



قسم البيوكيمياء

N°...../SNV/2020

أطروحة

مقدمة من طرف

ناصر عمراوي

للحصول على شهادة

دكتوراه علوم

فرع: بيولوجيا

تخصص: بيوكيمياء

الموضوع

تأثير مستخلص الكرمه السوداء المضاد للأكسدة والالتهاب والتهاب المفاصل المحرض

نوقشت بتاريخ .. / .. / 2020

أمام لجنة المناقشة

الرئيس	الصيديق خنوف	أستاذ جامعة فرحات عباس سطيف 1
المشرف	لخميسي عرعار	أستاذ جامعة فرحات عباس سطيف 1
المتحنون	يوسف نسيب	أستاذ جامعة منتوري قسنطينة 1
	جميلة زعمة	أستاذة جامعة منتوري قسنطينة 1
	نور الدين شارف	أستاذ جامعة فرحات عباس سطيف 1
	أسماء مصباح	أستاذة محاضرة أ جامعة منتوري قسنطينة 1

مخبر البيوكيمياء التطبيقية

# إهداء

إلى كل من علمني حرفا في هذه الدنيا

إلى كل من كان دعاؤهم سراجا ينير لي الطريق

إلى أمي وأبي أطال الله في عمرهما

إلى من قاسموني الحياة بجلوها ومرها

إلى أشقائي وشقيقاتي

أهدي هذا العمل.

## تشكرات

أحمد الله سبحانه جل شأنه وأشكره جزيل الشكر على جميع نعمه وعلى توفيقه لي في إنجاز هذا البحث. وما توفيقني إلا بالله وأدعوه أن يزيدني علما.

إلى أستاذي الفاضل "الأستاذ خميسي عرعار" أهدي كامل شكري وعرفاني وتقديري لإشرافه على هذا البحث وعلى توجيهاته ومساعدته ونصائحه خلال مراحل إنجاز هذا البحث.

أتقدم بجزيل الشكر إلى أعضاء لجنة المناقشة: "الأستاذ الصديق خنوف" أستاذ بجامعة سطيف 1 على قبوله ترأس لجنة المناقشة و"الأستاذ يوسف نسيب" أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة 1 و"الأستاذة جميلة زعمة" بجامعة منتوري قسنطينة 1 و"الأستاذة أسماء مصباح" بجامعة منتوري قسنطينة 1 و"الأستاذ نورالدين شارف" أستاذ بجامعة سطيف 1 على قبولهم أن يكونوا أعضاء في لجنة المناقشة.

أتقدم بكل معاني الشكر إلى "الأستاذ عبد الرحمن بغياني" على مساعدته ودعمه خلال مراحل إنجاز هذا البحث.

أتقدم بكل معاني الشكر إلى سناء عواشرية وعبد الرحيم بن سلامة وإنتصار سراي وكاتيا عبد الوهاب وسوسن قادة ودليلة مسعودي وهشام مزيتي ووليد معماش وثرثيا قماز وزين الدين بوتفاحة ومنير بوسنة وعمر بن الشيخ على مساعدتهم ومساندتهم لي طوال فترة إنجاز هذا البحث.

إلى كل الذين تسعهم ذاكرتي ولم تسعهم مذكرتي، إلى كل من ساهم من قريب أو من بعيد في إنجاز هذا البحث.

## ملخص

تستخدم نبتة الكرمة السوداء (*Tamus communis* L.) في الطب التقليدي من أجل التخفيف من الآلام الالتهابية وعلاج الروماتيزم. تهدف هذه الدراسة إلى تقدير النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب وبالخصوص التهاب المفاصل للمستخلص الميثانولي لهذه النبتة. بينت نتائج التقدير الكمي أن المستخلص الميثانولي يحتوي على كمية من عديدات الفينول، الفلافونيدات والدباغ قدرت بـ  $55.2 \pm 0.036$  مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف للمستخلص،  $1.191 \pm 0.002$  مغ مكافئ للكرستين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و  $173.37 \pm 2.65$  مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص على الترتيب. تم تقدير النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار إزاحة الجذور الحرة DPPH بالإضافة إلى اختبار تثبيط فوق أكسدة الليبيدات باستعمال اختبار بيتا-كاروتين /حمض اللينولييك. بينت النتائج أن المستخلص الميثانولي لنبتة الكرمة السوداء يملك قدرة إزاحية معتبرة حيث قدرت  $IC_{50}$  بـ  $0.011 \pm 0.128$  مغ/مل، كما يملك قدرة مرتفعة على تثبيط فوق أكسدة الليبيدات حيث قدرت نسبة التثبيط بـ  $88.13 \pm 4.03\%$ . قدرت النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا عن طريق اختبار تثبيط تخريب بروتينات الألبومين المصلية وألبومين البيض حيث بينت النتائج أن مستخلص النبتة يملك نسب تثبيط معتبرة. من أجل الدراسة على الكائن الحي تم اختيار ثلاث جرعات (150، 300 و 600 مغ/كغ) من مستخلص النبتة لكون المستخلص لم يظهر أي تأثير سمي على الحيوانات المختبرة. دلت النتائج على أن مستخلص هذه النبتة لا يملك تأثيرا مضادا للالتهاب في نموذجي وذمة الأذن المحفزة بالكزيران ووذمة الأذن المحفزة بزيت Croton، كما أن معالجة الجردان بمختلف جرعات مستخلص الكرمة السوداء لم تظهر أي تأثير مضاد للالتهاب في نموذج وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan. أما في نموذج وذمة القدم المحرصة بالدكستران فأدت معالجة الجردان بالجرعات 300 و 600 مغ/كغ إلى انخفاض معنوي في سمك الوذمة في الساعة الثالثة، في حين لم تظهر المجموعة المعالجة بالجرعة 150 مغ/كغ أي تأثير معنوي. سمحت معالجة الجردان بالجرعة 150 مغ/كغ في نموذج التهاب المفاصل المحفز بالفورمالين بانخفاض سمك الوذمة في اليومين الثاني والرابع من الدراسة، في حين لم يسجل أي انخفاض في المجموعتين المعالجتين بالجرعات 300 و 600 مغ/كغ. أما بالنسبة لنموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل فان معالجة الجردان بمختلف جرعات المستخلص الميثانولي للكرمة السوداء لم تظهر أي تأثير يذكر على مختلف المعايير التي اختيرت من أجل تقدير تأثير مستخلص النبتة. وأخيرا تم تقدير النشاطية المسكنة للألم بدراسة نموذج الآلام المحفزة بحمض الخل فأظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي لهذه النبتة لا يملك أي تأثير مسكن للألم في هذا النموذج. من خلال النتائج المتحصل عليها فان هذه الدراسة لا تدعم بشكل كبير استعمال هذه النبتة في الطب التقليدي لعلاج الالتهابات وخاصة المفصلية منها.

**الكلمات الدالة:** *Tamus communis*، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية المضادة للالتهاب، التهاب المفاصل المحرض،

النشاط المسكن للألم.

## Abstract

*Tamus communis* L. called *El-Karma Saouda*, is used in traditional medicine to reduce inflammatory pain and to treat rheumatism. The aim of this study is to evaluate the antioxidant, antiinflammatory, and antiarthritic activities of methanolic extract. The results of the quantitative evaluation showed that the methanol extract contains amounts of polyphenols, flavonoids and tannins of  $55.2 \pm 0.036$  mg gallic acid equivalent /g of extract,  $1.191 \pm 0.002$  mg quercetin equivalent /g of extract and  $173.37 \pm 2.65$  mg Tannic acid equivalent/g of extract, respectively. The DPPH and beta-carotene/linoleic acid tests were used to evaluate the antioxidant activity *in vitro*. Results demonstrated that *T. communis* had a very important scavenging activity ( $IC_{50} = 0.128 \pm 0.011$  mg/mL) and showed a great activity for inhibition of lipide peroxidation ( $88.13 \pm 4.03\%$ ). The antiinflammatory activity of methanolic extract was evaluated *in vitro* by bovine serum albumin and egg albumin denaturation methods. Results revealed that the methanolic extract had acceptable inhibition of protein denaturation. Three doses (150, 300 and 600 mg/kg body weight) were selected for *in vivo* studies after being sure of the non toxicity of the extract at these doses. The results showed that the methanolic extract of *T. communis* has no antiinflammatory effect in xylene-induced ear edema and croton oil-induced edema models. Equally, in carrageenan-induced paw edema, all doses of *T. communis* did not show any significant inhibition of edema. However, treatment with 300 and 600 mg/kg of extract decreased paw edema in the third hour in Dextran model. In contrast, formaldehyde-induced paw edema decreased at the dose of 150 mg/kg days 2 and 4. However, doses of 300 and 600 mg/kg did not show any activity. In adjuvant-induced arthritis, all used doses did not show changes in chosen parameters to evaluate antiarthritic activity. Finally, the results acetic acid-induced writhing showed that all doses of methanolic extract of *T. communis* did not have any analgesic effects in this model. Unfortunately, these results did not support the use of *Tamus communis* in folk medicine in the treatment of inflammation and arthritis.

**Key words :** *Tamus communis*, Antioxidant activity, antiinflammatory activity, rheumatoid arthritis, analgesic effect.

## Résumé

*Tamus communis* L. connu par *El-Karma Saouda*, est utilisée traditionnellement pour réduire les douleurs inflammatoires et traiter le rhumatisme. L'objectif de la présente étude est d'estimer l'activité antioxydante, antiinflammatoire et antiarthritique de l'extrait méthanolique de *T. communis*. Les résultats de l'évaluation quantitative ont montré que l'extrait méthanolique contient une teneur en polyphénols, flavonoïdes et en tanins de  $55.2 \pm 0.036$  mg d'équivalent acide gallique/g de l'extrait,  $1.191 \pm 0.002$  mg d'équivalent quercetin/g de l'extrait et  $173.37 \pm 2.65$  mg d'équivalent acide tannique /g de l'extrait, respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* par l'utilisation des tests de DPPH et de beta-carotène/acide linoléique. Les résultats ont révélé que *T. communis* présente une activité de piégeage très importante ( $IC_{50}$  de  $0,128 \pm 0,011$  mg/mL) et possède une grande activité d'inhibition de la peroxydation lipidique ( $88.13 \pm 4.03\%$ ). L'activité antiinflammatoire a été évaluée *in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine et de l'albumine du blanc d'œuf. Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique possède des capacités acceptables d'inhibition de la dénaturation des protéines. D'autre part, trois doses de *T. communis* (150, 300 and 600 mg/kg de poids corporel) ont été choisies pour les études *in vivo* après qu'un test de toxicité montrant la non toxicité de l'extrait. Les résultats obtenus ont démontré que l'extrait méthanolique ne présente aucun effet anti-inflammatoire dans les modèles de l'œdème de l'oreille induit par le xylène et celui induit par l'huile de croton. Dans les modèles de l'œdème de la patte induit chez le rat par la Carragénine, aucune inhibition remarquable de l'œdème n'a été montrée pour toutes les doses de *T. communis*. Cependant, le traitement par 300 et 600 mg/kg de l'extrait méthanolique a significativement diminué l'épaisseur de l'œdème à la troisième heure dans le modèle de Dextran. L'administration par voie orale de 150 mg/kg de l'extrait, montre une diminution de l'œdème de la patte dans les 2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> jours dans le modèle de l'arthrite induite par le formaldéhyde. Cependant, les doses 300 et 600 mg / kg n'ont montré aucune activité. Dans l'arthrite induite par l'adjuvant complet de Freund, toutes les doses utilisées n'ont pas montré de changement dans les paramètres choisis pour l'évaluation de l'activité antiarthritique. Enfin, dans le modèle de contorsions induit par l'acide acétique, les résultats ont montré que toutes les doses de l'extrait méthanolique de *T. communis* ne démontrent aucun effet analgésique. Ces résultats ne supportent pas l'utilisation de *T. communis* en médecine traditionnelle dans le traitement de l'inflammation et de l'arthrite.

**Mots clés :** *Tamus communis*, Activité antioxydante, activité antiinflammatoire, arthrite induite, effet analgésique.

