوية أخرى، ومن أهم تأثيراته الجانبية فقد الشهية والغثيان تسمم الكبد وارتفاع ضغط الدم. تجب المراقبة المستمرة لكل من ضغط الدم والتعداد الدموي وتحليل البول ونسبة الكرياتينين في البلازما (Sharp وآخرون، 2000).

4.5 .العوامل الحيوية

تم تطوير علاجات حيوية حديثا لتعمل على تثبيط تأثيرات كل من TNFα وIL-1. تشمل هذه العوامل مثبطات عامل النخر الورمي (TNF Blockers) ومنافسات مستقبل الانترلوكين IL-1 (receptor antagonists) (1. ويتم استعمال هذه الأدوية في حال عدم الاستجابة لـــ DMARDs.

1.4.5 .مثبطات عامل النخر الورمي TNFα

تطورت الوصفة العلاجية للداء الرثوي بشكل معتبر في السنوات القليلة الفارطة لكن كانت النتائج مخيبة للآمال مع كثير من العوامل البيولوجية وفى أواخر التسعينيات تم تعديل مثبطات TNFα لتصبح أكثر نشاطا وفعالية وبذلك أصبح الشفاء من المرض تقريبا ممكن حيث أثبتت هذه المثبطات مدى قدرتها على تعطيل وتوقيف الالتهابات الهيكلية وبالتالي تحسين الوظائف المفصلية (Winter وآخرون، 1993). من أهم المثبطات المستعملة ضد TNFα نجد:

- **Etanercept**

عبارة عن بروتين يتكون من ربط مستقبل TNFα الذائب p75 مع الجزء Fc للـــ IgG1 البشرى، تكون البنية ثنائية الوحدة لبروتين Etanercept فعالة حوالي 1000 مرة بالنسبة للبنية الأحادية للمستقبل p75. في تجربتين مقارنتين أجريت على 168 مريضا بالتهاب المفاصل، سمح Etanercept بتحسن نوعى حيث انخفض عدد المفاصل المنتفخة إلى 50 % بعد 6 أشهر من العلاج،

مع ملاحظة تحمل جيد للعضوية مع عدم حدوث أي تفاعلات صغرى على مستوى موقع الحقن. كما وضحت الدراسة أنه بعد شهر من المعاملة بـــ Etanercept تمت ملاحظة انخفاض نوعى في عدد الخلايا T والخلايا البلازمية وفى كمية جزيئات الالتحام الخلوية I وعلى التعبير عن IL-1، كما بينت الدراسات أن فعالية العلاج بـــ Etanercept تكون على الأقل خلال 33 شهر، بالإضافة إلى ذلك يكون الجمع بين Etanercept وMethotrexate جد فعال بالمقارنة مع Methotrexate وحده (Ernest وآخرون، 2002).

أوضحت الدراسات الأخرى أن المعاملة بـــ Etanercept أحسن تحملا وأكثر فعالية من Methotrexate. وقد اثبت التصوير الإشعاعي أن القليل من المصابين المعاملين بـــ Etanercept يعانون من زيادة تطور التهاب المفاصل بالمقارنة مع المعاملين بـــ Methotrexate (Ernest وآخرون، 2002).

- **Infliximab**

عبارة عن جسم مضاد أحادي النسيلة موجه ضد TNFα. تسرع جرعة واحدة من Infliximab بـــ 10مغ/كغ عن طريق الحقن داخل الوريد من انخفاض المفاصل المنتفخة ، ويبدأ التحسن خلال الأسبوع الأول من المعاملة، ويلاحظ عند أخد عينة من الغشاء الزلالي قبل وبعد أربعة أسابيع من بداية العلاج انخفاض نوعى في عدد الخلايا T وفى الأنسجة التي تحتوى على جزيئات الالتصاق الخلوي I و E-selectin (Ernest وآخرون، 2002) .

5.5 .المعالجة التقليدية بالنباتات الطبية

تعد النباتات الطبية واحدة من أهم مصادر الأدوية منذ زمن بعيد وحتى وقتنا الحاضر، حيث تم استعمال العديد من هذه النباتات في صناعة الأدوية التي أغنت الطب الحديث. لقد تم استعمال العديد من النباتات الطبية في علاج مختلف الأمراض الروماتيزمية سواء في الطب التقليدي أو الطب الحديث ومن بين أهم هذه النباتات المنتشرة في الجزائر؛الشندكورة (Ajuga iva)، الحرمل(*Peganum hamala*)، النجم (*Triticum repens*)، الدرياس أو بونافع (*Thapsia garganica*)، الخلخة (*Ferula communis*)، توفالت (*Thapsia villosa*)، فاشرا (*Bryonia dioïca*)، تاسلغة (*Globularia alypum*)، الحرايق (*Urtica dioica*)، اكليل الجبل (Etanercept *Rosmarinus officinalis*)، برز قطونيا(*Plantago psylium*)، بصل الذئب (*Muscari comsum*)، بقس (*Buscus*

semperviens)، الحميض (*Rumax acetosa*)، الدردار (*Fraxinus angustolia*)، الدفلة (*Nerium oleander*)، الصنوبر البحري (*Pinus maritima*)، العرعار الفينيقي (*Juniperus phoenicia*) (حليمى، 2004).

1.5.5. الشندكورة (*Ajuga iva*)

الشندكورة هي عشبه برية معمرة مرة الطعم تعلو حتى 20 سم من عائلة الشفويات تظهر فارشة على الأرض لها فروع عديدة وقائمة الأطراف. تقوم هذه الفروع من أرومتها أي قاعدتها لتكمل ذروتها الإنمائية في مدة قصيرة من أواخر فصل الربيع. ترغب في التربة العميقة من الاراضى البور الحصرية الجافة في إقليم النجود والتل الجزائري. ولعل أهم ما تتميز به هي أرومتها القصيرة المغمورة في التربة. ساقها يتراوح بين 3و20 سم رباعية الزوايا تغطيها أوراق كثيرة، غاطسة في شعر كثيف أبيض طويل ومتشابك، تحمل أزهارا ابتداء من القاعدة. أوراقها لاطئة، طولها حوالي 2 سم، منعطفة الأطراف، سهمية الشكل، مزغبة، تنتهي بسنتين، متشابهة معرقة. إزهرارها شبه دائري وإبطي يعطي أزهارا مائلة إلى الصفرة، مزغبة الكم الجرسى الشكل الخماسي السنان، تويجها طويل انبوبى الشكل، مزود داخليا بحلقة من الشعر، مقسمة إلى شفتين إحداهما كبيرة ذات فصوص ثلاثة والثانية غير مفصصة. بداخلها أربع اسدية متقاربة، خارجة من أربع كربلات سوداء مجعدة (الشكل 8). بذورها سمراء أو مائلة إلى السواد في حجم الحبة السوداء، سهلة الانفصال، إذ تسقط بمجرد تحريكها إن كانت ناضجة (حليمى، 2004).

الشكل8: نبات الشندكورة(*Ajuga iva L.*)

تستعمل كل أجزاء النبات ماعدا الجذور ومن أهم العناصر الفعالة التي تحويها العفص، أصباغ انتوسيانيك والفلافونيك، أحماض الفينول أي حمض الكاربونيك وعناصر أخرى من أهمها الأجوقارين، سيستيرون (Cyasterone)، إكدوستيرون (Ecdusterone)، ديستيرون (Dysterone) تانين (Tannin) . أهم منافعها أنها مفيدة لإيقاف الإسهال لما تحتويه من كمية كبيرة من العفص، وتضميد الجروح والعامة يستعملونها كثيرا في معالجة قرحة المعدة وذلك بأخدها مسحوقة أو مخلوطة بالعسل. من20 إلى 30غ تنقع في 1 لتر من الماء ليشرب منها كأسان أو ثلاثة في اليوم. وقد تستعمل ذرورا على الجروح. وفى المغرب يأخذونها سفوفا أو نقيعا ضد مرض السكر ودود البطن ولتنقية الدم وكذلك ضد الاضطرابات المعوية والحمى ويقولون أن مسحوقها مضمد للجروح وان لها نفس مميزات الشيح والزعتر (حليمى، 2004).

بالإضافة إلى أثرها على مرض السكري حيث بين EL-hilaly وآخرون (2007) أنها تخفض من السكر في بعض النماذج الحيوانية التي تم تحريض مرض السكري لديها بواسطة streptozotocin كما بينت النتائج مدى تأثيرها على الكولسترول والغليسريدات الثلاثية عند هذه الجرذان.

6. النماذج الحيوانية للالتهاب المفاصل الرثوي

تستعمل النماذج الحيوانية في مرض التهاب المفاصل الرثوي على نطاق واسع في البحث عن الأسباب والآليات المرضية التي ينتج عنها الالتهاب المفصلي وفي مجالات الصناعة الدوائية لاختبار العوامل المضادة للالتهاب. ومن أهم المعايير التي تم من خلالها اختيار هده النماذج والتي تتضمن سهولة تحريض المرض عند الحيوانات وفى مدة معقولة وتشابه العوامل والآليات الممرضة لهذا المرض بين البشر والحيوانات. ومن أهم هذه النماذج:

1.6. Adjuvant Arthritis

يعد Adjuvant Arthritis أول نموذج مدروس بشكل واسع من الناحية التاريخية، حيث اقترح عام 1952 م حيث تم تحريضه بواسطة مساعد فروند الكامل المحتوي على Mycobacterium المقتولة بالحرارة. ويحدث تطور الالتهاب المفصلي في مدة أسبوعين من بداية الحقن. ويتميز هذا النموذج بالتهاب قوي، سهل القياس، ومتعدد المفاصل. يظهر التخريب في الغضروف لكن لا يتناسب مع الالتهاب والتخريب الذي يظهر على مستوى العظم (Bendele، 2001). يمكن أن يحرض الالتهاب

عند الجرذان من نوع (Lewis). يتم استعمال AA القبل السريرى لاختبار العديد من العوامل المضادة للالتهاب التي تستعمل حاليا كعلاجات لهذا المرض (Bendele، 2001).

2.6. الالتهاب المفصلي المحرض بواسطة الجدار الخلوي لـــ streptococci (SCW)

وجد أنه يمكن لبعض مكونات الجدار الخلوي أن تحرض الالتهاب المفصلي في بعض أنواع القوارض، ويعتبر Schwab وآخرون (1970) أول من أحدث SCW حيث كان يحاول دراسة الالتهاب المحرض بواسطة حقن مكونات الجدار الخلوي المحتوي على البيبتيدوغليكان والسكريات المعقدة (PG-PS) المعزولة من الجدار لبعض أجناس البكتيريا. معظم الأبحاث تستعمل PG-PS المعزولة من الجدار الخلوي لبكتيريا streptococci المجموعة A (Streptococcus pyogenes) (Chwab، 1995). يمكن تحريض نفس الالتهاب وذلك بأنواع بكتيرية أخرى مثل: *Lactobacillus casei* و*Eubacterium aerofaciens* (van den Berg، 2004). يعتمد نموذج SCW على حقن الجرذان (LEW، N) مرة واحدة بمعلق مائي من جزيئات PG-PS المعزولة من الجدار الخلوي لبكتيريا streptococci وبعض الأنواع الأخرى داخل الصفاق (intraperitoneal) (Paola وCuzzocrea، 2008). بعد 24 ساعة من إعطاء المعلق يظهر التهاب حاد على المستوى المفاصل المحيطة نتيجة انتشار جزيئات PG-PS في الأوعية الدموية للغشاء الزلالي (van den Berg، 2004)، وبعد 14 يوم من الحقن يظهر التهاب مزمن، يتميز بإنتاج كمية مرتفعة من السيتوكينات المحفزة للالتهاب وعوامل النمو وMMPs و2 cyclooxygenase وNO في المفاصل المصابة (Bina وWilder، 1999).