## قائمة الأشكال

- الشكل 1: خطوات الاستجابة الالتهابية ..... 5
- الشكل 2: نشاطية الصفائح الدموية خلال المرحلة الوعائية ..... 6
- الشكل 3: هجرة وانسلاخ الخلايا البيضاء عبر بطانة الأوعية الدموية ..... 10
- الشكل 4: آلية تنشيط مسلك Kinines ..... 16
- الشكل 5: مقارنة بين مفصل طبيعي ومفصل مصاب بالتهاب المفاصل الرثوي ..... 29
- الشكل 6: عملية تحويل الحمض الأميني الأرجينين إلى citrulline ..... 36
- الشكل 7: فيزيولوجيا مرض RA ..... 38
- الشكل 8: آلية تأثير DMARDs خلال مرض RA ..... 43
- الشكل 9: نبتة *Tamus communis* L.؛ أ - الأزهار؛ ب- الأوراق؛ ج- الثمار؛ د- الجذور ..... 47
- الشكل 10: منحى العيارية لحمض الغاليك المستعمل لتقدير عديدات الفينول الكلية في المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* ..... 53
- الشكل 11: منحى العيارية للكرستين المستعمل لتقدير الفلافونويدات في المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* ..... 54
- الشكل 12: منحى العيارية لحمض التانيك لتقدير كمية الدباغ الكلية في المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* ..... 55
- الشكل 13: نسب تثبيط جذور DPPH بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* وBHT ..... 71
- الشكل 14: تثبيط أكسدة  $\beta$ -carotene/linoleic acid بواسطة المستخلص الميثانولي لنبتة الكرمة السوداء ..... 72
- الشكل 15: نسبة تثبيط أكسدة  $\beta$ -carotene بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* عند 24 ساعة باستعمال طريقة  $\beta$ -carotene/linoleic acid ..... 73
- الشكل 16: مقارنة نسب تثبيط تخريب بروتينات BSA بواسطة المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* وDiclofenac ..... 76
- الشكل 17: نسب تثبيط تخريب ألبومين البيض: أ- بواسطة المستخلص الميثانولي لـ *T. communis*؛ ب- بواسطة Diclofenac ..... 77
- الشكل 18: شكل يوضح: أ- تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* على وذمة الأذن المحرصة بالكزيلان عند الفئران. ب - نسب التثبيط ..... 80

- الشكل 19:** أ- تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على وذمة الأذن المحرضة بزيت croton عند الفئران، ب- نسب التثبيط.....82
- شكل 20:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan عند الجرذان.....85
- الشكل 21:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على وذمة القدم المحفزة بالدكستران عند الجرذان.....87
- الشكل 22:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على وذمة القدم المحفزة بالفورمالين عند الجرذان.....89
- الشكل 23:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على وزن الجرذان في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل.....91
- الشكل 24:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على سمك وذمة القدم في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل.....92
- الشكل 25:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على Arthritic score في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل.....93
- الشكل 26:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على مؤشر الطحال في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل.....95
- الشكل 27:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على مؤشر الكبد في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل.....96
- الشكل 28:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء في نموذج التهاب المفاصل المحفز بالمساعد.....97
- الشكل 29:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis*؛ أ- على عدد الالتواءات في نموذج الألام المحفزة بحمض الخل، ب- نسب التثبيط.....100

## قائمة الجداول

- الجدول 1: تسلسل أهم الظواهر التي تحدث خلال الالتهاب الحاد وأهم العوامل المحفزة لها .....12
- الجدول 2: معايير تصنيف RA التي وضعت من قبل ACR وEULAR سنة 2010 .....34
- الجدول 3: الأدوية الحديثة المستعملة في علاج RA .....41

## قائمة المختصرات

- ACPAs: Anticitrullinated protein antibodies
- ACR: American College of Rheumatology
- ADP: Adenosine diphosphate
- AIA: Adjuvant-induced arthritis
- APC: Antigen Presenting Cells
- ARA: American Rheumatism Association
- CFA: Complete Freund's Adjuvant
- CRP: C-reactive protein
- DMARD: Disease-modifying antirheumatic drug
- ELAM-1: Endothelial leukocyte adhesion molecule-1
- EBV: Epstein–Barr virus
- ESR: erythrocyte sedimentation rate
- EULAR: European League Against Rheumatism
- GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
- GPx: Glutathion peroxydase
- GSH: Glutathion
- HLA: Human leukocyte antigen
- ICAM-1: Intercellular adhesion molecule-1
- IFN: Interferon
- IL: Interleukin
- IP-10: Interferon-gamma-inducible Protein-10
- JAK: Janus kinase
- MCP-1: Monocyte Chemotactic Protein-1
- MHC: Major histocompatibility complex
- MMPs: Matrix metalloproteinases

NF- $\kappa$ B: The nuclear factor kappa-beta

NSAIDs: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs

PADs: Peptidylarginine deiminase enzymes

PAF: Platelet activating factor

PDGF: Platelet-Derived Growth Factor

PMA: phorbol-12-myristate-13-acetate

PKC: protein kinase C

PLA2: Phospholipase A2

RA: Rheumatoid arthritis

RANKL: Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand

RFs: Rheumatoid factors

TNF: Tumor necrosis factor

TPA: 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate

VCAM-1: Vascular cell Adhesion molecule-1

# الفهرس

تشكرات

الملخص بالعربية

الملخص بالانجليزية

الملخص بالفرنسية

قائمة الأشكال

قائمة الجداول

قائمة المختصرات

1	مقدمة
4	1. الالتهاب
4	1.1. العوامل المسببة للالتهاب
5	2.1. أنواع الالتهاب
6	1.2.1. الالتهاب الحاد
6	أ- المرحلة الوعائية
8	ب- المرحلة الخلوية
10	ج- مرحلة الالتئام (الترميم)
11	2.2.1. الالتهاب المزمن
14	3.1. الوسائط الالتهابية
14	1.3.1. أمينات الأوعية الدموية
15	2.3.1. بيببتيدات الأوعية الدموية
16	3.3.1. قطع المتممة C3a، C4a و C5a
17	4.3.1. الوسائط الدهنية (eicosanoids و PAF)
18	5.3.1. السيتوكينات
18	أ - السيتوكينات المحفزة للالتهاب
19	ب- السيتوكينات المضادة للالتهاب
20	6.3.1. Chemokines
21	4.1. الخلايا المتدخلة في الاستجابة الالتهابية
21	1.4.1. الخلايا المتعادلة متعددة النواة
22	2.4.1. الخلايا وحيدة النواة
22	3.4.1. خلايا الماستوسيت
23	4.4.1. الخلايا القاعدية
23	5.4.1. الخلايا متعددة النواة المحبة للحموضة
23	6.4.1. الخلايا اللمفاوية
24	7.4.1. الصفائح الدموية

25.....	2. الإجهاد التأكسدي.....
25.....	1.2. أنواع الجذور الحرة.....
25.....	1.1.2. الأنواع الأوكسجينية النشطة.....
25.....	أ- جذر فوق الأوكسيد ( $O_2^{\bullet-}$ ).....
26.....	ب- بيروكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ ).....
27.....	ج- جذر الهيدروكسيل ( $OH^{\bullet}$ ).....
27.....	2.1.2. الأنواع النتروجينية النشطة.....
28.....	3. التهاب المفاصل الرثوي.....
28.....	1.3. انتشار التهاب المفاصل الرثوي.....
29.....	2.3. أسباب التهاب المفاصل الرثوي.....
29.....	1.2.3. العوامل الوراثية.....
30.....	2.2.3. العوامل البيئية.....
31.....	أ- عامل الجنس.....
31.....	ب- التدخين.....
32.....	ج- العوامل المعدية.....
33.....	3.3. تشخيص التهاب المفاصل الرثوي.....
33.....	1.3.3. التحاليل المخبرية.....
35.....	أ- العوامل الرثوية (RFs).....
35.....	ب- الأجسام المضادة الموجهة ضد بروتين citrullinated (ACPAs).....
37.....	4.3. الفيزيولوجيا المرضية لالتهاب المفاصل الرثوي.....
39.....	5.3. علاج التهاب المفاصل الرثوي.....
42.....	1.5.3. آلية تأثير DMARDs.....
44.....	2.5.3. النباتات الطبية المستعملة في علاج RA.....
45.....	4. <i>Tamus communis L.</i> .....
45.....	1.4. التصنيف.....
45.....	2.4. الاسم الشائع.....
46.....	3.4. وصف النبتة.....
48.....	4.4. الانتشار الجيوغرافي.....
48.....	5.4. الاستعمال في الطب التقليدي.....
49.....	6.4. التركيب الكيميائي.....
49.....	7.4. السمية.....
50.....	8.4. النشاطية البيولوجية.....

### المواد والطرق

51.....	1. النبتة.....
51.....	2. الحيوانات.....
51.....	3. الطرق.....

51.....	1.3. الاستخلاص
52.....	2.3. تقدير عديدات الفينول الكلية
53.....	3.3. تقدير كمية الفلافونويدات
54.....	4.3. تقدير كمية الدباغ الكلية
55.....	5.3. النشاطية المضادة للأكسدة
55.....	1.5.3. التأثير الإزاحي باستعمال اختبار DPPH
56.....	2.5.3. اختبار $\beta$ -carotene/linoleic acid
57.....	6.3. النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا
57.....	1.6.3. تثبيط تخريب بروتينات الألبومين المصلية
58.....	2.6.3. تثبيط تخريب بروتينات ألبومين البيض
58.....	7.3. اختبار سمية المستخلص الميثانولي
59.....	8.3. النشاطية المضادة للالتهاب عند الكائن الحي
59.....	1.8.3. تحفيز وذمة الأذن بواسطة الكزيلان
60.....	2.8.3. تحفيز وذمة الأذن بزيت Croton
61.....	3.8.3. تحفيز وذمة القدم بـ Carrageenan
62.....	4.8.3. تحفيز وذمة القدم بالدكستران
62.....	9.3. النشاطية المضادة للالتهاب المفاصل
62.....	1.9.3. التهاب المفاصل المحفز بالفورمالين
63.....	2.9.3. التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل
64.....	أ- قياس سمك القدم
64.....	ب- Arthritic score
65.....	ج- مؤشر الكبد والطحال
65.....	د- معدل ترسيب كريات الدم الحمراء
65.....	10.3. اختبار الألام المحفزة بحمض الخل
66.....	11.3. التحليل الإحصائي

### النتائج والمناقشة

67.....	1. عديدات الفينول والفلافونويدات والدباغ
70.....	2. النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا
70.....	1.2. التأثير الإزاحي لجزر DPPH
72.....	2.2. نتائج اختبار تبييض $\beta$ -carotene/linoleic acid
75.....	3. النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا
75.....	1.3. تثبيط تخريب ألبومين المصل
76.....	2.3. تثبيط تخريب ألبومين البيض
78.....	4. سمية المستخلص الميثانولي
79.....	5. النشاطية المضادة للالتهاب على الكائن الحي

79.....	1.5. التأثير على وذمة الأذن المحرصة بالكزبان
81.....	2.5. التأثير على وذمة الأذن المحرصة بزيت Croton
83.....	3.5. التأثير على تحفيز وذمة القدم بـ Carrageenan
85.....	4.5. التأثير على وذمة القدم المحرصة بالدكسران
88.....	6. النشاطية المضادة للالتهاب المفاصل
88.....	1.6. التهاب المفاصل المحرض بالفورمالين
89.....	2.6. التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل
90.....	1.2.6. تأثير <i>T. communis</i> على وزن الجسم
91.....	2.2.6. تأثير <i>T. communis</i> على سمك القدم
92.....	3.2.6. تأثير <i>T. communis</i> على Arthritic score
94.....	4.2.6. تأثير <i>T. communis</i> على مؤشر الكبد والطحال
96.....	5.2.6. تأثير <i>T. communis</i> على معدل ترسب كريات الدم الحمراء
99.....	7. تأثير <i>T. communis</i> على الألام المحفزة بحمض الخل
101.....	المناقشة العامة
111.....	قائمة المراجع

## مقدمة

الجذور الحرة عبارة عن جزيئات غير مستقرة تنتج من طرف الكائنات الحية خلال عملية الأيض الطبيعية (Gupta وآخرون، 2014). يملك جسم الإنسان نظام دفاع معقد من مضادات أكسدة طبيعية إنزيمية وغير إنزيمية تبطل مفعول هذه الجذور الحرة ومؤكسدات أخرى (Alam وآخرون، 2013). يؤدي فقدان التوازن بين المؤكسدات ومضادات الأكسدة إلى ظهور ما يعرف "بالإجهاد التأكسدي" الذي يعتبر السبب الرئيسي في ظهور العديد من الأمراض مثل السرطان والسكري والتهاب المفاصل الرثوي والاضطرابات العصبية وارتفاع الضغط الدموي وتصلب الشرايين والأمراض الالتهابية المزمنة ... (Elisha وآخرون، 2016).

الالتهاب عبارة عن آلية حماية للعضوية، يتم من خلاله الدفاع ضد العديد من العوامل المعدية وإصلاح النسيج المصاب. يتميز التفاعل الالتهابي بأربع علامات رئيسية الحرارة والألم والاحمرار والانتفاخ (الوذمة أو التورم). في بعض الحالات يمكن أن تستمر الاستجابة الالتهابية لفترة طويلة مما يؤدي إلى ظهور العديد من الأمراض، حيث يرتبط الالتهاب المزمن بالأمراض الوعائية القلبية، كما أنه يمكن أن يؤدي إلى اضطرابات في المناعة الذاتية وظهور بعض الأمراض مثل التهاب المفاصل الرثوي.

التهاب المفاصل الرثوي (RA: Rheumatoid arthritis) عبارة عن مرض مناعي ذاتي يصيب الغشاء الزلالي مما يؤدي إلى تحلل الأنسجة المفصالية وتآكل العظم في وقت لاحق نتيجة الالتهاب المزمن (Gutiérrez-Rebolledo وآخرون، 2018). يصيب RA من 0.5 إلى 1% من سكان العالم، ولوحظ ارتفاع في معدل الإصابة بالزيادة في العمر كما أنه يصيب الإناث أكثر من الذكور. من بين أهم أعراض التهاب المفاصل الرثوي آلام على مستوى المفاصل والغضروف الذي يمكن أن يتطور إلى إعاقة دائمة إذا بقي دون علاج. الأدوية المستعملة حالياً في علاج RA ليست من أجل الشفاء التام من المرض بل من أجل التخفيف من حدته وانتشاره والتخفيف من الآلام والأضرار التي تصيب المفصل (Saleem

وآخرون، 2020). من بين أهم الأدوية المستعملة حاليا في علاج RA نذكر مسكنات الألم والستيرويدات ومضادات الالتهاب الغير سترويدية ((NSAIDs) nonsteroidal anti-inflammatory drugs) والأدوية المعدلة للمرض المضادة للروماتيزم (disease-modifying anti-rheumatic drugs) ((DMARDs) والمركبات المثبطة للمناعة. تستعمل هذه الأدوية رغم العديد من الآثار الجانبية والغير مرغوب فيها مثل تأثيراتها على الجهاز الهضمي وعدد خلايا الدم والجهاز المناعي، هذا ما يستدعي استمرار الأبحاث بشكل مكثف من أجل الوصول إلى اقتراح أو اكتشاف أدوية جديدة ذات فعالية عالية مع آثار جانبية أقل. يمكن أن تكون المواد الكيميائية الطبيعية أفضل طريقة بديلة في علاج التهاب المفاصل الرثوي. تعتبر النباتات مصدرا جد مهم للعوامل المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب والمضادة للروماتيزم. ترجع الخصائص الصيدلانية التي تتمتع بها هذه المستخلصات النباتية إلى احتواءها على الفينولات والفلافونويدات والدباغ والفيتامينات والتيربونويدات (Elisha وآخرون، 2016).

أجريت الدراسة الحالية على نبتة الكرمة السوداء (*Tamus communis L.*) التي هي عبارة عن نبتة تنتشر بشكل كبير في شمال الجزائر. تملك هذه النبتة العديد من الخصائص العلاجية، فهي تستعمل في الطب التقليدي من أجل التخفيف من الآلام الالتهابية، كما يستعمل كل من جذور وفواكه النبتة في علاج الروماتيزم والتهاب المفاصل وآلام الظهر والجلد (Duke، 2002). أجريت هذه الدراسة بهدف إظهار ما إذا كان مستخلص درنة هذه النبتة يملك أي تأثيرات علاجية. تم في هذه الدراسة استخلاص المركبات النباتية باستعمال الميثانول، وتم تقدير عديدات الفينول الكلية والفلافونويدات والدباغ في المستخلص، ومن ثم تمت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا من خلال اختبار قدرته على إزاحة الجذور الحرة وتثبيط فوق أكسدة الليبيدات باستعمال اختباري DPPH وتبييض  $\beta$ -carotene/linoleic acid. شملت هذه الدراسة أيضا تقدير النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا عن طريق اختبار تثبيط تخريب بروتينات الألبومين المصلية وألبومين البيض. كما تم في هذه الدراسة إجراء العديد من الاختبارات على الكائن الحي باستعمال فئران وجرذان ابتداء باختبار السمية الحادة واختبار التأثير المضاد للالتهاب الحاد

باستعمال العديد من النماذج، حيث تم تحفيز الوذمة على مستوى الأذن بالكزبان وبزيت Croton وعلى مستوى القدم بـ Carrageenan والدكستران. كما تم تقدير النشاطية المضادة للتهاب المفاصل باستخدام نموذجي التهاب المفاصل المحرض بالفورمالين ومساعد فروند الكامل. في الأخير تمت دراسة النشاطية المسكنة للألام من خلال نموذج الألام المحفزة بحمض الخل.

## 1. الالتهاب

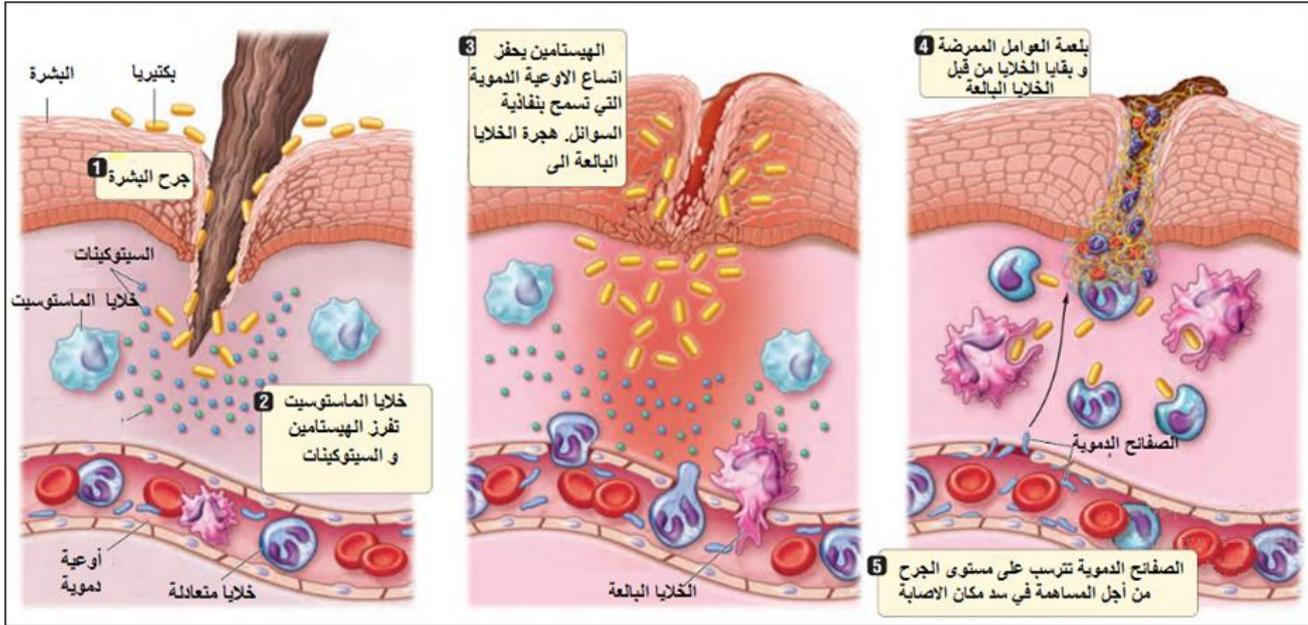
تعرف الاستجابة الالتهابية على أنها رد فعل فيزيولوجي للعضوية اتجاه أي عدوان أو هجوم الذي يمكن أن يكون من طبيعة فيزيائية، كيميائية، بيولوجية أو عوامل معدية (Sy وآخرون، 2008). يتمثل الدور الأول للاستجابة الالتهابية في القضاء على العامل المعتدي وإصلاح النسيج المصاب في أقصر فترة ممكنة. الالتهاب الذي يتم خلال هذه المرحلة يعرف بالالتهاب الحاد، يعتبر هذا النوع من الالتهاب ظاهرة مفيدة للعضوية تسمح لها باسترجاع حالتها الفيزيولوجية. يتمثل الجانب السلبي للاستجابة الالتهابية في حالة استمرارها لتتحول إلى التهاب مزمن، هذا ما يتطلب اللجوء إلى العلاج بالأدوية من أجل الشفاء (Weill وآخرون، 2003).

تبدأ الاستجابة الالتهابية في حالة إتلاف النسيج أو أن العامل الممرض في مكان الإصابة يقوم بإرسال إشارات كيميائية. هذه الإشارات تقوم بتنشيط العديد من الخلايا المناعية التي تساهم في القضاء على العامل الممرض (Shine و Sighn-cundy، 2017)؛ (الشكل 1).

تكمن أهمية التفاعل الالتهابي في: التخلص من العوامل الممرضة وبقايا الخلايا المتلفة، تمنع انتشار السموم في الأنسجة المحيطة، تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية وتنشيط المراحل الأولى من إصلاح النسيج المتلف (Hoehn و Mariab، 2014).

### 1.1. العوامل المسببة للالتهاب

توجد مجموعة من الأسباب التي يمكن أن ترتبط ببداية التفاعل الالتهابي. من بين أهم العوامل التي تسبب انطلاق التفاعل الالتهابي نذكر:



الشكل 1: خطوات الاستجابة الالتهابية (Shine و Sighn-cundy، 2017)

- العوامل الفيزيائية مثل الحرارة المرتفعة (الحروق)، درجات الحرارة المنخفضة، التعرض للأشعة والصددمات.
- العوامل الكيميائية مثل المواد الكيميائية الكاوية، السموم وخاصة سم الأفاعي.
- العوامل البكتيرية مثل السموم الداخلية والخارجية للبيكتيريا، تأثير الفيروسات الممرض للخلايا، الطفيليات والفطريات.
- اضطراب الأوعية الدموية (الإسكيمية الميتة).
- اضطرابات وظيفية مناعية مثل الأمراض المناعية، ظواهر المناعة الذاتية واضطرابات الحساسية (Postiaux، 2016).

## 2.1. أنواع الالتهاب

يقسم الالتهاب إلى التهاب حاد والتهاب مزمن حسب مدة الإصابة وحركية التفاعل الالتهابي.

## 1.2.1. الالتهاب الحاد

تعتبر الاستجابة الالتهابية الحادة نظام الإشارات الأولية المنبهة التي تهدف إلى عزل والقضاء على العوامل الممرضة. يمكن تعريف هذا النوع من الالتهاب على أنه مجموعة من التفاعلات النسيجية التي تحدث خلال الساعات الأولى بعد الإصابة بالعوامل الممرضة (Peter، 2010).