3.6. التهاب المفاصل المحرض بالكولاجين نمط II

التهاب المفاصل المحرض بالكولاجين نمط II (CIA) هو أحد النماذج الحيوانية التي تستخدم لفهم الآليات الممرضة وكذلك لاختبار العقاقير المضادة للالتهاب. يظهر الالتهاب المفصلي عندما يتم تمنيع الفئران أوالجرذان ضد المعلق الخاصة بالكولاجين ، ويتميز هذا النموذج بالتهاب متعدد للمفاصل مصحوب بتخريب الغضروف المرتبط بالمعقدات المناعية المترسبة على السطوح المفصلي مع ارتشاف العظم. لوحظ أن الأضرار التي يسببها CIA على مستوى المفاصل تشبه أكثر الأضرار التي تنشأ عند البشر مقارنة بالأضرار الناتجة عن النموذج adjuvant arthritis، ويكون pannus اكثرشمولا وارتباطا بالغضروف المتضرر (Bendele، 2001).

الفصل الثاني

المواد والطرق

الفصل الثاني : المواد والطرق

1. المواد

1.1. الحيوانات

الجرذان (Albino Wistar) ذكور يتراوح وزنها بين 200 إلى 350 غ تم جلبها من معهد باستور بالجزائر، وقد تم تكييف هذه الجرذان لمدة أسبوعين قبل بداية التجارب في مستودع الحيوانات التابع لقسم البيولوجيا لجامعة فرحات عباس بسطيف مع توفير كل الظروف المخبرية من حرارة و غداء و الماء (الغداء المركز الخاص بالجرذان تم إحضاره من مجمع Avicole بالقصر ولاية بجاية).

2.1.1. الكواشف والمواد المستعملة.

كل المواد الكيميائية المستعملة في هذه الدراسة من شركة (Sigma, Germany) ما عدا التي نسندها إلى شركة أخرى عند ذكرها في النص. كما تم استخدام إبر الحقن صغيرة الحجم (الخاصة بالأنسولين).

3.1.1. النبات الطبي المستخدم

النبات الطبي المستعمل في هذه الدراسة هو النبتة المعرفة باسم الشندكورة *Ajuga iva.L* تم إحضارها من منطقة جيجل وقد شراءها من السوق.

2. الطرق

1.2. تحضير المستخلص الميثانولي

يتم استخدام حوالي 3كغ من نبتة الشندكورة (يستعمل كل أجزاء (الساق و الأوراق والجذور)). بعد تنظيف النبات وتقطيعه يطحن جيدا ثم يوضع في كيس من القماش، بعدها يوضع داخل إناء كبير يملأ بالميثانول حتى يغمر الكيس (3 لتر/كغ) ويغلق الإناء جيدا. تدوم هذه العملية حوالي أسبوع. بعدها يتم الترشيح على القطن. بعد الحصول على المستخلص يتم تركيزه بواسطة

بواسطة جهاز Rotavapor (Bushi) في 45°م. ينقع النبات من جديد في الميثانول المسترجع ويجمع المستخلص.

2.2. تحريض التهاب المفاصل

لقد تم تطوير هدا النموذج المتمثل في تحريض التهاب المفاصل عند الجرذان (Albino Wistar) من طرف Trentham وآخرون (1977) مع بعض التعديلات (Arrar وآخرون، 2008). بعد أسبوعين من التكيف، تقسم الجرذان إلى 7 مجموعات متجانسة حسب العمر والوزن حيث كل مجموعة تحتوى على 9 جرذان.

يتم إذابة الكولاجين صنف II (CII) (2.5 مغ/مل) في حامض الخليك (0.1 مول) لمدة ليلة كاملة في 4 °م، يوزع في أنابيب بحجم 100 ميكرولتر/أنبوب ثم يضاف نفس الحجم من مساعد Freund الناقص (Incomplete Freund Adjuvant : IFA) للحصول على مستحلب. يتم الحقن الفوري للخليط في الأدمة عند قاعدة الذيل وفي أربع نقاط على ظهر الجرذان وذلك بعد نزع الشعر المتواجد في منطقة الحقن وتخديرها بواسطة الإثير الإيثيلي، حيث تحقن 4 مجموعات بـــ (CII) أما المجموعة الرابعة فتحقن بـــ **(IFA)** فقط، المجموعة الخامسة فتحقن بحمض الخليك والتي تعتبر المجموعة الشاهدة. بعد 7 أيام من الحقن الأول نقوم بحقن ثاني (une injection de rappel) لـــ 200 مكروغرام من الكولاجين حضرت بنفس الكيفية الأولى (Campo وآخرون، 2003) ويشمل هذا الحقن كل المجموعات.

3.2. حجم الأوديما

يتم قياس حجم الأرجل الأربعة للجرذان بواسطة جهاز plethysmometre (UGO basile 7140، ألمانيا) قبل عملية تحريض الالتهاب والذي يعتبر الحجم الأولي في أول يوم من تحريض الإلتهاب المفصلي وكل أربع أيام حتى نهاية التجريب، ولضمان أفضل نتائج قياس حجم الأرجل يجب غطسها في الأنبوب الذي يحوي سائل القياس حتى يتطابق مع محور الكاحل بالنسبة للأرجل الخلفية ومع المقبض بالنسبة للأرجل الأمامية (Hildebrandt وآخرون، 2000). تم تقدير نسبة تثبيط الالتهاب لمختلف الجرعات العلاجية بواسطة حيث العلاقة التالية :

100 x (Vc-Vt/Vc) حيث يمثل Vc حجم الأوديما الشاهدة، Vt حجم الأوديما بعد المعالجة (Sivakumar ،وآخرون،2004)

4.2. وزن الجرذان

نقوم بقياس أوزان الجرذان بواسطة جهاز قياس خاص قبل بدأ التجربة حيث يسمح هذا القياس بتقسيم الجرذان إلى مجموعات متجانسة حسب الوزن، ثم على فترات منتظمة خلال التجربة.

5.2. تحضير الجرعات العلاجية

بعد الاطلاع على أهم الجرعات العلاجية لنبات الشندكورة التي تم إستخدامها في مختلف الأمراض وبالأخص مرض السكري دلت معظم الدراسات التجريبية إلى أن الجرعة العلاجية الفعالة قدرت بـــ 10 مغ/كغ. انطلاقا من هذه الجرعة قمنا باقتراح ثلاثة جرعات علاجية وذلك بالاتفاق مع الأستاذ المشرف (10 ، 20 ،40 مغ/كغ). تم تحضير هذه الجرعات بإذابة المستخلص الميثانولي لنبتة الشندكورة في المحلول الفيزيولوجى (NaCl 0.9٪) . نقوم بإعطاء هذه الجرعات العلاجية الثلاث يوميا عن طريق الفم (Gavage) لمدة 21 يوما (مدة التجربة).

6.2. حساب عدد الكريات الدموية البيضاء

يخفف الدم بواسطة ازرق الخليك، يعمل هذا التخفيف على تحليل كريات الدم الحمراء ويحافظ على كريات الدم البيضاء. يتم حساب الكريات الدموية البيضاء بواسطة المجهر الضوئي وبوضعها في خلية خاصة بالحساب يتم عد الكريات البيضاء في واحد لتر من الدم.

تستعمل في هذه التقنية ماصة Potain أو Thoma في حالة الكريات البيضاء وسائل التخفيف وخلية Thoma والشرائح الرقيقة (lamellas). يتم إمتصاص الدم بعد تخفيفه بواسطة ماصة Potain حتى تصل إلى التدريجة 2. يتم مسح الماصة جيدا من الخارج ثم يكمل الحجم المتبقي بسائل التخفيف حتى الوصول إلى التدريجة 101. ترج الماصة جيدا لمدة دقيقة بعدها تترك ا في حالة راحة لمدة 15 دقيقة. يتم التخلص من أول قطرتين ثم يتم وضع قطرة على سطح خلية Thoma و تغطى بواسطة الساترة و توضع تحت المجهر لبدأ عملية الحساب.

تحسب الكريات البيضاء بالعلاقة التالية mm/ N GB = 20 x10 X n

8.2. الدراسة الإحصائية

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة معبر عنها بدلالة المعدل ± متوسط الخطأ المعياري. نتائج الاختبارات المختلفة تم تحليلها بواسطة إختبار *t* لـــ *Student*. تكون القيم معنوية في $p<0.05$. تمت مقارنة المتوسطات والانحرافات المعيارية بواسطة برنامج «Sigmastat 3.5 ».

الفصل الثالث

النتائج

الفصل الثالث: النتائج

1. دراسة معايير الالتهاب المفصلي المحرض بالكولاجين نمط II

تم تحريض الالتهاب المفصلى الرثوي لدى الجرذان Albino Wistar بواسطة الكولاجين II (CII) مع حقن ثان بعد سبع أيام ، في البداية لوحظ ظهور تقرحات على مستوى موقع الحقن لتشفى تماما خلال 10 أيام تبدأ البوادر الأولى لظهور الالتهاب بعد 14 يوما من أول حقن، هذه المدة تقارب نحو 7 أيام من ظهور الأجسام المضادة النوعية (الاستجابة الأولي) (Roitt وآخرون، 1985)، بينت هذه الملاحظة سرعة ظهور أضداد CII حيث تعمل على تدمير الغضروف من خلال إنشاء مواقع التهابية وهذا راجع إلى تشكل المعقدات المناعية (كولاجين–مضاد الكولاجين) التي تؤدى إلى تنشيط المتممة لتحرير anaphylatoxines (C3a و C5a). لوحظ أن الانتفاخ يبلغ أقصى حد له في اليوم 21.

فيما يخص تطور CIA عند الحيوانات لوحظ أن الالتهاب المفصلي لم يمس إلا خمسة جرذان من أصل 9 (55,55 ٪). يظهر الالتهاب بشكل رئيسي في المفاصل البعيدة للأرجل الخلفية التي تتمثل في الكاحل، مفاصل سلاميات مشط القدم وما بين السلاميات القريبة من محور الجسم، وبنسبة قليلة مفاصل الأرجل الأمامية كما لوحظ تأثر الركبة في بعض الجرذان، لينتشر عبر كامل القدم حيث تصبح حمراء ومتيبسة.

لوحظ تواجد إلتهاب ثنائي للأرجل الخلفية بنسبة 48 ٪ من مجموع الجرذان المصابة (الشكل 9) مقارنة بالجرذان السليمة (الشكل10) وبنسبة 25 ٪ للالتهاب الأحادي الذي يصيب قدم واحدة، بالنسبة للأرجل الأمامية فيشمل الالتهاب بعض المفاصل مابين السلاميات القريبة من محور الجسم.

الشكل 9: التهاب ثنائي للأرجل الخلفية للجرذان المصابة بالتهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين نمط II.

الشكل 10: الأرجل الأمامية والخلفية للجرذ في الحالة العادية.

2.دراسة الأثر المضاد للالتهاب لنبات الشندكورة (*Ajuga iva*)

1.2. الاستخلاص

من خلال عملية الاستخلاص النباتي للـــ *Ajuga iva* بواسطة الميثانول لـــ 3 كيلوغرام من هذه النبتة تمكنا من الحصول على 120غ كمستخلص ميثانولي خام أي بمردود قدره 40 غ/كغ من النبتة الجافة.

2.2. تأثير الجرعات العلاجية

بعد عملية الاستخلاص لنبات الشندكورة بواسطة الميثانول تم بتحضير الجرعات العلاجية (10، 20، 40 مغ/كغ) وتبدأ المعالجة بعد اليوم 14 من تحريض الالتهاب المفصلي بواسطة الكولاجين بحيث كانت المعالجة يوميا عن طريق gavage ولمدة 21 يوما وخلال هذه المرحلة تم تتبع تطور المرض وذلك بدراسة الأثرالعلاجى للشندكورة على وزن الجرذان، حجم الأوديما، نسبة الكريات الدموية البيضاء. وتمت مقارنة نتائج المجموعة المصابة والغير معالجة التي اعتبرت كمجموعة شاهدة مصابة مع المجموعات المصابة والمعالجة بمختلف الجرعات المستعملة في هذه الدراسة.

1.2.2.تأثير مختلف الجرعات العلاجية لنبتة الشندكورة على حجم الأوديما للجرذان المصابة

- **عند المجموعة المصابة الشاهدة**

تم قياس حجم الأرجل بواسطة جهاز pléthysmomètre ابتداء من اليوم الذي تم فيه تحريض الإلتهاب المفصلي، ثم تم أخد القياسات كل أربع أيام حتى نهاية التجربة. القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري (SEM).

بينت النتائج المتحصل عليها زيادة معنوية لحجم الأوديما تبدأ من اليوم 14 (1,02 ± 0,06 مل) ($p<0.05$) عند المجموعة المصابة الشاهدة مقارنة بالمجموعة السليمة الشاهدة (0,82 ± 0,02 مل) بينما لم يلاحظ أي تغيير معنوي خلال الأسبوع الأول بعد الحقن. بعد 18 يوما كانت الزيادة جد معنوية (1,20 ± 0,11 مل) ($p<0.01$) مقابل 0,85 ± 0,026 مل عند المجموعة السليمة الشاهدة، لتبلغ أقصى قيمة لها بعد 21 يوما (1,43 ± 0,14 مل) ($p<0.01$) أما بالنسبة للمجموعة السليمة الشاهدة فقد بلغت 0,87 ± 0,02 مل (الشكل 11) . بعد مرور 30 يوما لوحظ تناقص في حجم الأوديما

(1,30 ± 0,12 مل مقابل 0,88 ± 0,02 مل عند المجموعة السليمة) دليلا على بداية تلاشي الالتهاب الذي يزول تماما بعد 60 يوما مع بقاء آثار التخريب على مستوى المفاصل المتضررة.

- **تأثير الجرعة 10مغ/كغ**

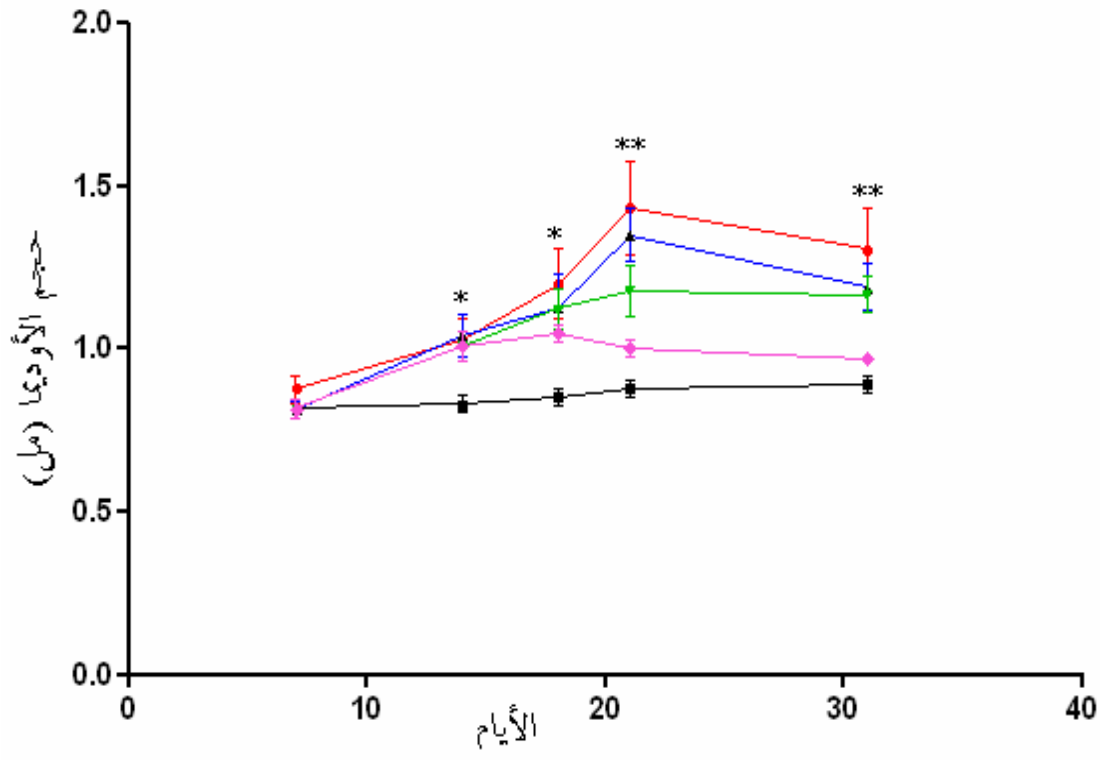
.بمقارنة النتائج المتحصل من خلال دراسة تأثير الجرعة 10مغ/كغ على حجم الأوديما للمجموعة المصابة الشاهدة والمجموعة المصابة المعالجة تبين أنه لا يوجد أي اختلاف معنوي في النتائج. بحيث تكون متشابهة طيلة فترات التجربة (الشكل 11)يظهر الانتفاخ بوضوح عند المجموعة المعالجة بعد 14 يوما من بداية الحقن (1,04 ± 0,06 مل)، ليبلغ الحجم أقصى حد له بعد 21 يوما (1,35 ± 0,08 مل) بينما بلغ 1,43 ± 0,14 مل عند المجموعة المصابة الشاهدة. ثم لوحظ بداية انخفاضه ليستمر هذا الانخفاض إلى غاية نهاية التجربة (1,18 ± 0,07 مل). من خلال النتائج المتحصل عليها تبين أن الجرعة 10مغ/كغ ليس لها أثر معنوي على حجم الأوديما.

- **تأثير الجرعة 20مغ/كغ**

بعد مقارنة النتائج هذه المجموعة مع المجموعة المصابة الشاهدة لوحظ تواجد اختلاف طفيف بينهما إلا أن هذا الاختلاف لا يعتبر معنوي، حيث بلغ حجم الأوديما (1,00 ± 0,04 مل) بعد 14 يوما عند المجموعة المعالجة ليبلغ أقصى حد له (1,17 ± 0,07 مل) بينما قدر بـــ 1,43 ± 0,14 مل عند المجموعة المصابة الشاهدة وذلك بعد 21 يوما من تحريض الالتهاب. ثم لوحظ بداية انخفاض حجم الأوديما لكل من المجموعتين وهذا الانخفاض يتزامن مع بداية زوال الالتهاب(الشكل 11).

- **تأثير الجرعة 40 مغ /كغ**

بينت النتائج الموضحة في الشكل 19 وجود اختلاف معنوي ($p<0.05$) بين المجموعة المصابة الشاهدة والمجموعة التي تمت معالجتها بالجرعة 40 مغ/كغ ، حيث لوحظ أن حجم الأوديما بلغ اكبر قيمة له (1,00 ± 0,04 مل) بعد 21 يوما عند المجموعة المعالجة لتصل إلى 0,97 ± 0,01 مل بعد 31 يوما بالمقابل بلغت 1,43 ± 0,14 مل كأقصى حد لها عند المجموعة المصابة الشاهدة بعد 21 يوما وقدرت بـــ 1,30 ± 0,12 مل بعد 31 يوما (الشكل 11) ،من خلال نتائج هذه المجموعة تبين أن الجرعة 40 مغ/كغ لها تأثير معنوي في تراجع حجم الأوديما.



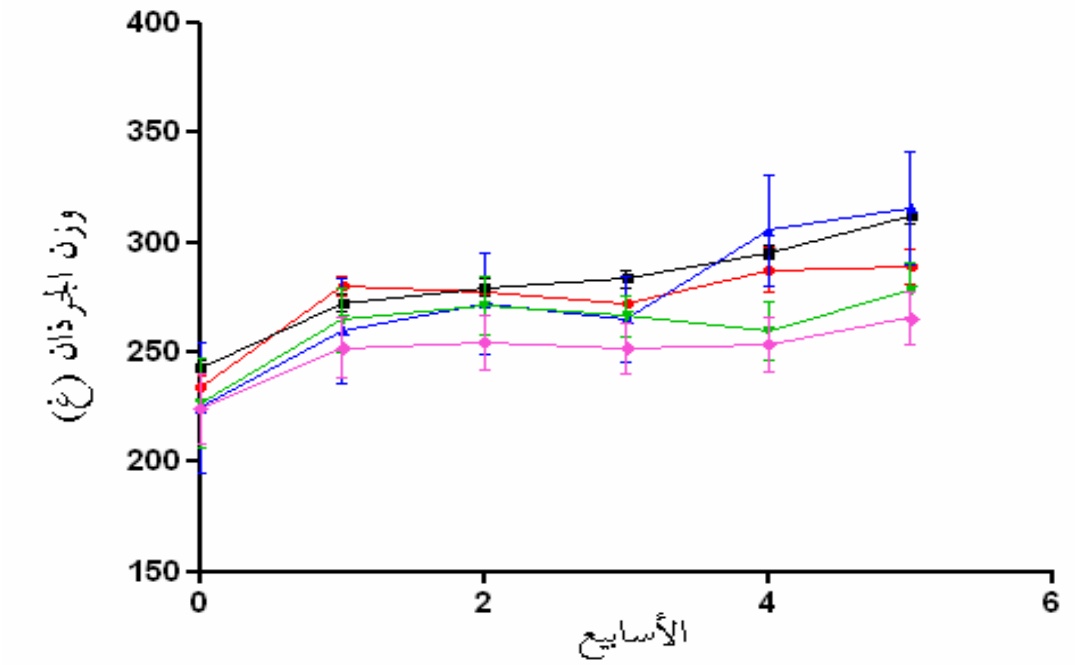
الشكل 11: تأثير مختلف الجرعات العلاجية على حجم الأوديما للجرذان المصابة المعالجة بالمقارنة مع الجرذان الشاهدة.القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري. (—●—) المجموعة المصابة الشاهدة، (—▲—) الجرعة 10مغ/كغ، (—▼—) الجرعة 20مغ/كغ، (—◆—) الجرعة 40مغ/كغ، (—■—) المجموعة السليمةالشاهدة .* زيادة معنوية ($p<0.05$) ، ** زيادة جد معنوية ($p<0.01$).