يتميز الالتهاب الحاد بأربعة مظاهر نموذجية: الحرارة، الآلام، الانتفاخ والاحمرار. يمكن تقسيمه إلى ثلاثة مراحل أساسية (Weill وآخرون، 2003):

### أ- المرحلة الوعائية

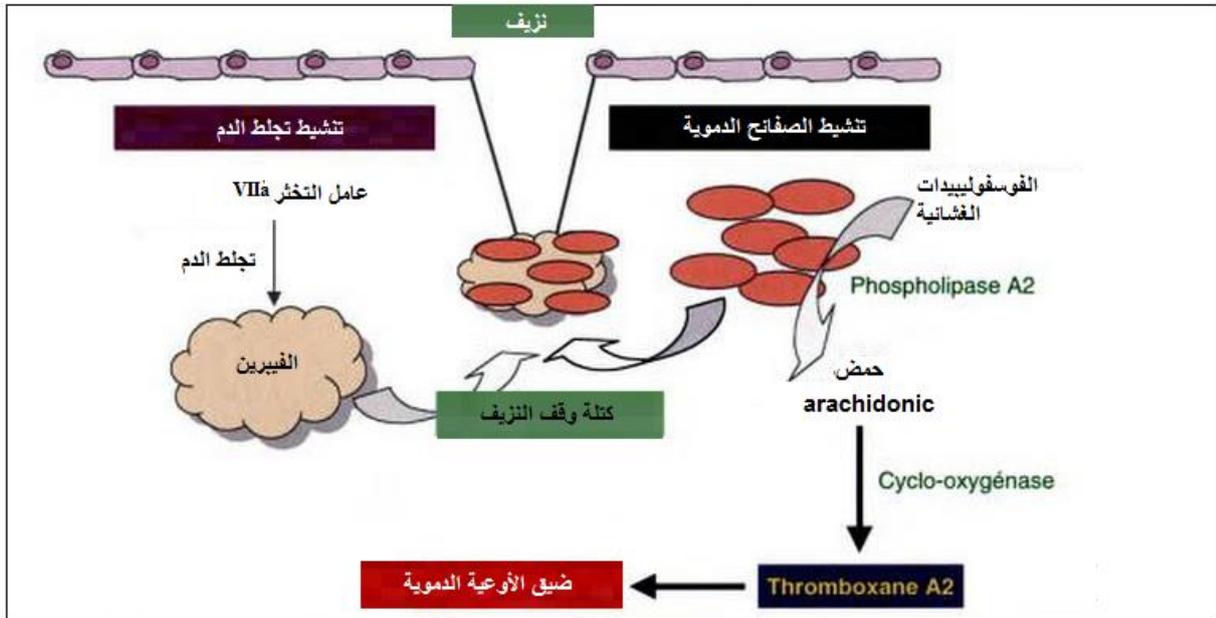
تشمل هذه المرحلة تضيق في الأوعية الدموية بشكل مفرط يستمر بعض ثواني بشكل عشوائي تحت تأثير الجهاز العصبي (Weill وآخرون، 2003). يكون هذا التضيق في الأوعية الدموية متبوع باتساعها مع انخفاض في سرعة تدفق الدم في الأوعية الدموية الشعيرية على مستوى الأنسجة المتضررة وزيادة في قطرها ما يسبب الاحمرار (Postiaux، 2016).

أهم ما يميز ظاهرة اتساع الأوعية الدموية هو الزيادة في النفاذية الوعائية، مما يسمح بعبور محتوى الدم من الأوعية إلى النسيج المصاب، بالإضافة إلى ذلك فإن التدفق الهائل للدم على مستوى الأوعية الدموية الشعيرية يحفز زيادة في الضغط الهيدروستاتيكي. تسمح هذه الظاهرة بعبور البلازما الدموية والجزيئات إلى النسيج المتضرر مسببة انتفاخ الوذمة. يساهم هذا الميكانيزم بتجميع الجزيئات المناعية المحمولة في الدم مثل البروتينات على مستوى المنطقة المتضررة والتقليص من حجم المنطقة الالتهابية بتشكيل الفيبرين (Chillet وEspinosa، 2010).

من بين أهم البروتينات التي تنجذب إلى موقع الإصابة نذكر بروتينات المتممة، التي تلعب دور كبير خلال التفاعل الالتهابي. يؤدي تنشيط المتممة عن طريق المسلك التقليدي (معقد جسم مضاد-مستضد) أو

المسلك البديل (السموم الداخلية البكتيرية) إلى تحفيز زيادة قطر الأوعية الدموية والنفاذية الوعائية (C3a و C5a)، زيادة الجذب الكيميائي للخلايا متعددة النوى والخلايا وحيدة النواة (C2b، C4a، C3b و C5b-7)، الطهاية وتحفيز تحرير الهيستامين من الصفائح الدموية.

كما يتم خلال هذه المرحلة تنشيط تجلط الدم من خلال إنتاج adrenalin و noradrenalin والسيروتونين التي تنشط الصفائح الدموية. تؤدي نشاطية هذه الأخيرة إلى تحرير thromboxane A<sub>2</sub> الذي يملك القدرة على تضيق الأوعية الدموية. كما أن نشاطية عامل التخثر VII يحفز تجلط الدم عن طريق تحفيز بناء الفيبرين، الذي يعمل على صلابة كتلة وقف النزيف المشكلة من تجمع الصفائح الدموية (الشكل 2). الفيبرين المتشكل يلعب كذلك دور الجذب الكيميائي للخلايا المتعادلة متعددة النوى، كما يتدخل في النفاذية الوعائية وذلك عن طريق التأثير في نظام الكينين (Weill وآخرون، 2003).



الشكل 2: نشاطية الصفائح الدموية خلال المرحلة الوعائية (Weill وآخرون، 2003).

تؤدي التغيرات على مستوى البطانة الداخلية للأوعية الدموية إلى ظهور مستقبلات جديدة على سطح الخلايا الطلائية مثل: ELAM-1 (Endothelial leukocyte adhesion molecule-1)، VCAM-1 (Vascular cell Adhesion molecule-1) و ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1)، مما يؤدي إلى انسلال وعبور الخلايا إلى موقع الإصابة. هذه العملية تحفز تحت تأثير الوسائط التي تفرزها الخلايا الطلائية (Weill وآخرون، 2003).

## ب- المرحلة الخلوية

تتميز هذه المرحلة بانسلال الخلايا البيضاء من الأوعية الدموية إلى موقع الإصابة، تتم هذه العملية في الدقائق الأولى من التفاعل الالتهابي. تعتبر الخلايا متعددة النواة والخلايا وحيدة النواة والخلايا البالعة أولى الخلايا التي تصل إلى موقع الإصابة بهدف القضاء على العوامل الممرضة (Weill وآخرون، 2003). تتميز الخطوات الأولى من المرحلة الخلوية بانتقال الخلايا البيضاء باتجاه الجدار الداخلي للأوعية الدموية لتلتصق بعد ذلك بالجدار الطلائي الداخلي عن طريق الارتباط بين جزيئات التصاق متخصصة موجودة على سطح الخلايا الطلائية والخلايا البيضاء. يتم بعدها عبور الخلايا البيضاء من الوعاء الدموي إلى النسيج المصاب تحت تأثير الجذب الكيميائي للـ chemokines (IL-8، IP-10 (Interferon-)) التي تفرز من الخلايا البالعة والخلايا الطلائية الموجودة على مستوى موقع الإصابة (Espinosa وChillet، 2010). عند وصول الخلايا البيضاء إلى موقع الإصابة يتم التخلص من العوامل الممرضة وبقايا الخلايا عن طريق ما يعرف بعملية البلعمة (Postiaux، 2016).

تعتبر هجرة الخلايا البيضاء الخطوة الأولى من المرحلة الخلوية التي تتم بعد 30 إلى 60 دقيقة من الإصابة بالعوامل الممرضة. من الناحية الفيزيولوجية يتطلب التصاق وانسلال الخلايا البيضاء تدخل مستقبلات وربيطات خاصة على سطح الخلايا البيضاء والخلايا الطلائية. تتم هجرة الخلايا البيضاء في

ثلاثة مراحل أساسية: دوران الخلايا البيضاء على طول الجدار الداخلي للأوعية الدموية، بعدها تلتصق على البطانة الداخلية ثم الهجرة (الانسلال)؛ (الشكل3)؛ (Falk و Jannette، 2008).

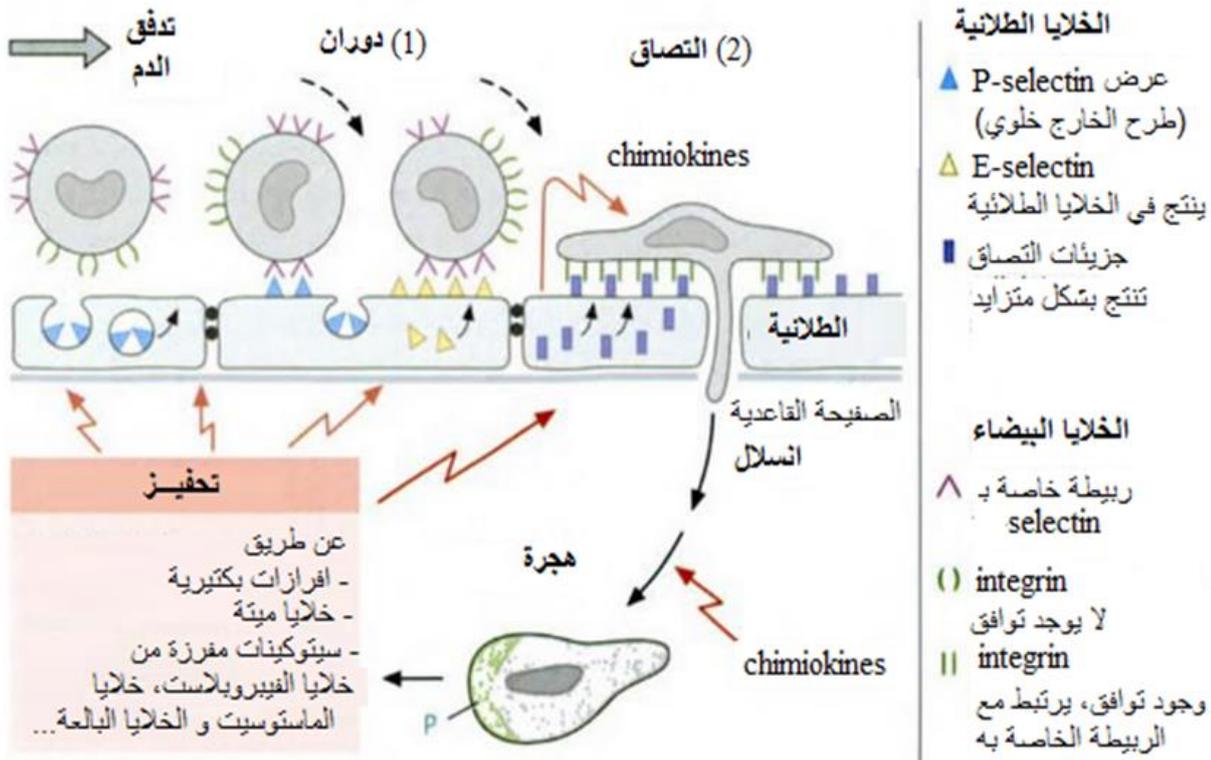
تصنف جزيئات الالتصاق إلى قسمين: selectins الذي يتواجد على سطح الخلايا البيضاء والخلايا الطلائية و integrins الذي يتواجد فقط على سطح الخلايا البيضاء. تكون استجابة الخلايا الطلائية لمختلف المحفزات (من أجل تخليق وعرض جزيئات الالتصاق على سطحها الخارجي) بطريقتين مختلفتين: طريقة سريعة (تستغرق تقريبا دقيقة واحدة) عندما يتم تحفيزها عن طريق الهيستامين و PAF (platelet activating factor)، في حين يمكن أن تكون الاستجابة بطيئة (في حدود ساعات) عندما يتم تحفيزها بالسيتوكينات (مثل IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ) و TNF (Tumor necrosis factor))؛ (Alon و Nourshargh، 2014).