2.2.2.تأثير الجرعات العلاجية على وزن الجرذان المصابة بـــ CIA

- **عند المجموعة المصابة الشاهدة**

بعد أخذ مختلف القياسات الخاصة بأوزان الجرذان تم تقسيمها إلى 5 مجموعات متجانسة حسب الوزن والعمر تحوى كل مجموعة 9 جرذان. وقد تم أخذ القياسات الأولية للأوزان قبل يوم من تحريض الالتهاب بواسطة CII حيث قدرت بـــ (233,7 ± 5,3 غ) بالنسبة للمجموعة التي تم تحريض الالتهاب لديها فيما بعد أما المجموعة الثانية فكانت (243,1 ± 3,1غ) والتي اعتبرت كمجموعة شاهدة سليمة، تميز الأسبوع الأول بزيادة سريعة للوزن حيث قدرت بـــ (280,0 ± 4,2 غ) بالنسبة للمجموعة المصابة الشاهدة(19.81 %) بالمقابل كانت (272,3 ± 4,203 غ) عند

المجموعة السليمة الشاهدة (12.01 %) حيث لوحظ أن نسبة هذه الزيادة كانت مشابهة تقريبا لدى المجموعتين (الشكل 12). أما خلال الأسبوع الثاني والثالث فلاحظنا انخفاض الوزن (277,5 ± 5,9 غ ؛ 272,0 ± 7,1 غ) على التوالي عند المجموعة المصابة الشاهدة هذا التناقص يتزامن مع ظهور البوادر الأولى للالتهاب حيث يبدأ الانتفاخ على مستوى المفاصل الخلفية القريبة من موقع الحقن بما فيها مفاصل الأرجل الخلفية بحيث تميز الأسبوع الثالث ببلوغ الانتفاخ أقصى قيمة له حيث قلت حركة ونشاط الجرذان مما صعب عليها الوصول إلى الغذاء مقارنة مع المجموعة السليمة الشاهدة التي تميزت بزيادة تدريجية للوزن مع مرور الأسابيع. ابتداء من الأسبوع الرابع لوحظ بداية ارتفاع وزن جرذان المجموعة المصابة الشاهدة (289,4 ± 7,9غ) وتزامنت هذه الزيادة مع بداية زوال الالتهاب لتستمر هذه الزيادة إلى غاية نهاية التجربة.



الشكل 12: تأثير الجرعات العلاجية على وزن الجرذان المصابة المعالجة بالمقارنة مع الجرذان الشاهدة.القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري. (—●—) المجموعة المصابة الشاهدة، (—▲—) الجرعة 10مغ/كغ، (—▼—) الجرعة 20مغ/كغ، (—◆—) الجرعة 40مغ/كغ، (—■—) المجموعة السليمة الشاهدة.

- **تأثير الجرعة 10مغ/كغ**

بعد مقارنة مختلف الأوزان الخاصة بالجرذان لكل من المجموعة المصابة الشاهدة والمجموعة المصابة والمعالجة بالجرعة 10مغ/كغ قبل يوم من تحريض المرض (233,7 ± 5,3غ ؛235.0 ± 16.8غ) على التوالي وطيلة فترات التجربة لوحظ تشابه في النتائج (الشكل12)تميز الأسبوعين الأولين للمجموعة المعالجة بزيادة تدريجية للوزن (260,0 ± 23,9 غ ؛272,2 ± 23,2 غ) على التوالي بالمقابل تميز الأسبوع الأول للمجموعة المصابة الشاهدة بالزيادة (280,0 ± 4,2غ) عكس الأسبوع الثاني الذي لوحظ فيه بداية انخفاضه (277,5 ± 5,9 غ). في الأسبوع الثالث لوحظ انخفاض في وزن المجموعة المعالجة (265,0 ± 19,8غ) وكذا استمرار انخفاضه بالنسبة للمجموعة المصابة الشاهدة (272,0 ± 7,1غ). تزامن هذا الانخفاض مع بلوغ الالتهاب أقصى قيمة له، أما خلال الأسبوع الرابع فلوحظ ارتفاع الوزن تدريجيا لكل من المجموعة المصابة الشاهدة والمجموعة المعالجة (287,5 ± 10,0غ ؛ 305,5±25,5غ على التوالي) ويمكن تفسير هذه الزيادة ببداية زوال الالتهاب.

- **تأثير الجرعة 20 مغ/كغ**

بعد مقارنة وزن جرذان هذه المجموعة قبل بداية وخلال التجربة مع أوزان المجموعة المصابة الشاهدة لوحظ أن الأسبوع الأول بعد الحقن تميز بزيادة الوزن لكل من المجموعتين حيث بلغت هذه الزيادة 264,8 ± 14,86غ عند المجموعة المعالجة بينما قدرت بـــ 280,0 ± 4,2 غ عند المجموعة المصابة الشاهدة، أما الأسبوع الثاني فتميز باستمرار ارتفاع وزن المجموعة المعالجة (271,1 ± 13,5غ) بينما لوحظ بداية انخفاضه عند المجموعة المصابة الشاهدة (277,5 ±5,9غ). الأسبوع الثالث لوحظ خلاله استمرار انخفاض وزن المجموعة المصابة الشاهدة (272,0 ±7,1غ) مقابل بداية انخفاضه عند المجموعة المعالجة (266,7 ± 9,3غ) ليستمر انخفاض وزن هذه المجموعة إلى غاية الأسبوع الرابع (259,8 ±13,3غ). بعد شهر لوحظ ارتفاع الوزن من جديد للمجموعتين ليصل إلى (278,1 ± 12,3غ) بالنسبة للمجموعة المعالجة في نهاية التجربة(الشكل12).

- **تأثير الجرعة 40 مغ /كغ**

بالنسبة لوزن جرذان هذه المجموعة وبعد قياس الوزن الأولي (224,0 ± 16,2غ) لوحظت زيادة معتبرة للوزن في الأسبوعين الأولين لتبلغ 254,4 ± 11,2غ في نهاية الأسبوع الثاني مقارنة مع المجموعة المصابة الشاهدة(الشكل12)بينما لوحظ انخفاض طفيف للوزن في الأسبوع الثالث

(251,7 ± 10,6غ) ليعاود في الارتفاع تدريجيا في الأسبوع الرابع (265,6 ± 11,9غ).

3.2.2.تأثير الجرعات العلاجية على عدد الكريات الدموية البيضاء

- **عند المجموعة المصابة الشاهدة**

تلعب الكريات الدموية البيضاء وبالأخص البالعات دورا كبيرا في التهاب الغشاء الزلالي عند مرضى المصابين بـــ RA لغرض معرفة وقياس شدة الالتهاب قمنا بدراسة نسبة الكريات الدموية البيضاء المتواجدة في دم العينات الحيوانية التي تم تحريض الالتهاب لديها بواسطة CII وذلك في اليوم 21 الذي بلغ فيه الالتهاب أقصى حد له ثم قبل يوم من إجراء التشريح (اليوم 31). فيما يخص المجموعة المصابة الشاهدة وبمقارنة النتائج المتحصل عليها مع نتائج المجموعة السليمة الشاهدة لوحظت زيادة معنوية ($p<0.05$) للكريات الدموية البيضاء في دم الجرذان المصابة بالالتهاب ويفسر هذا بالالتهاب الشديد الناتج في هذه الفترة من المرض (اليوم 21) ، أما فيما يخص النتائج المتحصل عليها في اليوم 31 فكانت النسبة مشابهة لنتائج المجموعة العادية (الشكل 13) حيث لاحظنا تناقص عدد الكريات الدموية البيضاء بسبب بداية زوال الالتهاب وبداية تماثل الجرذان للشفاء.

- **تأثير الجرعة 10مغ/كغ**

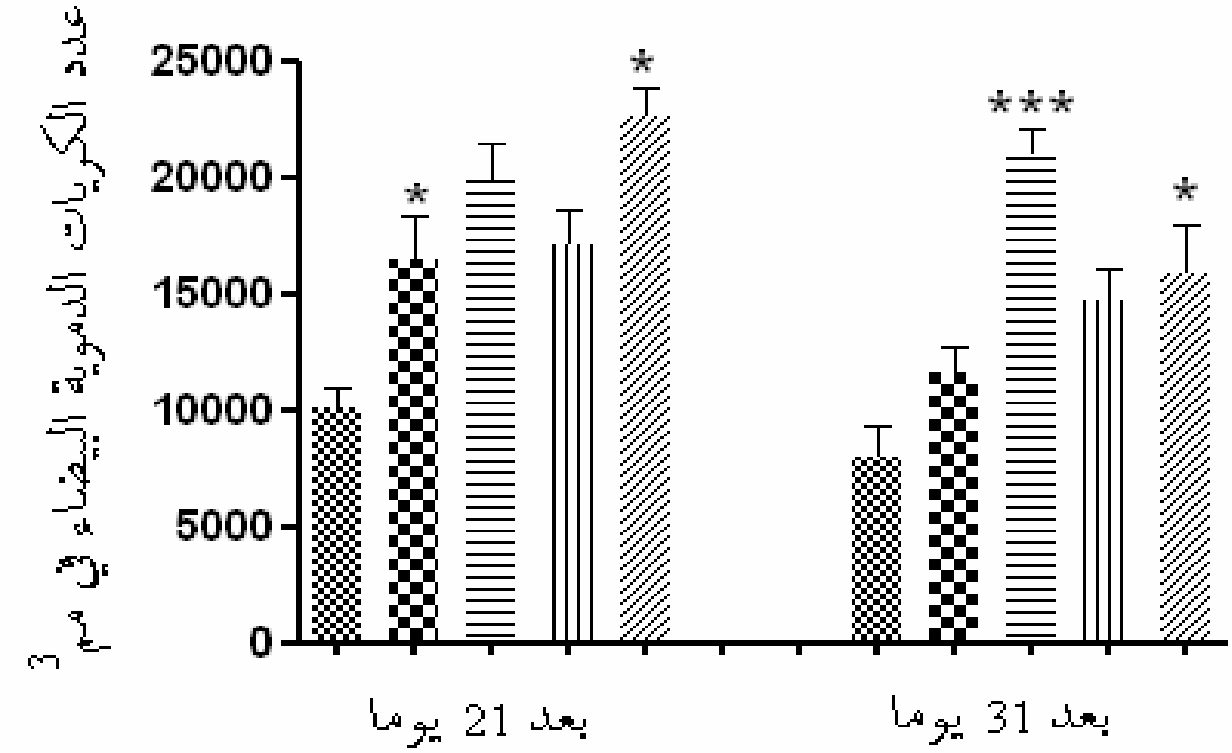
بعد تقدير نسبة الكريات الدموية البيضاء لوحظ تشابه في نتائج كل من المجموعة المعالجة والمجموعة المصابة الشاهدة بعد 21 يوما من بداية الالتهاب حيث وجد أن هذه النسبة بلغت أقصى قيمة لها خلال هذه الفترة من التجربة التي تميزت ببلوغ الالتهاب أقصى حد له. بعد 31 يوما تبين انه يوجد اختلاف معنوي جدا ($p<0.001$) في نتائج المجموعتين (الشكل13) ولوحظ بقاء نسبة الكريات البيضاء مرتفعة عند المجموعة المعالجة مقارنة مع المجموعة المصابة الشاهدة التي تميزت بانخفاض هذه النسبة. كل هذه النتائج تشير إلى أن الجرعة 10مغ/كغ ليس لها تأثير على الالتهاب.

- **تأثير الجرعة 20 مغ/كغ**

بينت النتائج أن أقصى حد للالتهاب كان بعد 21 يوما من تحريض المرض حيث بلغت نسبة الكريات الدموية البيضاء في هذه الفترة أقصى حد لها بالنسبة لكل من المجموعة المصابة الشاهدة والمجموعة المعالجة كما لوحظ انه لا يوجد اختلاف معنوي في نتائج هاتين المجموعتين طيلة فترات التجربة(الشكل 13)

- **تأثير الجرعة 40 مغ /كغ**

من خلال مقارنة نتائج المجموعة المصابة الشاهدة ونتائج المجموعة المعالجة بالجرعة 40 مغ/كغ لوحظ انه يوجد اختلاف معنوي ($p<0.05$) حيث بلغت نسبة الكريات الدموية البيضاء أقصى حد لها في اليوم 21 مقارنتا مع المجموعة المصابة الشاهدة (الشكل13) بعد مرور حوالي 30 يوما لوحظ انخفاض في هذه النسبة حيث يعتبر هذا الانخفاض معنوي مقارنتا مع النتائج المتحصل عليها من أول قياس.



الشكل13 : تأثير الجرعات العلاجية لمستخلص *Ajuga iva* على عدد الكريات الدموية البيضاء للجرذان المصابة المعالجة بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة.القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري. (▩) المجموعة المصابة الشاهدة، (▤) الجرعة 10مغ/كغ، (IIIII) الجرعة 20مغ/كغ، (▨) الجرعة 40مغ/كغ، (▩) المجموعة السليمةالشاهدة .* زيادة معنوية ($p<0.05$) ، ** زيادة جد معنوية ($p<0.01$) ،*** زيادة معنوية جدا.

الفصل الرابع

المناقشة

الفصل الرابع :المناقشة

يعتبر كل من الالتهاب المفصلي المحرض بواسطة CII أو CFA من أهم النماذج التي استعملت على نطاق واسع من أجل دراسة و معرفة الأسباب والآليات المؤدية إلى تطور مرضRA بالإضافة إلى استعمالها لاختبار فعالية مختلف الأدوية والعقاقير المضادة للالتهاب التي من شأنها أن تملك أثرا ايجابيا على تطور المرض أو التقليل من حدته (Jaijesh وآخرون، 2008).

يعد CIA واحد من بين أكثر النماذج التجريبية استعمالا في تحريض الالتهاب المفصلي. تم وصف هذا النموذج لأول مرة من قبل العالم Trentham و آخرون سنة 1977، حيث دلت الدراسات التي قام بها على أنه ينتج عن حقن الجرذان بـــ CII التهابا مفصليا يشبه RA في الكثير من خصائصه السريرية، فيمكن تحريض نموذج CIA عند الفئران و القردة بالإضافة إلى الجرذان (Myens وآخرون، 1997). دلت الدراسات الأولية على أن تحريض CIA محصور فقط على CII الأصلي الذي يعتبر المكون الرئيسي للغضروف المفصلي، كما أن كل من CII غير الأصلي و CI لا تحرض الالتهاب المفصلي. فيما بعد اتضح أن أنماط الكولاجين الضعيفة المكونة للغضروف المفصلي يمكن أن تحرض CIA (van den Berg، 2004).

أثبتت الدراسات مدى تأثير CII على تخريب العظم والغضروف، حيث تعمل الخلايا اللمفاوية TH_0 على تقديم مولد ضد نوعي خاص بـــ CII للخلايا اللمفاوية TH1 حيث تعمل هذه الخلايا على إفراز الانترفيرون غاما(INFγ) الذي يعمل على تنشيط الخلايا البلعمية التي تقوم بإفرازNO وعدد من السيتوكينات أهمها TNFα الذي يقوم بتحفيز مختلف الخلايا مثل الخلايا الطلائية والخلايا الزلالية والغضروفية. تعمل هذه الخلايا على تحرير عدد من الوسائط الالتهابية (الإنزيمات الحالة للبروتينات، NO، PGE2،IL-1، IL-8 ،MIP-1، MCP-1 ، MMPs)، فتعمل هذه الوسائط على تخريب العظم والغضروف. كما يمكن لـــ CII كمولد ضد نوعي أن يحفز اللمفاويات B لتقوم بإفراز الأجسام المضادة لـــ CII التي تلعب دورا محرضا للالتهاب المفصلي من خلال تأثيرها على الخلايا الغضروفية (Fournier، 2005).

من خلال إتباع مراحل تطور هذا النموذج الذي تحقق في هذه الدراسة التي تتمثل في تحريض الالتهاب المفصلي لدى جرذان Albino Wistar، بعد حقن المستحلب المحتوي على CII والتذكير بعد سبعة أيام، يبدأ المرض في التطور عند الجرذان ثم يستمر إلى غاية 60 يوما. بلغت

نسبة تطور المرض خلال هذه الدراسة التي قمنا بها حوالي 55.55 ٪ من الجرذان وهي نسبة أعلى قليلا من تلك التي تحصل عليها Trentham وآخرون (1977) (41٪) كما دلت الدراسات التي أجريت في الآونة الأخيرة على أن المرض يمكن أن يشمل من 89 إلى 100٪ من الجرذان (Kaibara وآخرون.، 1984 ،Campo وآخرون.،2003). تجدر الإشارة هنا إلى أن Trentham وآخرون استخدموا الحقن داخل الصفاق في اليوم 21، بينما التذكير يكون بواسطة مستحلب CII فقط بعد سبع أيام من التمنيع الأول.

يعد حجم التورم من أهم المعايير التي تدخل في تحديد وتقييم الالتهاب وكذا مدى الفعالية العلاجية للعقاقير المستعملة فقد دلت هذه الدراسة على أن للمستخلص الميثانولي لـــ *Ajuga iva* يملك أثرا مضادا للالتهاب من خلال تقدير نسبة تثبيط الالتهاب المحرض بالكولاجين نمط II للجرذان لمختلف الجرعات العلاجية المستعملة للمستخلص الميثانولي لنبتة الشندكورة (الجدول 1).

الجدول1: تأثير المستخلص الميثانولي لـــ *Ajuga iva* على الالتهاب المحرض بواسطة الكولاجين لدى الجرذان . القيم معبر عنها بالمعدل ± متوسط الخطأ المعياري

العلاج	الجرعة(مغ/كغ)	حجم الأوديما (مل)	نسبة تثبيط الالتهاب (٪)
المجموعة الشاهدة	/	0,098 ± 1,169	/
Ajuga iva	10	0,088 ± 1,104	5.56
Ajuga iva	20	0,067 ± 1,058	9.5
Ajuga iva	40	0,040 ± 0,9684	17.15

تعد الكريات الدموية البيضاء (White Blood Cells : WBC) من أهم العناصر المكونة للجهاز المناعي للجسم فتواجدها بنسب كبيرة مؤشر على وجود أمراض إما معدية أو التهابية (Jaijesh وآخرون، 2008). بينت دراستنا زيادة معنوية ($p<0.05$) لـــ WBC عند الجرذان المصابة بالالتهاب بالمقارنة مع الجرذان العادية، أما المجموعات المعالجة فكانت النتائج متباينة حيث وجدت زيادة جد معنوية عند الجرذان المعالجة بالجرعة 10مغ/كغ بينما لم يلاحظ أي اختلاف معنوي فى عند الجرذان المعالجة بالجرعة 20 مغ/كغ بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة المصابة، أما فيما يخص الجرذان المعالجة بالجرعة 40 مغ/كغ فلوحظ اختلاف معنوي حيث وجدت انخفاض معنوي لـــ WBC بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة. يمكن أن يكون هذا دليلا على تحفيز لنمو هذه الخلايا أو على الأقل على هجرتها على مستوى دم الجرذان المعالجة بالجرعة 40 مغ/كغ.

يبدو من خلال هذه الدراسة أن مستخلص *Ajuga iva* يملك تأثيرا مخفضا للوزن وهذا لأول مرة عند الثدييات على حد علمنا، بينما بينت الدراسة التي قام بها Jbilou وآخرون (2006) أن لها تأثير مخفض للوزن وذلك على نوع من الحشرات.

وتعد هذه الدراسة، التي تناولنا من خلالها دراسة التأثير المضاد للالتهاب للمستخلص الميثانولي لـــ *Ajuga iva* على الالتهاب المفصلي المزمن المحرض بواسطة CII على الجرذان، أول محاولة لتبيين الأثر العلاجي لهذه النبتة على الالتهاب المفصلي الرثوى، بينما تناولت بعض الأبحاث دراسة تأثير أنواع أخرى لـــ *Ajuga* مثل *Ajuga decumbens* (KA) حيث بينت الدراسة التي قام بها Yuka ono وآخرون (2008) تأثير مستخلص هذه النبتة على مرض هشاشة العظام بالإضافة إلى أثرها المضاد لالتهاب المفاصل الرثوى، وقد تناولت هذه الدراسة تأثير(KA) على كل من إنتاج أكسيد النتريك (NO)، (iNOS)، نشاط الخلايا البنائية للعظم (Osteoblast) والخلايا الكاسرة للعظم (Osteoclast).بالإضافة إلى تأثيرها على مرض هشاشة العظام وكذا الالتهاب المفصلي المزمن المحرض بواسطة مساعد فروند على الجرذان، حيث دلت النتائج المتحصل عليها أن (KA) يعمل على خفض تمايز الخلايا الكاسرة للعظم وتنظيم عمليات تمعدن الخلايا osteoblast-like MC3T3-E1. يلعب NO المشتق من iNOS دورا مهما في تطور الأمراض الالتهابية كذا دوره على مستوى التوازن الحاصل بين عملية إرتشاف العظم وبنائه، حيث يعمل (KA) على تثبيط تعبير iNOS مما يؤدي إلى انخفاض مستويات إنتاج NO. كما يعمل (KA) على توقيف الاستجابة المناعية الثانوية من خلال تثبيط الانتفاخ الناتج عن الالتهاب المفصلي المحرض. ومن خلال نتائج هذه الدراسة تبين أن *Ajuga decumbens* يفيد في معالجة مرض هشاشة العظام والتهاب المفاصل .

معظم الأبحاث التي تناولت *Ajuga iva* بالدراسة كانت في ميادين أخرى مثل تأثيرها على مرض السكري حيث بين El-Hilaly وآخرون (2006) أنها تخفض مستوى السكر بنسبة 24٪ لدى بعض النماذج الحيوانية التي تم تحريض مرض السكري لديها بواسطة streptozotocin كذلك الكولسترول بنسبة 35 ٪، والغليسريدات الثلاثية بنسبة 13٪.

بالرغم من أننا لم نهدف لدراسة الأثر السمي لـــ *Ajuga iva* إلا انه لم يلاحظ أي تأثير سمي لها خلال التجربة. وبالفعل فقد أفادت بعض الدراسات أن *Ajuga iva* ليس لها أي اثر سمي على الجرذان سواء كأثر جسدي عام أو على أعضاء الجسم بعد المعاملة اليومية للفئران بجرعة يومية 600

مغ/كغ لمدة ثلاث أشهر أو من خلال جرعة واحدة قدرت بـــ 14غ/كغ (El-Hilaly وآخرون، 2004).