- مرحلة الدوران: تحت تأثير الوسائط الالتهابية تنشط الخلايا الطلائية وتظهر جزيئات الالتصاق (selectins) على سطحها الخارجي. ترتبط هذه الجزيئات بربيطات خاصة بها موجودة على سطح الخلايا البيضاء، تحت تأثير سرعة تدفق الدم تنفصل هذه الجزيئات عن الربيطات مما يؤدي لدوران الخلايا البيضاء عديد المرات ولهذا تعرف بمرحلة الدوران.

- مرحلة الالتصاق: تنشط السيتوكينات الخلايا الطلائية مما يؤدي إلى ظهور جزيئات التصاق ثانوية (خاصة ICAM-1) وإفراز chimiokines الذي ينشط integrins المتواجد على سطح الخلايا البيضاء. هذا الأخير يرتبط بجزيئات التصاق خاصة به متواجدة على سطح الخلايا الطلائية.

- مرحلة الانسلال: خلال هذه المرحلة يتم انسلال الخلايا البيضاء على مستوى منطقة تواجد جزيئات الالتصاق الإضافية بين الخلايا المبطنة للأوعية الدموية، حيث تمر عبر الصفيحة

القاعدية بمساعدة الكولاجيناز حتى تصل إلى النسيج الخلالي، ليتم توجيهها إلى مكان تواجد العوامل الممرضة عن طريق chimiokines (الشكل3)؛ (Lüllmann-Rauch، 2008).



الشكل3: هجرة وانسلاال الخلايا البيضاء عبر بطانة الأوعية الدموية (Lüllmann-Rauch، 2008).

### ج- مرحلة الالتئام (الترميم)

ترتبط مرحلة الالتئام أو الترميم بدرجة الضرر الذي لحق بالنسيج. بعدما يتم القضاء على العوامل الممرضة من طرف الخلايا متعددة النوى، تتم بلعمة نواتج التهديم وبقايا الخلايا من قبل الخلايا البالعة. تفرز هذه الأخيرة مجموعة من السيتوكينات والوسائط التي تحفز عملية الالتئام وتجديد الأنسجة. الرجوع إلى الحالة الفيزيولوجية يتطلب أولاً إصلاح بطانة الأوعية الدموية من قبل الخلايا الطلائية، حيث يمكن

لهذه الأخيرة إنتاج العناصر التي تحتاجها في هذا النسيج (كولاجين I وكولاجين III) والصفحة القاعدية (كولاجين IV، V و Laminins).

في حالة ما إذا كانت الإصابة كبيرة وتتطلب التخلص من النسيج المصاب، تتدخل أنواع أخرى من الخلايا مثل الخلايا البالعة التي تساهم في عملية إعادة البناء. كما تتدخل الخلايا الليفية وخلايا الفيروبلاست التي تقوم بإنتاج بروتينات الحشوة الخارج خلوية مثل الكولاجين، fibronectin و Laminins (Weill وآخرون، 2003).

يمثل الجدول 1 ملخص لأهم الظواهر التي تحدث خلال الالتهاب الحاد.

### 2.2.1. الالتهاب المزمن

الالتهاب المزمن عبارة عن استمرارية لالتهاب حاد ناتج عن سوء تسيير مرحلة الالتئام. أهم ما يميز الالتهاب المزمن من الناحية المورفولوجية تواجد الخلايا للمفاوية والخلايا البالعة والخلايا البلازمية. يمكن لهذا النوع من الالتهاب أن يسبب أضرار على مستوى النسيج وفقدان وظيفته (Roda و Eubank، 2013). الخاصية المميزة للالتهاب المزمن أنه بطيء و يمتد لفترة طويلة تستمر لعدة أشهر حتى عدة سنوات. يمكن أن يكون الالتهاب المزمن نتيجة:

- 1- الفشل في القضاء على مسببات الالتهاب الحاد مثل الكائنات المعدية نذكر منها *Mycobacterium tuberculosis*، الفطريات والطفيليات التي تتميز بمقاومة عالية ويمكنها البقاء في النسيج لفترة طويلة.
- 2- التعرض لمستويات منخفضة من المواد المشعة أو مواد دخيلة عن الجسم التي لا يمكن القضاء عليها عن طريق عملية البلعمة أو الإنزيمات، نذكر منها مثلا المواد الكيميائية الصناعية التي يتم استنشاقها لفترات طويلة.

**جدول 1:** تسلسل أهم الظواهر التي تحدث خلال الالتهاب الحاد وأهم العوامل المحفزة لها (Delong وBurkhert، 2008).

الظاهرة	المحفزة عن طريق:	الهدف
1- تضيق قطر الأوعية الدموية	- الجهاز العصبي	- التقليل من النزيف
2- اتساع الأوعية الدموية	- الهيستامين - PAF، Bradykinin - Prostaglandins	- زيادة قطر الأوعية الدموية - زيادة تدفق الدم في المنطقة
3- زيادة النفاذية الوعائية	- الهيستامين - السيروتونين - Bradykinin، PAF - Prostaglandins - Leukotriens	- تشكيل ثغور بين الخلايا الطلائية المبطنة للأوعية الدموية
4- انخفاض في سرعة سريان الدم	- زيادة في النفاذية الوعائية	- زيادة لزوجة الدم
أ- تنقل الخلايا باتجاه بطانة الأوعية الدموية	- زيادة لزوجة الدم	- تحرك الخلايا الدموية البيضاء باتجاه الجدار الداخلي للأوعية الدموية وبدأ حركة الدوران.
ب- الالتصاق	- عامل النخر الورمي (TNF)، Interleukin-1	التصاق الخلايا الدموية البيضاء بالجدار الداخلي للأوعية الدموية.
ج- الانسلاخ	- المتممة	- انسلاخ الخلايا الدموية البيضاء إلى المنطقة المصابة من خلال الثغور الموجودة في بطانة الأوعية الدموية.
5- الجذب الكيميائي	- Leukotriens - Chemokines - المتممة	- توجه الخلايا البيضاء متعددة النوى والخلايا الدموية البيضاء الأخرى نحو موقع الإصابة.
6- الطهاية (opsonization)	- الأجسام المضادة - المتممة	- تحضير العوامل الممرضة لعملية البلعمة
7- البلعمة	- PAF	- ابتلاع و هضم الأجسام الغريبة وبقايا الخلايا
8- نهاية التسلسل		- التخلص من البقايا عن طريق تدخل الخلايا للمفاوية

3- اضطرابات على مستوى الجهاز المناعي حيث يمكن لهذا الأخير أن ينشط تحت تأثير جزيئات ذاتية مما يؤدي إلى العديد من الأمراض الذاتية مثل التهاب المفاصل الرثوي.

4- نوبات متكررة من التهاب الحاد. في حين في بعض الحالات يمكن أن يكون الالتهاب المزمن مستقل عن الالتهاب الحاد مثل أمراض السل.

5- يمكن لمحفزات الالتهاب وعناصر كيميائية حيوية أن تسبب اضطراب في الجهد التأكسدي ووظائف الميناكندريا مثل الزيادة في إنتاج الجذور الحرة وأكسدة البروتينات الدهنية (Pahwa و Jialal، 2018).

تستمر معظم مظاهر التهاب الحاد حتى يصبح الالتهاب مزمن مثل توسع الأوعية الدموية، زيادة تدفق الدم، النفاذية الوعائية وهجرة الخلايا المتعادلة إلى النسيج المصاب. في حين في وقت لاحق يطرأ تغيير في نوع الخلايا البيضاء حيث أن الخلايا البالعة والخلايا للمفاوية تعوض الخلايا المتعادلة التي تملك زمن نصف حياة قصير، وبالتالي فإن العلامات الأولى التي تميز الالتهاب المزمن هي تواجد الخلايا البالعة، للمفاويات والخلايا البلازمية في النسيج المصاب. تفرز هذه الخلايا مجموعة من السيتوكينات وعوامل النمو والإنزيمات التي تساهم في إتلاف النسيج المصاب والدخول في مرحلة الالتئام الثانية مثل التليف وتشكل الورم الحبيبي.

يوجد نمطين مختلفين من الالتهاب المزمن:

- **تضاعف غير نوعي:** يتميز بتواجد نسيج حبيبي غير نوعي يتكون من الخلايا أحادية النواة (الخلايا البالعة، للمفاويات والخلايا البلازمية)، خلايا الفيبروبلاست، أوعية دموية وخلايا طلائية.

- **التهاب الورم الحبيبي (Granulomatous):** يتميز هذا النمط الخاص من الالتهاب المزمن بتواجد تآكل عقدي يتكون من الخلايا البالعة أو مشتقاتها تعرف باسم خلايا epithelioid التي تحاط بالمفاويات (Pahwa و Jialal، 2018).

### 3.1. الوسائط الالتهابية

ينتج عن العوامل المحفزة للالتهاب تحرير العديد من الوسائط الالتهابية التي تغير في وظائف العديد من الأنسجة والأعضاء. يملك العديد من هذه الوسائط تأثيرات مشتركة على الأوعية الدموية وجذب الخلايا البيضاء. يمكن أن تشتق الوسائط الالتهابية من البروتينات البلازمية أو تفرز من الخلايا، حيث تفرز الوسائط الخلوية من نوع خاص من الخلايا البيضاء (بشكل خاص الخلايا البالعة أو خلايا الماستوسيت المتواجدة في النسيج) أو من الخلايا المتواجدة على مستوى النسيج المصاب. بعض الوسائط (الهستامين والسيروتونين) تخلق و تخزن في حبيبات خلايا الماستوسيت، الخلايا القاعدية والصفائح الدموية، البعض الآخر يتشكل في الدورة الدموية على شكل طلائع غير نشطة في البلازما، في حين البعض الآخر ينتج بشكل مباشر خلال الاستجابة لمحفزات الالتهاب.

يمكن تقسيم الوسائط الالتهابية إلى سبعة مجموعات حسب الخصائص البيوكيميائية: أمينات الأوعية الدموية، ببتيدات الأوعية الدموية، مكونات المتممة، الوسائط الدهنية، السيتوكينات، chemokines والإنزيمات الحالة للبروتين (Medzhitov، 2008).

#### 1.3.1. أمينات الأوعية الدموية

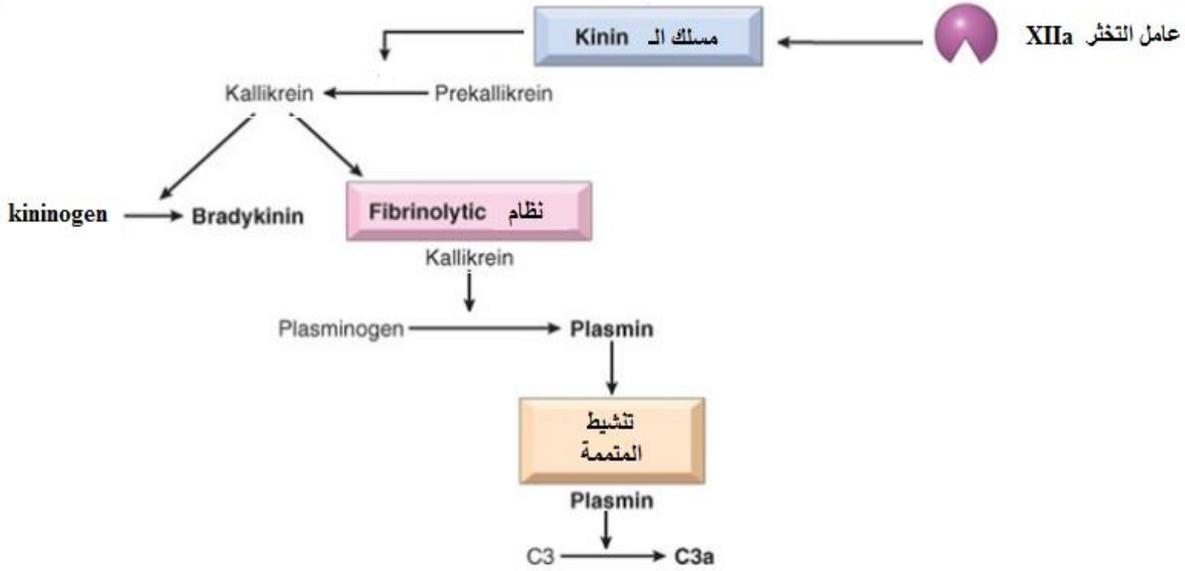
يصنف كل من الهستامين والسيروتونين من الأمينات، يرجع ذلك لأنها مشتقة من الأحماض الأمينية (الهستامين من الحمض الأميني Histidine والسيروتونين من الحمض الأميني Tryptophan). تخزن في حبيبات موجودة على مستوى خلايا الماستوسيت والصفائح الدموية والخلايا متعددة النوى القاعدية. يعتبر الهستامين والسيروتونين من بين أهم الوسائط الالتهابية خلال التفاعل الالتهابي الحاد. تؤدي نشاطية خلايا الماستوسيت إلى تحرير محتواها من الهستامين المخزن على مستوى حبيباتها إلى الوسط الخارج خلوي، حيث يحفز زيادة تدفق الدم وزيادة قطر الأوعية الدموية وينشط زيادة النفاذية الوعائية. كما يؤثر كذلك على العضلات الملساء حيث يحفز تقلصها (Benly، 2015). السيروتونين يعرف كذلك

باسم 5-hydroxytryptamin، يملك تأثيرات على الأوعية الدموية حيث يلعب أدوار مشابهة للهستامين. يتواجد بشكل أولي على مستوى حبيبات الصفائح الدموية ويتم إفرازه خلال تجمعها (Porth، 2009).