فيما يخص العنصر النشيط والفعال في *Ajuga iva* والمسؤول عن الأثر المخفض للسكري والمضاد للأكسدة فقد بين التحليل الكيميائي لنبتة *Ajuga iva* على أنها تحتوي على نسبة كبيرة من *الفلافونويدات* التي تملك أثرا على انخفاض السكر والدهون (EL-Hilaly وآخرون، 2007). كما يحتمل أن تملك إحدى العناصر المكونة للـــ Ajuga iva نشاط صيدلاني على سبيل المثال harpagide، clorogenes، caffeine، barpagide، apigenin-7-O-neohesperidoside ، ajugarine ، 8-O-acetyl cyasterone، diglycerides، 14,15-dihydroajugapitin، ecdysones، naringin، 20-hydroxyecdysone، ecdysterones، flavonoids، makisteroneA، neohesperidoside، phenylcarboxylic acids، tanninpolyphenols (EL-Hilaly وآخرون، 2007).

Ecdysteroids هي مجموعة كبيرة من Polyhydroxysteroidsوالتي تم غزلها من مختلف المماليك الحيوانية منها أو النباتية، فعادة ماتمتلك النباتات كميات قليلة من Ecdysteroids بنسب تتراوح بين 0.1—0.001 ٪ من وزن المواد الخام وفى بعض الحالات تصل أحيانا 2.5 – 2.9٪ أو أكثر. بينما عند الحيوانات تكون النسبة اقل مما هي عليه في النباتات حيت تقدرEcdysteroids بـــ 0.01٪.

بينت الدراسة التي قام بها الباحث Ramazanov تواجد أنواع عديدة من Ecdysteroids في 17جنس من Ajugaحيث تم عزل من 1 إلى 37 نوع من Ecdysteroids. بالنسبة للـــ Ajuga iva فقد دلت هذه الدراسة على أنها تحتوى على Ecdysteroids التالية Ajugasterone C ، Makisterone A، Cyasterone، 22-Oxocyasterone، 23-Hydroxycyasterone، Ecdysterone، 24,25-Dehydroprecyasterone. وتعتبر Ecdysteroids مركبات نشيطة تقوم بوظائف نوعية ويمكن أن تكشف من بيرو كسيد الأكسدة الليبيدية (peroxide oxidation of lipids) بواسطة التأثير الفيزيوكيميائى على الخلايا المنظمة للأيض ، بالإضافة إلى أنها تملك دور مضاد للتأكسد في مختلف الأنظمة كما بينت بعض الدراسات. كما أكد بعض الباحثين اليابانيين أن معاملة الفأران بـــ Polyhydroxysteroids تؤدى إلى زيادة ملحوظة في إنتاج البروتين. حيث أدت المعاملة اليومية للـــجرع 5-10مغ/كغ من Polyhydroxysteroids إلى زيادة وزن الجسم وكذلك زيادة حجم بعض الأعضاء الداخلية الأخرى والعضلات الهيكلية فهذه التغيرات ناتجة عن زيادة البروتين الحيوي تحت

تأثير ecdysteroids وكدا زيادة المحتوى الاجمالى للكبد، القلب، الكلى، والعضلات الأخرى (Ramazanov،2005).

Grimova وآخرون (1977)اظهروا أن للـــ ecdysteroids أثر على استقرار وثبات الأغشية، وقد تأكد هذا من خلال النتائج التي أظهرت أن حضانة الكريات الحمراء للأرنب مع ecdysterone، viticosterone E، polypodine B ، a-ecdysone و cyasterone تؤدى إلى زيادة مؤشر الاستقرار المحسوب بواسطة حمض erythrograms فقد يكون هذا الثبات في الغشاء ناتج عن الأثر المضاد للالتهاب لهذه المركبات في العديد من النماذج الالتهابية(Ramazanov ، 2005).

كاستخلاص، من خلال النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة تبين أن المستخلص الميثانولي لنبات الشندكورة يملك تأثيرا مضادا للالتهاب المحرض بـــ CII عند الجرذان حيث بينت النتائج أن المعالجة اليومية بالجرعة 40 مغ/كغ لهذه النبتة كان لها تأثير معنوي على تثبيط الالتهاب. سنسعى إن شاء الله في المستقبل إلى إمكانية عزل العناصر المكونة لهذه النبتة لغرض تحديد المكوناتها النشيطة والتي تملك الفعالية البيولوجية المضادة للالتهاب أو من خلال دراسة السمية العلاجية لها.

المراجع

حليمي، ع. (2004). النباتات الطبية في الجزائر. Berti edition، الجزائر. ص. 304.

Adam, M., Abramson, S.B. and Pillinger, M.H. (2005). The fibroblast-like synovial cell in rheumatoid arthritis: a key player in inflammation and joint destruction. *Clinical Immunology.* **115,** 118– 128.

Arrar, L., Derradji , Y., Rouba K., Hanachi N., Charef N., Bouriche H., Boumerfeg S. and Baghiani, A. (2008). Induction de l'arthrite rhumatoïde chez le rat Wistar par le collagene type II. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*. **66**, 133-145.

Banwell, B.F. and Gall, V. editors.(1988). Physical therapy in arthritis. Ed. Mason. , New York. 43-47.

Bendele, A.M., (2001). Animal models of rheumatoid arthritis. *J. Musculoskel Neuron Interact.* **1**(4), 377-385

Bensalem-bendjelloul, M. (1998). Techniques histologiques théorie et pratique. OPU, Alger. 6-41.

Bina, J. and Wilder, R. L. (1999). Animal models of rheumatoid arthritis. *Molecular Medicine Today***. 5**, 365-367.

Bomalaski, J.S., Baker, D., Resurreccion, N.V. And Clark, M.A. (1989). Rheumatoid arthritis synovial fluid phospholipase A2 activating protein (PLAP) stimulates human neutrophil degranulation and superoxide ion production. *Agents and Actions*. **27**, 425-427

Boyle, D. L., Kowaluk, E. A., Jarvis, M. F., LEE, C., Bhagwat, S. S., Williams, M. and Firestein, G. S. (2001). Anti-inflammatory effects of ABT-702, a novel non-nucleoside adenosine kinase inhibitor, in rat adjuvant arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. **296**, 495-500.

Brennan, P., and Silman , A. (1994). Breast-feeding and the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheum*. **37**, 808-813

Bresnihan, B. (1999) Pathogenesis of joint damage in rheumatoid arthritis. *J . Rheumatol*. **26**, 717-9.

Brooks, P. M. (1998). The heberden oration 1997 treatment of rheumatoid arthritis: from symptomatic relief to potential cure. *Br. J. Rheumatol*. **37**, 1265-1271

Campo, G. M., Avenoso, A., Campo, S., Ferlazzo, A., M., Altavilla, D. and Calatroni, A. (2003). Efficacy of treatment with glycosaminoglycans on experimental collagen-induced arthritis in rats. *Arthritis Res. Ther*. **5**, 122-131.

Carson, D.A., Chen, P.P. and Kipps, T.J. (1991). New roles for rheumatoid factor. *J. Clin. Invest*. **87**(2), 379-383.

Cawston, J. (1998). Matrix metalloproteinases and TIMPs: properties and implications for the rheumatic diseases. *Molecular Medicine Today.* 130-137

Chaiamnuay, S. and Bridges, L.S . (2005). The role of B cells and autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Pathophysiology*. **12**, 203–216

Clavel. (2004). La polyarthrite rhumatoïde où est-on?. *Assiphar. Bulletin.* **15**

Cohn de lara (2006) .Rumatologie /orthopédie traumalogie Arnett, FC., Edworthy, SM., Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheum*.**31** (3), 315-324

Colville-Nash, P.R. and Scott, D.L. (1992) Angiogenesis andrheumatoid arthritis; pathogenic andtherapeutic implications.*Ann Rheum Dis*.**7**, 919–925.

Combe, B. and Dougados, M. (2001) La polyarthrite rhumatoïde est morte, vive la polyarthrite chronique évolutive. *La lettre du rhumatologue*.**277**, 3-4.

Cooper, C., Kirwan, J. R., McGill, N .W. and Dieppe, P. A. (1990) Brown's syndrome: an unusual ocularcomplication of rheumatoid arthritis. *AnnRheum Dis* . **49**, 188-189.

Davidson, E.M., Rae, S.A. and Smith, M.J.H. (1989). Leukotriene B4, a mediator of inflammation present in synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheumatic Dis.* **42**, 677-679

Del Rincon, I., Williams, K., Stern, M.P., Freeman, G.L. and Escalante, A. (2001).High incidence of cardiovascular events in a rheumatoidarthritis cohort not explained by traditional cardiac riskfactors. *Arthritis and Rheum*. **44**, 2737-2745.

Deng, G. and Lenardo, M. (2006). The role of immune cells and cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Drug Discovery Today: *Disease Mechanisms* .**3**, 163-167

Dreano, T., Rollot, K., Renaud, B., Le Nen, D., Sevestre, F. X., Guilleux, C., Valtin, B., Siété, G. and Laulan, J. (2002). L'avant-pied rhumatoïde. Table Ronde sous la direction de T. Dreano. *Ann. Orthop. Ouest.* **34**, 251-300

El-Hilaly, J., Israili, Z.H. and Lyoussi, B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *J. Ethnopharmacol*. **91**, 43-50.

El-Hilaly, J., Tahraoui, A., Israilim, Z.H. and Lyoussi, B. (2007).Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajuga iva* L.whole plant in normal and diabetic rats. *J. Ethnopharmacol*. **105**, 441-448.

Emery, P., Zeidler, H. and Kvien, T.K.(1999) Celecoxibversus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison. *Lancet.* **354**, 2106-2111.

Ernest, H., Choy, M.D., and Gabriel, S.,Panayi, M.D.(2001). Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, **344**(12), 907-916

Eyquem, A., et Saint Martin, J. (1981). Immuno-rhumatologie. Rhumatismes lupus érythémateux disséminé connectivites. 2ème Ed. Maloine S. A . **124**, 121-186

Feghali, C.A. and Wright, T.M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Frontiers in Bioscience.* **2**, 12-26

Feldmann, M., Brennan, F. M. and Maini,R.N. (1996). Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Cell*. **85**, 307–310

Ferrara, N., Houck, K.A., Jakeman, L.B., Winer, J. and Leung, D.W. (1991) The vascular endothelial growth factor family of polypeptides. *J Cell Biochem*. **47**, 211–218.

Firestein, G.S., Boyle, D.L. andYu, C. (1994) Synovial interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 balance in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheum.* **37,** 644-652.

Gabriel, S.E., Crowson, C.S. and O'Fallon, W.M.(1999) The epidemiology of rheumatoid arthritis in Rochester., Minnesota., (1966-1985).*Arthritis and Rheumatism*. **42**, 415-420.

Golbach, R. and Lipsky, P.E.(2003) New concepts in the treatment ofrheumatoid arthritis. *Annu Rev Med* . **54,** 197-216.

Harizi. H., Corcuff. J. and Gualde. N. (2008). Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends in Molecular Medicine.* **14**, 461-469

Hendrik, S.K. and Lipsky, P.E. (2004). T Cells in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis

Hildebrandt, G., Jahns, J., Hindemith, M., Spranger, S., Sack, U., Kinne, R. W., Madaj-sterba, P., Wolf, U. and Kamprad, F. (2000). Effects of low dose radiation therapy on adjuvant induced arthritis in rats. *Int. J. Radiat. Biol*. **76** (8), 1143-1153.

Hitchon, A.C. and El-Gabalawy H.S.(2004). Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*. **6**, 265-278

Hochberg, M.C., Altman, R.D., Brandt, K.D., Clark, B.M., Dieppe, P.A. and Griffin, M.R.(1995).Guidelines for the medical management of osteoarthritis. Part I. Osteoarthritisof the hip. American College of Rheumatology. *Arthritis and Rheum*. **38**, 1535-1540.

Houssiau, F.A. (2000). les cytokines: quelle importance en rhumatologie?. *louvain med*. **119**, 359-360.

Iannone ,F., Corrigall, V.M., Kingsley, G.H. and Panayi, G.S.(1994). Evidence for the continuous recruitment and activation of T cells into the joints of patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* .**24,** 2706-2713.

Jaijesh, P., Srinivasan, K.K., Bhagath Kumar, P., Sreejith, G. and Ciraj, A.M. (2008). anti-arthritic property of the plant *rubia cordifolia* lin. *Pharmacologyonline* . **1**, 107-113

Kaibara, N., Hotokebuchi, T., Takagishi, K., Katsuki, J., Morinaga, M., Arita, C. and Jingushi, S. (1984). Pathogenetic difference between collagen arthritis and adjuvant arthritis. *J. Exp. Med*. **159**, 1388-1396

Kardes, H.(2004). Etude rétrospective sur l'évolution clinique d'unecohorte de patients avec polyarthrite rhumatoïde traités par des inhibiteurs du TNFα. Thèse n°10391. Genève

Katsikis, P.D., Chu, C., Brennan, F.M., Maini, R.N. And Feldmann, M. (1994). Immunoregulatory Role of Interleukin 10 in Rheumatoid Arthritis. **179**, 1517-1527

Khurana, R. and Berney, S. M. (2005).Clinical aspects of rheumatoid arthritis. *Pathophysiology*. **12**, 153-165.

Kinne, R.W., Brauer ,R. and Stuhlmuller, B.(2ooo) Palombo-Kinne, E., and Burmester, GR., Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. **2**, 189-202

Klareskog, L., Holmdahl ,R., Larsson, E. and Wigzell, H.(1983) Role of T lymphocytes in collagen II induced arthritis in rats. *Clin Exp Immunol* . **51**, 117-125.

Larsen, G. L. and Henson, P.M. (1983). Mediators of inflammation. *Ann. rev. Immunol*. **1**, 335-359.

MacNaul, K.L., et al.(1990) Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rheumatoid human synovial fibroblasts. Synergistic effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha on stromelysin expression. *J Biol Chem*. **265**(28), 17238-17245.

McCoy, J. M., Wicks, J. R. and Audoly, L. P. (2002). The role of prostaglandin E2 receptors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* **110**, 651-658.

Mehindate, K., al-Daccak, R., Dayer, J. M., Kennedy, B. P., Kris, C., Borgeat, P., Poubelle, P. E. and Mourad, W. (1995). Superantigen-induced collagenase gene expression in

human IFNgamma-treated fibroblast-like synoviocytes involves prostaglandin E2. Evidence for a role of cyclooxygenase-2 and cytosolic phospholipase A2. *J. Immunol.* **155**(7), 3570-3577.

Menkès, C., Allanor, Y., Giraudit-le Quintrec, J. S., Hilliquin, P., Judit, H., Kahan, A., Puéchal, X. andTubiana, R. (2004). La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte. Éd Masson .**160**, 5-30

Moilanen, E., Alanko, j., Nissilä, M., Hämäläinen, M., lsomäfiki, H. and Vapaatalo, H. (1989). Eicosanoid production in rheumatoid synovitis. *Agents and Actions*. **28**, 290-297.

Mor, A., Abramson, S.B., and Pillinge, M.H. (2005). The fibroblast-like synovial cell in rheumatoid arthritis: a key player in inflammation and joint destruction. *Clinical Immunology*. **115**, 118– 128

Mulherin, D., Fitzgerald, O. and Bresnihan, B.(1996) Synovial tissue macrophage populations and articular damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. **39**, 115-124.

Murphy, G., Knäuper ,V., Atkinson, S., Butler, G., English, W., Hutton, M., Stracke, J. and Clark, I. (2002). Matrix metalloproteinases in arthritic disease. *Arthritis Research.* **4**, 39-49

Myens, L.K., Rosloniec,E.F., Cremer, M.A. and Kang, A.H. (1997). Collagen induced arthritis , an animal model of autoimmunity. *Life Sciences*. **61**, 1861-1870

Notoya, K., Jovanovic, D. V., Reboul, P., Martel-Pelletier, J., Mineau, F. and Pelletier, J. P. (2000). The induction of cell death in human osteoarthritis chondrocytes by nitric oxide is related to the production of prostaglandin E2 via the induction of cyclooxygenase-2. *J. Immunol* .**165**(6), 3402-3410

O'Gradaigh, D., Watts, R. and Scott, D.(2001) Extra-articular features of rheumatoid arthritis. *In*: Firestein, G.S., Panayi, G.S. and Wollheim, F.A., eds. Rheumatoid Arthritis. Frontiers in pathogenesis and treatment. *Oxford University Press*, New York. 227-242

Otero, M. and Goldring. M.B. (2007). Cells of the synovium in rheumatoid arthritis Chondrocytes. *Arthritis Research and Therapy* . **9,** 220-233.

Panayi, G.S. and **C**hoy, E.H.S. (2001).Cytokine pathways and joint inflammation in Rheumatoid Arthritis. *NEnglJ Med*. **344**, 907- 916

Paola, R. D. and Cuzzocrea ,S. (2008). Predictivity and sensitivity of animal models of arthritis. *Autoimmunity Reviews*. **8**, 73–75

Piper, H., Mulherin, D. and Hardwick, N. (2006). Multiple haematological malignancies in a patient withrheumatoid arthritis without exposure to disease modifyingtherapy. *Ann Rheum Dis* .**65**, 268–269

Peter, D. K, and Eric, L. M. (2004). Clinical Features and Differential Diagnosis. *In:* William E. C., David, P. S., Barton, H. F. Rheumatoid Arthritis . Ed Front of Book. 12-25.

Raissouni, N., Gossec, L., Ayral, X. and Dougados, M.(2005). Quelles nouveautés dans le diagnostic et le traitement d'une PR récente. *Rev Rhum* .**72,** 195-200

Ramazanov, N. Sh. (2005) phytoecdysteroids and other biologically active compounds from plants of the genus Ajuga. *Chemistry of Natural Compounds*. **41**(4),

Raymondje, M. (2007). Les mécanismes d'inflammation péripherique. *Revue Francophone des Laboratoires* . 21-28.

Roitt, L., Brostoff, J. and Male, D. (1985). Immunology. *Gower Medical Publishing*. London

Sampey, A.V., Monrad, S. and Crofford, L.J. (2005). Microsomal prostaglandin E synthase-1: the inducible synthase for prostaglandin E2. *Arthritis Research and Therapy* **.7**, 114-117.

Sany, J., Combe, B. and Jorgensen, C.(1997). Immunopathogénie de la polyarthrite rhumatoïde. *EMC, App Locomoteur* .**14**, 115- 220

Sany, J. (2003). La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte : conception actuelle. Paris: John Libbey Eurotext, Paris. p. 298

Schulze-koops, H. and Kalden, J.R. (2001). The balance T1/T2 cell in rheumatoid arthritis. *Beste Practice and Research Clinical Rheumatology*. **15**, 677- 691

Schwab ,J. H. (1995). Bacterial Cell-wall Induced Arthritis" Models of Chronic Recurrent Polyarthritis and Reactivation of Monoarticular Arthritis. In Henderson B. Edwards J.C.W. Pettipher E.R. Mechanisms and Models in Rheumatoid Arthritis. Academic PressLondon San Diego New York Boston Sydney Tokyo Toronto. **505**, 434-464

Scott, D .G. I., Bacon, P. A. and Tribe, C. R.(1981) Systemic rheumatoidvasculitis: a clinical and laboratory study of 50 cases .*Medicine (Baltimore).* **60,** 288-297.

Sharp ,J.T., Strand ,V. and Leung, H. (2000).Treatment with leflunomide slows radiographic progression of rheumatoid arthritis: results for three randomized controlled trials of leflunomide in patients with active rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheum.* **43**, 495-505.

Sivakumar, T., Kanagasabai, R., Sampath kumar, R., Perumal, P., Sivakumar, P., Gupta, M., Mazumder, U. K.(2004). Evaluation of Anti-inflammatory activity and toxicity related

studies of *Chloroxylon sweitenia* in standard animal models**.** 11th NAPRECA Symposium Book of Proceedings, Antananarivo, Madagascar. 201-213

Skapenko, A., Leipe, J., Lipsky, P.E. and Schulze-Koops, H. (2005). The role of the T cell in autoimmune inflammation. *Arthritis Research and Therapy*. **7**, 4-14

Strand, V., Cohen, S. and Schiff, M. (1999).Treatment of active rheumatoid arthritis with leflunomide compared with placebo and methotrexate. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arch Intern Med* .**159**, 2542-2550.

Suzuki, T., Chowc, C.W. and Downey, G .P.(2008). Role of innate immune cells and their products in lung immunopathology. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* .**40**, 1348–1361.

Tolboom ,T.C., et al.(2002). Invasive properties of fibroblast-like synoviocytes: correlation with growth characteristics and expression of MMP-1, MMP-3, and MMP-10. *Ann Rheum Dis*. **61**(11), 975-980.

Tuomi, T., Heliovaara, M., Palosuo, T. and Aho, K. (1990). lung function, and rheumatoid factors. *Ann Rheum. Dis*. **49**, 753-756.

Vaillancourt, G. (1990). Arthrites et rhumatisme. *Les Presse de l'Université de Montréal*. 27-43.

Van den Berg, W. B. (2004). Animal Models. *In:* William E. C., David, P. S., Barton, H. F. Rheumatoid Arthritis. Edi Front of Book . 255- 267.

Van Zeben, D., Hazes, J.M., Zwinderman, A.H., et al.(1991) Association of HLA-DR4 with a more progressive disease course in patients with rheumatoid arthritis. Results of a followup study. *Arthritis and Rheum* . **34**, 822-830.

Voulgari, P.V., Kolios, G., Papadopoulos, G.K., Katsaraki, A., Seferiadis, K. and Drosos ,A.A. (1999). Role of Cytokines in the Pathogenesis of Anemia of Chronic Disease in Rheumatoid Arthritis. *Clinical Immunology.* **92** , 153–160

Wallberg-Jonsson, S., Ohman ,M.L. and Rantapaa-Dahlqvist, S.(2001). The epidemiologyof vascular disease in rheumatoid arthritis [letter].*Ann Rheum Dis* . **60,** 8.

Watanabe ,Y. and Jacob, C.O.(1991) .Regulation of MHC class II antigen expression. Opposing effects of tumor necrosis factor-alpha on IFN-gamma-induced HLA-DR and Ia expression depends on the maturation and differentiation stage of the cell. *J. Immunol* . **146**, 899-905.

Weyand, C.M., and Goronzy, J.J.(2000) .Pathogenic principles in giant cell arteritis. *Int J. Cardiol* . **75** (1**)**, 9-15.

Weyand,CM.(2000).New Insights into the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology* .**39** (1), 8.