### 2.3.1. بيبتيديات الأوعية الدموية

يمكن أن تخزن على الشكل النشط في الحويصلات الإفرازية (مثل المادة P) أو تولد من الطلائع الغير النشطة الموجودة في الوسط الخارج خلوي (مثل kinins، fibrinopeptide A، fibrinopeptide B ونواتج استقلاب الفيبرين). تفرز المادة P من الخلايا العصبية الحسية وتحفز خلايا الماستوسيت على إفراز حبيباتها. بيبتيديات الأوعية الدموية الأخرى تنشأ من التحلل البروتيني تحت تأثير عامل Hageman (عامل التخثر XII)، thrombin أو plasmin. تتمثل معظم تأثيراتها في توسيع الأوعية الدموية والزيادة في النفاذية الوعائية (بطريقة مباشرة أو غير مباشرة عن طريق تحفيز إفراز الهستامين). يلعب عامل Hageman دورا مهما في الاستجابة الالتهابية حيث يمكنه تنشيط مسلك Kinines (Medzhitov، 2008).

يعتبر Kininogene طليع غير نشط للـ Kinines، يتم تنشيطه تحت تأثير Kallikrein إلى العديد من البيبتيديات التي تملك تأثير على الأوعية الدموية والتي تزيد من درجة الحرارة المحلية والألم. يعتبر Bradykinin واحدا من بين أهم أفراد عائلة Kinines، يحتوي على تسع أحماض أمينية يزيد بشكل قوي من نفاذية الأوعية الدموية. من جهة أخرى Bradykinin مسؤول عن الإحساس بالألم لتداخله مع المستقبلات الموجودة على مستوى العصبونات الحسية، كما يتفاعل مع plasmin بتنشيط مسلك المتممة مما يزيد التفاعل الالتهابي. يزيد Bradykinin كذلك من تأثير prostaglandins بتنشيطه لإنزيم phospholipase A2 (الشكل 4)؛ (Weill وآخرون، 2003).



الشكل 4 : آلية تنشيط مسلك Kinines (Sullivan، 2018).

### 3.3.1. قطع المتممة C3a، C4a و C5a

يعتبر نظام المتممة واحدا من بين أهم المكونات في المناعة الفطرية حيث يتمثل دوره الأساسي كخط دفاع أولي ضد العوامل المعدية الممرضة. تنتشر أجزاء المتممة C3a، C4a و C5a التي تعرف باسم anaphylatoxins في الدورة الدموية وفي الأنسجة حيث تخلق وتفرز من عديد الخلايا تحت تأثير محفزات مختلفة مثل السيتوكينات. يتم تنشيط المتممة بثلاث مسالك مختلفة: المسلك التقليدي، المسلك البديل ومسلك الليكتين (Noris و Remuzzi، 2013).

ترتبط C3a على مستقبلاتها الموجودة على سطح الخلايا القاعدية وتحفزها على تحرير محتوياتها من الهيستامين وبيبتيدات الأوعية الأخرى المسؤولة على تقلص العضلات الملساء وزيادة النفاذية الوعائية. يمكن كذلك لـ C3a أن تحفز تحرير السيروتونين من الصفائح الدموية.

يلعب C5a دور مشابه لـ chemokines حيث يحفز الجذب الكيميائي للبالعات خاصة الخلايا متعددة النواة، يحفز استقلاب الاكسيجين مع تحرير الجذور الاكسيجينية الحرة وتحرير الإنزيمات الحالة. يحفز

C5a كذلك إنتاج وإفراز IL-1 من الخلايا البالعة وتحريض PAF وتنشيط مسلكي cyclo-oxygenases و lipo-oxygenases في العديد من الخلايا (Peltier، 1998).

### 4.3.1. الوسائط الدهنية (eicosanoids و PAF)

تشتق الوسائط الدهنية من الفوسفوليبيدات الغشائية مثل phosphatidylcholine المتواجد على السطح الداخلي للغشاء الخلوي. بعد نشاطية إنزيم phospholipase A2 عن طريق أيونات  $Ca^{+2}$ ، يحفز هذا الإنزيم إنتاج حمض arachidonic انطلاقاً من phosphatidylcholine. تنتج eicosanoids عن طريق تدخل الإنزيم 5-lipo-oxygenases الذي ينتج leukotriens و cyclo-oxygenases الذي ينتج prostaglandins.

يلعب prostaglandin E2 و prostaglandin b دور كبير في التفاعل الالتهابي من خلال زيادة النفاذية الوعائية و تعزيز دور العديد من الوسائط الالتهابية الأخرى مثل kinin والسيروتونين والهستامين، هذا ما يؤدي إلى الاحمرار. زيادة تدفق الدم و عبور البلازما إلى موقع الالتهاب يسبب الانتفاخ. بالإضافة إلى ذلك فإن prostaglandin E2 يؤثر على الأعصاب المتواجدة على مستوى شبكة تنظيم درجة الحرارة في الغدة النخامية مما يؤدي إلى ارتفاع في درجة حرارة الجسم (Abdulkhaleq وآخرون، 2018). تتميز leukotriens (LTD4 و LTC4، LTB4) بقدرتها على الجذب الكيميائي للخلايا البيضاء متعددة النوى (Weill وآخرون، 2003).

هناك وسيط خلوي آخر جد مهم يعرف باسم PAF الذي يتم إنتاجه خلال تنشيط الصفائح الدموية. PAF عبارة عن فوسفوليبيد غشائي ينتج من قبل الخلايا متعددة النواة، أحادية النواة، الخلايا البالعة والخلايا الطلائية. يعتبر PAF منشط قوي للصفائح الدموية والخلايا المتعادلة، حيث ينشط تجمع الصفائح الدموية ويحفز التصاق الخلايا المتعادلة على بطانة الأوعية الدموية، إفراز الإنزيمات الحالة، إنتاج

الجذور الاكسيجينية الحرة و prostaglandins و leukotriens. كما يساعد PAF على سرعة عبور الخلايا المتعادلة عبر جدار الخلايا الطلائية إلى موقع الإصابة (Serhan وآخرون، 2010).

### 5.3.1. السيتوكينات

تلعب السيتوكينات دور جد مهم في الاستجابة الالتهابية وتنسيق الاتصال بين الخلايا. تفرز السيتوكينات من عديد الخلايا مثل الخلايا البالعة والخلايا المتشجرة والخلايا المتعادلة. يعتقد أن السيتوكينات تعمل بطريقة مشابهة للموصلات العصبية والهرمونات حيث تتوسط الاستجابة الفيزيولوجية وتعتمد على التداخل ربيطة-مستقبل. يمكن أن يكون للسيتوكينات تأثير ذاتي (autocrine)، تجاوري (paracrine) أو عن بعد (endocrine)؛ (Irwin و Slavich، 2014).

تقسم السيتوكينات إلى مجموعتين: محفزة للالتهاب ومضادة للالتهاب. تبدأ السيتوكينات المحفزة للالتهاب الاستجابة ضد العوامل الممرضة أو النسيج المتضرر وتنظيم التفاعلات الالتهابية كما أنها تلعب دور جد مهم في الأمراض الالتهابية. من بين أهم السيتوكينات المحفزة للالتهاب IL-1، IL-6، IL-8 و TNF- $\alpha$ . السيتوكينات المضادة للالتهاب مثل IL-4 و IL-10 تعتبر منظمات مناعية للتفاعل الالتهابي حيث تثبط نشاطية السيتوكينات المحفزة للالتهاب وعند الحاجة تخفض من حدة الاستجابة الالتهابية للحفاظ على التوازن (Begum Yagci وآخرون، 2018).

#### أ- السيتوكينات المحفزة للالتهاب

يفرز IL-6 من عديد الخلايا نذكر منها الخلايا البالعة وحيدة النواة، الخلايا T، الخلايا B، خلايا الفيبروبلاست، الخلايا الطلائية، الخلايا الكيراتينية، خلايا الكبد وخلايا نقي العظام (Turner وآخرون، 2014). يتم إنتاج IL-6 خلال الاستجابة الالتهابية الحادة حيث يساهم في تعزيز الدفاع ضد العوامل الممرضة. يتدخل IL-6 في التفاعلات الالتهابية والاستجابة المناعية وتخليق الدم. يمكن لهذا السيتوكين أن

يساهم في تطور الالتهاب الحاد إلى مزمن عن طريق تحفيز إفراز MCP-1 الذي يحفز جذب الخلايا البيضاء إلى موقع الالتهاب.

يفرز TNF- $\alpha$  من الخلايا البالعة النشطة بالدرجة الأولى كما يمكن أن يفرز من بعض الخلايا مثل الخلايا وحيدة النواة، الخلايا T، خلايا الماستوسيت، الخلايا القاتلة الطبيعية، الخلايا الكيراتينية، خلايا الفيبروبلاست والخلايا العصبية. يعتبر TNF- $\alpha$  عنصر جد مهما في التفاعل الالتهابي حيث يمكن له أن يحفز إنتاج السيتوكينات والتعبير على جزيئات الالتصاق وتحفيز النمو. يمكنه كذلك أن يحفز تكاثر الخلايا الطبيعية، يملك نشاطية تحليل الخلايا أو تثبيطها (الخلايا الورمية) ومضاد للفيروسات. يملك TNF- $\alpha$  العديد من التأثيرات الإضافية مرتبطة باستقلاب الدهون وتجلط الدم (Turner وآخرون، 2014).

يفرز IL-1 بصورة أساسية من الخلايا البالعة، الخلايا وحيدة النواة والخلايا المتشجرة، يعتبر السيتوكين الأول الذي تم التعرف عليه ووصف على أنه بروتين محفز للحمى. تظم عائلة هذا السيتوكين 11 بروتينين، يعتبر IL-1 $\alpha$  و IL-1 $\beta$  البروتينين الرئيسيين من هذه المجموعة. يعدل IL-1 تمايز ووظائف الخلايا للمفاوية في الاستجابة المناعية الفطرية والمكتسبة. أثناء تحلل الخلايا يتم تحرير IL-1 الذي يحفز بسرعة المرحلة الأولى من الالتهاب (يحفزها عن طريق تحرير إشارات خطر مصدرها الذات)، بالعكس بالنسبة لتحلل الخلايا خلال الموت الخلوي المبرمج، فإن IL-1 $\alpha$  يدخل إلى النواة ويمنع حدوث الالتهاب. يملك IL-1 $\beta$  نشاطية محفزة للالتهاب على مستوى الأنسجة، حيث يحفز توسع الأوعية الدموية وتنشيط الخلايا المتعادلة متعددة النواة (Kolopp-Sarda و Noack، 2018).

### ب- السيتوكينات المضادة للالتهاب

يفرز IL-4 من الخلايا T المساعدة نمط 2 (Th-2)، خلايا الماستوسيت والخلايا القاعدية. يمكن لل-IL-4 أن يثبط إنتاج وإفراز السيتوكينات المحفزة للالتهاب (Sultani وآخرون، 2012). يعمل IL-4 كعامل نمو وينظم حياة الخلايا للمفاوية كما يحفز Th-2، في حين يثبط تمايز Th-1 المحفز عن طريق

المستضد. يعدل تكاثر وتمايز وحياة العديد من الأنواع الخلوية الأخرى مثل الخلايا المتشجرة، الخلايا العصبية، خلايا الماستوسيت والخلايا البطانية. يعتبر IL-4 كعنصر أساسي محفز لاستجابة Th-2 ضد الطفيليات المعدية بالإضافة إلى ذلك فإنه يملك نشاطية مضادة للالتهاب يمكن أن تكون وقائية تتمثل في دور الخلايا Th-1 في أمراض المناعة الذاتية مثل التهاب المفاصل الرثوي والسكري. يلعب IL-4 دور رئيسي في أمراض الحساسية حيث يتدخل في العديد من أمراض الحساسية مثل الربو (Prel) و(Tarrant، 2018).

يفرز IL-10 من الخلايا T، الخلايا B، الخلايا البالعة، الخلايا الكيراتينية، الخلايا الطلائية في القصبات الهوائية وبعض الخلايا الأخرى. يلعب IL-10 دور سيتوكين مضاد للالتهاب، يعمل على الكبح المناعي للسيتوكينات حيث يثبط إنتاج السيتوكينات المحفزة للالتهاب. يثبط عرض المستضد في الخلايا البالعة ويخفض من نسبة التعبير على معقد التوافق النسيجي II (CMH II)، جزيئات الالتصاق ومساعدات التنشيط CD80 (B7.1) وCD86 (B7.2)؛ (O'Shea وآخرون، 2019).

### 6.3.1 Chemokines

يعتبر IL-8 السيتوكين النموذجي في قسم chemokines. يلعب هذا الأنترلوكين دورا كبيرا خلال الاستجابة الالتهابية الحادة ويبقى لفترة طويلة نسبيا في موقع الالتهاب. يتم إفرازه من الخلايا البالعة والخلايا المتعادلة تحت تأثير NF-κB (nuclear factor kappa-beta)؛ (Tampa وآخرون، 2018)، كما يمكن أن يفرز من خلايا الفيبروبلاست والخلايا البطانية والخلايا الطلائية وخلايا الكبد والمفاويات التائية (Prel وTarrant، 2018). يتمثل الدور الرئيسي للـ IL-8 خلال الالتهاب في جذب الخلايا المتعادلة، بالإضافة إلى ذلك فإنه المسؤول عن الجذب الكيميائي وهجرة ونشاطية الخلايا وحيدة النواة والمفاويات والخلايا القاعدية والخلايا الحمضية إلى موقع الالتهاب (Turner وآخرون، 2014). يتم مراقبة إفراز IL-8 عن طريق العديد من المحفزات مثل الالتهاب ونقص الأكسجين والهرمونات الستيرويدية (Tampa وآخرون، 2018).

## 4.1. الخلايا المتدخلة في الاستجابة الالتهابية

تتطلب الاستجابة الخلوية تنسيقاً عالياً بين العديد من الأنواع الخلوية. تتدخل الخلايا البالعة النشطة والخلايا وحيدة النواة والعديد من الأنواع الخلوية الأخرى في الاستجابة على مستوى الأنسجة المتلفة أو الإصابة بالعدوى. تفرز الخلايا البطانية على مستوى النسيج المصاب العديد من العوامل مثل الجاذبات الكيميائية وعوامل النمو التي تعمل على جذب الخلايا المتعادلة والخلايا وحيدة النواة. تعتبر الخلايا المتعادلة أولى الخلايا التي تصل إلى موقع الإصابة تليها بعد ذلك الخلايا وحيدة النواة والخلايا اللمفاوية (الخلايا القاتلة الطبيعية (natural killer cells)، الخلايا T والخلايا B) وخلايا الماستوسيت. يمكن أن تتميز الخلايا وحيدة النواة إلى خلايا بالعة وخلايا متشجرة (dendritic cells) وتصل إلى النسيج المصاب عن طريق الجذب الكيميائي (Chen وآخرون، 2017).

### 1.4.1. الخلايا المتعادلة متعددة النواة

تعتبر الخلايا المتعادلة متعددة النواة أولى الخلايا التي تصل إلى موقع الالتهاب، حيث تصل في الدقائق الأولى إلى موقع التفاعل الالتهابي (Smeltzer وBare، 2011). تشكل الخلايا المتعادلة متعددة النواة أعلى نسبة من الخلايا الدموية البيضاء، البعض منها يحتوي في حبيباته إنزيمات حالة مثل peroxydases ومواد مضادة للبكتيريا مثل lysozymes. تتميز الخلايا المتعادلة بخاصية البلعمة ويتمثل دورها الرئيسي في بلعمة وتحليل الأجسام الغريبة مثل البكتيريا. يتم جذبها نحو موقع الالتهاب عن طريق مواد كيميائية ليتم بعد ذلك بلعمة الأجسام الغريبة وتحليلها عن طريق أنزيماتها. تزداد نشاطية البلعمة تحت تأثير بروتينات المتممة والغلوبولينات المناعية (الأجسام المضادة) التي تحيط بالأجسام الغريبة، تعرف هذه الظاهرة باسم الطهاية (Brooker، 2011). تتدخل الخلايا المتعادلة متعددة النواة كذلك في مرحلة الالتئام (Bach وChatenoud، 2012).

### 2.4.1. الخلايا وحيدة النواة

تلعب الخلايا وحيدة النواة دورا جدمهم في تطور التفاعل الالتهابي، تصل إلى موقع التفاعل الالتهابي بعد 24 إلى 48 ساعة من الإصابة (Chillet و Espinosa، 2010). تستجيب الخلايا وحيدة النواة عن طريق الجذب الكيميائي الناجم عن وجود عناصر ناتجة عن تحلل الأنسجة أو نتيجة الإصابة بكائنات دقيقة ممرضة حيث تهاجر في الأنسجة وتتحول إلى خلايا بالعة. نظرا لنشاطية البلعمة التي تتميز بها والكمية الكبيرة من إنزيمات الإمهاة المتواجدة في سيتوبلازمها، تقوم الخلايا البالعة ببلعمة حطام الأنسجة والمواد الغريبة خلال مرحلة اللانئام (Wheater وآخرون، 2015). تشكل الخلايا البالعة جزءا من الخلايا التي تبدأ الاستجابة الالتهابية وتحفز هجرة الخلايا المتعادلة. كما تتدخل كذلك في مرحلة اللانئام (Bach و Chatenoud، 2012).

يمكن أن تتمايز الخلايا وحيدة النواة إلى خلايا متشجرة التي تلتقط الأجسام الغريبة وتهاجر إلى العقد اللمفاوية الثانوية لعرض المستضد للخلايا اللمفاوية وبالتالي البدء في الاستجابة المناعية الخلوية (Chillet و Espinosa، 2010).

### 3.4.1. خلايا الماستوسيت

خلايا الماستوسيت عبارة عن نوع من الخلايا الدموية البيضاء التي لا تتواجد في مجرى الدم بينما تنتشر في الأنسجة الضامة (Sherood، 2015). تتواجد في أغلب الأحيان على مستوى الأنسجة المجاورة للأوعية الدموية (Male، 2005). تلعب خلايا الماستوسيت دورا جدمهم في انطلاق الاستجابة الالتهابية، تحتوي على العديد من الحبيبات المحملة بالوسائط الالتهابية مثل الهيستامين والسيروتونين و heparin والسيتوكينات، هذه الوسائط الالتهابية تحفز العلامات الكلاسيكية الثلاث للالتهاب: الاحمرار، الحرارة والانتفاخ (shin و Singh-cundy، 2017).

#### 4.4.1. الخلايا القاعدية

الخلايا القاعدية هي الخلايا الأقل عددا والأقل معرفة من بين الخلايا الدموية البيضاء. تتشابه مع خلايا الماستوسيت من حيث الشكل والوظيفة. تتميز الخلايا القاعدية بسيتوبلازم غني بالحبيبات تحتوي على الوسائط الالتهابية مثل الهيستامين و heparin التي يتم تحريرها في وجود تحفيز مناسب (Sherood، 2015).

#### 5.4.1. الخلايا متعددة النواة المحبة للحموضة

تشكل من 2 إلى 5% من مجموع الخلايا الالتهابية (Male، 2005). يتمثل الدور الرئيسي للخلايا متعددة النواة الحامضية في بلعمة بيوض الطفيليات (helminthe) وإبطال تأثير تفاعلات فرط الحساسية، كما تقوم بإفراز مجموعة من الوسائط التي تقوم بالتنظيم السلبي للتفاعلات الالتهابية مثل histaminase. تملك هذه الخلايا دور سلبي في العديد من الحالات المرضية مرتبط بقدرتها على تحرير مجموعة من الوسائط الالتهابية داخل الأنسجة مسؤولة على زيادة نفاذية الأوعية الدموية وتقلص العضلات الملساء (Cahu و Ifrah، 2015).

#### 6.4.1. اللمفاويات

يوجد نوعين مختلفين من الخلايا اللمفاوية (T و B) التي تختلف من حيث الوظيفة، حيث تعمل الخلايا B على إنتاج وإفراز الأجسام المضادة كما أنها تتدخل في المناعة المتخصصة، في حين ينتج عن طلائع الخلايا T اللمفاويات CD4 (المنظمة) واللمفاويات CD8 (السامة). تتدخل الخلايا اللمفاوية بشكل رئيسي في التفاعلات المناعية وتشارك في التفاعلات الالتهابية من خلال إنتاج مختلف السيتوكينات (Aymeric و Gérard، 2009).

### 7.4.1. الصفائح الدموية

تلعب الصفائح الدموية دوراً مهماً خلال عملية تخثر الدم التي تتم في ثلاثة مراحل، تبدأ بالتصاق الصفائح الدموية بالكولاجين المتواجد تحت البطانة عن طريق تدخل عامل Willebrand. المرحلة الثانية تتمثل في الانتشار والتنشيط وإفراز ADP (Adenosine diphosphate) و PDGF (Platelet-Derived) و Growth Factor) و fibrinogen وتجمع الصفائح الدموية عن طريق تدخل fibrinogen البلازمي. المرحلة الثالثة والأخيرة تتمثل في تجميع وصلابة الخثرة (تجمع الصفائح الدموية) عن طريق شبكة من الفيبرين (Fortin وآخرون، 2014). بالإضافة إلى ذلك فإن الصفائح الدموية تقوم بإنتاج العديد من الوسائط الأخرى (السيتوكينات، chemokines، prostaglandin، leukotriens و thromboxane) التي تتدخل في عملية إصلاح الأنسجة (Mérien، 2016).

## 2. الإجهاد التأكسدي

تلعب الجذور الحرة أدوارا بيولوجية مهمة في العضوية، تقوم عموما بدور وسائط خلوية أو تدخل في الدفاع الخلوي. تنتج هذه الجذور بشكل دائم وبكميات ضعيفة، يتم التحكم في الإنتاج الفيزيولوجي لها بأنظمة دفاع تتأقلم مع معدل الجذور المتواجدة مما يؤدي إلى وجود توازن بين الجذور الحرة ومضادات الأكسدة. في بعض الحالات يحدث اختلال في هذا التوازن نتيجة لانخفاض مضادات الأكسدة أو الإنتاج المفرط للجذور الحرة، هذا ما يؤدي إلى ما يعرف بالإجهاد التأكسدي (Favier، 2003).