Winter, G. and Milstein, C.(1991), Man-made antibodies. *Nature*. **349**, 293-399**.**

Ziff, M.(1990). The rheumatoid nodule. *Arthritis and Rheum* .**33**, 761-767.

Ziswiler, H. R. and villager, P. M.(2001). arthrite rhumatoïde:therapie medicamenteuse . *forum Med Suisse* . **8**, 21.

الملخص

دراسة تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة الشندكورة *Ajuga iva* على التهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين نمط II عند الجرذان

التهاب المفاصل الرثوي عبارة عن مرض مناعي ذاتي يصيب المفاصل. وقد ساهمت النماذج الحيوانية لهذا المرض في فهم أسبابه وفيزيولوجيته بالإضافة إلى البحث عن أدوية جديدة. التهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين نمط II هو الأكثر تمثيلا للمرض البشري من بين هذه النماذج، وهذا اعتمادا على المعايير المعتمدة من طرف الجمعية الأمريكية لعلم الروماتيزم (ARA) في تشخيص التهاب المفاصل.التهاب المفاصل المحث عند الجرذ بواسطة الكولاجين نمط 2 هو مرض يمتد 60 يوما ويتميز بـــ: أولا الإصابة المتوازية لمفاصل الأطراف السفلية أين يعطي الانتفاخ للطرف 38٪ من حجمه الأصلي عند الحد الأقصى للمرض (اليوم 21)، ثانيا فقدان ما يقارب 2.75٪ من وزن المجموعة المريضة، ثالثا تسلل كثيف لخلايا الدم البيضاء إلى الغشاء الزلالي مما يؤدي إلى تدمير الغضروف والعظم و إلى تشويه المفصل.

تعتبر *Ajuga iva* من بين النباتات الطبية التي تستعمل في الطب الشعبي في علاج الأمراض الروماتيزمية. و لإثبات التأثير المضاد لهذه النبتة على الإلتهاب وخاصة الإلتهاب المفصلي قمنا بدراسة تأثير المستخلص الميثانولي لـــ *Ajuga iva* على إلتهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين II عند الجرذان، حيث يتم علاج الجرذان المصابة بالإلتهاب المفصلي يوميا بثلاثة جرعات مختلفة من المستخلص الميثانولي (10 و20 و40مغ/كغ) عن طريق المسلك الشفوي لمدة 21 يوم.

دلت النتائج المتحصل عليها من خلال هذه الدراسة على التأثير المضاد للالتهاب لمختلف الجرعات. الجرعة 10 مغ/كغ تمكنت من تثبيط الالتهاب بنسبة 5.56 ٪ بينما قدرت النسبة بـــ 9.5 ٪ بالنسبة للجرعة 20 مغ/كغ أما الجرعة الثالثة والمقدرة بـــ 40 مغ/كغ فكان تأثيرها على تثبيط الالتهاب بنسبة 17.15 ٪. من خلال هذه النتائج يتبين أن للشندكورة اثر مضاد للالتهاب وربما لو كانت الجرعات المستعملة أكبر لكانت النتائج أفضل. يمكن في المستقبل أن نكشف عن العناصر النشطة المكونة لهذا النبات والتي تملك الأثر المضاد للالتهاب حيث نتمكن من عزلها واختبار فعاليتها على هذا النوع من المرض المحرض عند الحيوانات من أجل إمكانية إيجاد علاج أمثل لهذا المرض.

RESUME

Etude de l'effet de l'extrait méthanolique de la plante *Ajuga iva* sur l'arthrite induite par le collagène type II chez les rats.

L'arthrite rhumatoïde (AR) est une maladie auto-immune touchant les articulations.
Les modèles animaux de cette maladie ont participé à la compréhension de son étiologie et physiopathologie ainsi qu'à la recherche de nouveaux traitements. L'arthrite induite chez le rat par le collagène type II est l'un de ces modèles les plus représentatifs de la maladie humaine du fait qu'il remplit la majorité des critères fixés par l'association américaine de rhumatologie pour le diagnostic de l'arthrite rhumatoïde.
L'arthrite induite dans notre travail, par le collagène type II chez le rat est une maladie qui s'est étalée sur 60 jours et qui se caractérise par : (1) une atteinte symétrique des % de son volume 38articulation des pattes postérieures où le gonflement donne à la patte initial au pic de la maladie (21ème jour) ; (2) perte du poids du groupe malade avoisinant 2.75% ; (3) une intense infiltration leucocytaire de la membrane synoviale et la moelle osseuse ce qui conduit à la destruction du cartilage et de l'os et à la déformation de l'articulation.
Ajuga iva, est l'une des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des maladies rhumatismales. Pour démontrer l'effet anti-inflammatoire de cette plante sur l'arthrite, nous avons étudié l'effet de l'extrait méthanolique de *Ajuga iva* sur l'arthrite induite par le collagène II chez le rat. L'extrait est administré chaque jour aux rats infectés par l'arthrite. Trois doses différentes de l'extrait méthanolique sont utilisées (10, 20 et 40 mg/kg) par voie orale pendant 21 jours.
Les résultas obtenus dans cette étude montrent l'effet anti-inflammatoire des différentes doses. La dose 10mg/kg inhibe l'inflammation à un taux de 5.56% tandis que le pourcentage d'inhibition a été évalué à 9.5% pour la dose de 20mg/kg. Cependant la troisième dose (40 mg/kg) inhibe l'inflammation de 17.15%. A partir de ces résultats, nous constatons que la plante que nous avons étudié possède un pouvoir anti-inflammatoire. L'utilisation de dose un peu plus élevée peut améliorer les résultats. Comme perspective, il serait souhaitable de déterminer les composés responsables de cette activité anti-inflammatoire de la plante et de tester l'activité de ces composés sur ce type de maladie pour des buts thérapeutiques.

ABSTRACT

Study of the methanolic extract effect of *Ajuga iva* in arthritis induced by collagen type II in rats

Rheumatoid arthritis (RA) is an auto-immune disease implicating joints. Animal models of this disease have participated to the understanding of its etiology and physiopathology as well as to search of new treatments. Collagen type II induced arthritis in rats is the most representative of the human disease because it fulfills the majority of the criteria fixed by the American Rheumatology Association (ARA) for rheumatoid arthritis diagnosis. Collagen type II arthritis was induced in rat during 60 days, and was characterized % of the 38by: (1) symmetric joints involvement of the hind paws where the swelling reached initial volume at the top of the disease (day 21), (2) lose of 2.75 % of body weight, (3) intense leukocytes infiltration of the synovial membrane and bone marrow which lead to cartilage and bone destruction and joint deformation. *Ajuga iva*, is medicinal plants used in traditional medicine for treating rheumatic diseases. The effect of the methanolic extract of *Ajuga iva* on arthritis induced by collagen II in rats was studied. The extract was daily administered to rats 0 mg / kg) were given 40 and 2, 10with arthritis. Three different doses of methanolic extract (during 21 days after the apparence of the first signs of the disease. Results showed anti-inflammatory effect of the different doses. Inhibition of the swelling of the paws of 5.56 %, 9.5 % and 17.15 % were obtained with 10 mg/kg, 20mg/kg and 40 mg/kg, respectively. From these results, we concluded that the methanolic extract has some anti-inflammatory power. The use of higher dose could give better results. Our perspective is to determine the responsible composant to this anti-inflammatory activity from this plant and to test activity of this composant in arthritis disease for therapeutic aim.

اللقب :بودن الاسم :إسماعيل	تاريخ المناقشة :15/10/2009

العنوان :دراسة تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة الشندكورة (*Ajuga iva*) على التهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين نمط II عند الجرذان

الموضوع: مذكرة ماجستير في البيولوجيا الخلوية والجزيئية

الملخص

التهاب المفاصل الرثوي عبارة عن مرض مناعي ذاتي يصيب المفاصل. وقد ساهمت النماذج الحيوانية لهذا المرض في فهم أسبابه وفيزيولوجيته بالإضافة إلى البحث عن أدوية جديدة. التهاب المفاصل المحث أوالمحرض بواسطة الكولاجين نمط II هو الأكثر تمثيلا للمرض البشري من بين هذه النماذج، هذا راجع لتواجد المعايير المعتمدة من طرف الجمعية الأمريكية لعلم الروماتيزم في تشخيص التهاب المفاصل.

التهاب المفاصل المحث عند الجرذ بواسطة الكولاجين نمط II هو مرض يمتد 60 يوما ويتميز بـــ: أولا الإصابة المتوازية لمفاصل الأطراف السفلية أين يعطي الانتفاخ للطرف 38 ٪ من حجمه الأصلي عند الحد الأقصى للمرض (يوم 21)، ثانيا فقدان ما يقارب 2.75 ٪ من وزن المجموعة المريضة، ثالثا تسلل كثيف لخلايا الدم البيضاء إلى الغشاء الزلالي و نخاع العظم مما يؤدي إلى تدمير الغضروف و العظم و إلى تشويه المفصل. تعتبر ***Ajuga iva*** من النباتات الطبية التي تستعمل في الطب الشعبي في علاج الأمراض الروماتيزمية. و لإثبات التأثير المضاد لهذه النبتة على الإلتهاب وخاصة الإلتهاب المفصلي قمنا بدراسة تأثير المستخلص الميثانولي للـــ **A.I** على إلتهاب المفاصل المحرض بواسطة الكولاجين II عند الجرذان، حيث يتم علاج الجرذان المصابة بالإلتهاب المفصلي يوما بثلاثة جرعات مختلفة من المستخلص الميثانولي (10و20 و40مغ/كغ) عن طريق المسلك الشفوي لمدة 21 يوم.

دلت النتائج المتحصل عليها من خلال هذه الدراسة على التأثير المعنوي لمختلف الجرعات. الجرعة 10 مغ/كغ تمكنت من تثبيط الالتهاب بنسبة 5.56 ٪ بينما قدرت بـــ 9.5٪ بالنسبة للجرعة 20 مغ/كغ أما الجرعة الثالثة والمقدرة بـــ 40 مغ/كغ فكان تأثيرها على تثبيط الالتهاب بنسبة 17.15 ٪ . من خلال هذه النتائج يتبين أن للشندكورة اثر مضاد للالتهاب وربما لو كانت الجرعات المستعملة اكبر من هذه لكانت النتائج أفضل. في المستقبل يمكن أن نكشف عن العناصر النشطة المكونة لهذا النبات والتي تملك الأثر المضاد للالتهاب حيث نتمكن من عزلها واختبار فعاليتها على هذا النوع من المرض المحرض عند الحيوانات من اجل إمكانية إيجاد العلاج الأمثل لهذا المرض أو من خلال دراسة السمية العلاجية لها .

الكلمات المفتاحية :

التهاب المفاصل الرثوي، التهاب المفصل المحرض بالكولاجين نمطII، النماذج الحيوانية للالتهاب المفاصل، السيتوكينات الالتهابية, **Ajuga iva**

أمام اللجنة :

د.عبيدلي نصيرة	أستاذة محاضرة	رئيسا	جامعة منتوري قسنطينة
أ.د.عرعارلخميسي	أستاذ التعليم العالي	مقررا	جامعة فرحات عباس سطيف
د.بغياني عبد الرحمان	أستاذ محاضر	ممتحنا	جامعة فرحات عباس سطيف
د.خليفي توهامي فاطمة	أستاذة محاضرة	ممتحنا	جامعة منتوري قسنطينة