### 1.2. أنواع الجذور الحرة

الجذر الحر عبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مدارها الخارجي، قد تكون تلك الشوارد عضوية أو غير عضوية. في الحالة الطبيعية تتواجد الإلكترونات في الجزيئات بشكل مزدوج، وحين يفقد الجزيء أحدها فإنه يصبح غير مستقر ومؤذ للجزيئات الأخرى المجاورة مما يجعله في حالة بحث دائم عن الإلكترون المفقود ليكون زوجا من الإلكترونات المستقرة، حيث يقوم بانتزاع إلكترونات من الجزيئات المجاورة مما يسبب إتلاف جزيئات الخلية الطبيعية في الجسم. يمكن أن تشتق هذه الجذور من الأكسجين وتسمى الأنواع الأكسجينية النشطة أو من النتروجين وتسمى الأنواع النتروجينية (Droge، 2002).

#### 1.1.2. الأنواع الأكسجينية النشطة

##### أ- جذر فوق الأكسيد ( $O_2^{\bullet-}$ )

تنتج الميتوكوندريا الطاقة عن طريق سلاسل تفاعلات بأربع إلكترونات، محولة بذلك الأكسجين إلى ماء. تتفاعل بعض الإلكترونات التي أفلتت من سلسلة التفاعلات الميتوكوندرية مباشرة مع الأكسجين مشكلة

$\text{O}_2^{\bullet-}$ . يعتبر هذا الأخير طليعا لجذور أوكسجينية أخرى مثل بيروكسيد الهيدروجين  $\text{H}_2\text{O}_2$  (حسب التفاعل (1) وجذر الهيدروكسيل  $\text{OH}^{\bullet}$  والأكسجين الأحادي  $^1\text{O}_2$ .



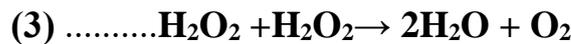
يملك جذر فوق الأوكسيد القدرة على فوق أكسدة اللييدات وخفض نشاطية الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل catalase و glutathion peroxydase (GPx) وتخریب النيكلوتيد الريبي الضروري لبناء DNA (Saikat وآخرون، 2010).

### ب- بيروكسيد الهيدروجين ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

لا يعتبر بيروكسيد الهيدروجين جذرا حرا لأنه لا يملك إلكترون حر وإنما يعتبر من المشتقات الأوكسجينية النشطة ينتج خلال الإرجاع غير التام للالكترونات بوجود إنزيمات الأكسدة ( aminoacide oxidase ، glycolateoxidase و urateoxidase) المتواجدة أساسا على مستوى الليزوزوم. من جهة أخرى يعتبر الغشاء الخارجي للميتوكوندري موقعا لإنزيم monoacide oxidase القادر على تشكيل  $\text{H}_2\text{O}_2$  (تفاعل 2).



تنظم التراكيز المرتفعة لـ  $\text{H}_2\text{O}_2$  بواسطة إنزيم catalase، حيث يحفز هذا الأخير تحول  $\text{H}_2\text{O}_2$  إلى  $\text{O}_2$  و  $\text{H}_2\text{O}$  (تفاعل 3)، بينما يقوم إنزيم glutathion peroxydase المتواجد على مستوى السيتوبلازم بتحفيز تفاعل أكسدة (GSH) glutathion في وجود  $\text{H}_2\text{O}_2$  (تفاعل 4)؛ (Handy، 2012).



## جـ جذر الهيدروكسيل (OH•)

يعتبر جذر الهيدروكسيل خطيرا جدا يتميز بقدرته العالية على التفاعل، يمتلك نصف حياة قصيرة جدا. يتم انتاجه بطريقتين مختلفتين: حسب تفاعل Fenton انطلاقا من H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> في وجود أيونات Fe<sup>+2</sup> (التفاعل 5)



أو حسب تفاعل Haber-Weiss في وجود بيروكسيد الهيدروجين و جذر فوق الأكسيد (التفاعل 6)



تتم آلية تأثير جذر الهيدروكسيل بثلاث طرق مختلفة، حيث يمكن أن ينتزع إلكترون، ذرة هيدروجين أو يلتصق بالروابط الثنائية. يمكن أن تكون أهدافه البيولوجية مركبات عضوية أو غير عضوية مثل ADN والبروتينات والدهون والأحماض الأمينية والسكريات والمعادن (Halliwell وGutteridge، 2015).

### 2.1.2. الأنواع النتروجينية النشطة

ينتج جذر أكسيد الآزوت (NO•) في الأنسجة البيولوجية بواسطة إنزيم nitric oxide synthase من أكسدة الحمض الأميني L- arginine إلى citrulline. يلعب NO• أدوارا فيزيولوجية مهمة حيث يعتبر كناقل عصبي ومنظم للضغط الدم واسترخاء العضلات الملساء، كما يلعب دور جد مهم في آليات الدفاع المناعي. يملك جذر الآزوت ذوبانية في الأوساط المائية والدهنية يجعله أكثر انتشارا في السيتوبلازم والأغشية الخلوية (Valko وآخرون، 2007). يمكن لهذا الجذر أن يتفاعل مع O<sub>2</sub><sup>•-</sup> خلال التفاعلات الالتهابية لإنتاج كميات معتبرة من أيون (peroxynitrite) ONOO•<sup>-</sup>؛ (التفاعل 7) الذي يعتبر من أكثر الجذور المؤكسدة للجزيئات البيولوجية خاصة الدهون منها وADN (Carr وآخرون، 2000).



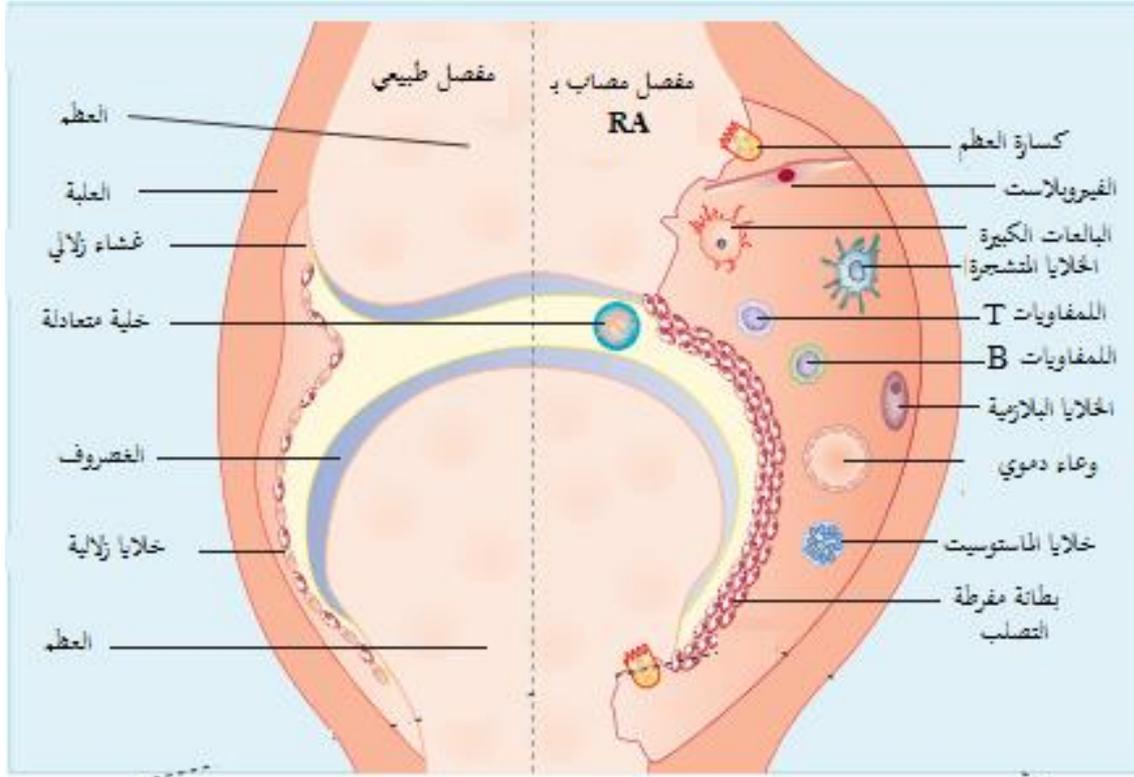
### 3. التهاب المفاصل الرثوي

يعتبر التهاب المفاصل الرثوي (RA) واحدا من بين أكثر الأمراض المزمنة شيوعاً، تم صياغة مصطلح التهاب المفاصل الرثوي لأول مرة سنة 1859 من طرف Garrod (Cope، 2019). يعرف RA على أنه مرض مناعي ذاتي مزمن والتهابي يصيب المفاصل (Smolen وآخرون، 2018)، يتميز بالتهاب وتورم الغشاء الزلالي على مستوى المفاصل وإنتاج الأجسام المضادة الذاتية وتآكل الغضروف والعظم (الشكل 5)؛ (McInnes و Schett، 2011). يمكن أن يمس RA كذلك مناطق خارج مفصلية نذكر منها: العينين والفم والرئتين والقلب (Iqbal وآخرون، 2019).

#### 1.3. انتشار التهاب المفاصل الرثوي

يصيب RA الإناث أكثر من الذكور حيث لوحظ أن الإناث لديها استعداد لتطويع المرض من مرتين إلى ثلاث مرات أكثر من الذكور. يمكن أن يصيب RA جميع الأجناس، بلغت نسبة الإصابة بـ RA من 0.5 إلى 1% من مجموع سكان العالم (0.6% في الولايات المتحدة الأمريكية). تظهر الإصابة بهذا المرض بشكل عام في منتصف العمر وهو أكثر انتشاراً عند البالغين الأكبر سناً، لكن يمكن أن يتطور المرض أيضاً عند الأطفال والبالغين الأقل سناً (Iqbal وآخرون، 2019). تكون نسبة الإصابة بـ RA ثابتة بين سني 45 و70 سنة لكنها يمكن أن ترتفع بزيادة العمر حتى العقد السابع. الفرق في الإصابة بالمرض عند الجنسين تكون في السن الأقل من 50 سنة (Cope، 2019).

في الجزائر قدرت نسبة الإصابة بـ RA في حدود 0.15% من مجموع السكان البالغين، حيث يبلغ عدد الأشخاص المصابين بهذا المرض حوالي 30000 شخص (Slimani وآخرون، 2014).



الشكل 5: مقارنة بين مفصل طبيعي ومفصل مصاب بالتهاب المفاصل الرثوي (Smolen وآخرون، 2016).

## 2.3. أسباب التهاب المفاصل الرثوي

تبقى الأسباب الحقيقية لالتهاب المفاصل الرثوي غير معروفة، إلا أنه يحتمل أن يكون انطلاق المرض نتيجة عوامل وراثية أو عامل الجنس أو عوامل بيئية.

### 1.2.3. العوامل الوراثية

تلعب العوامل الوراثية دوراً مهماً في الإصابة وتطور RA، حيث لوحظ أن التوأم الحقيقي يكون معرض للإصابة بهذا المرض بنسبة 12 إلى 15% وبنسبة 2 إلى 5% عند التوأم غير حقيقي أو الأقارب من الدرجة الأولى مقارنة بـ 1% بالنسبة لعامة السكان. تشير هذه النسب إلى أن RA مرض متعدد

الجينات وأن هناك أيضا عوامل غير وراثية تساهم في الإصابة بهذا المرض (Narayan و Taylor، 2018).

الارتباط الوراثي الأكثر أهمية لوحظ مع المورثات التي تشفر إلى معقد التوافق النسيجي قسم II (the human MHC (major histocompatibility complex) عند الإنسان تعرف بـ HLA (human leukocyte antigen))، التي يتم التعبير عليها على سطح الخلايا العارضة للمستضد (APC). تشكل HLA-DR أكثر من 40% من خطر الإصابة بـ RA، هذا راجع لوجود المنطقة HLA-DRB1 (HLA-DRB1\*0401، DRB1\*0404، DRB1\*0405، DRB1\*0101 و DRB1\*0102). كما لوحظ أن الأليل HLA-DR4 يتواجد عند 70% من الأشخاص المصابين بـ RA مقارنة بـ 30% عند الأشخاص العاديين.

تتميز جزيئه HLA المشفرة بهذه الاليات أنها تحتوي على منطقة مشتركة من الأحماض الأمينية بين الموقعين 70 و 74 على مستوى السلسلة  $\beta$  تعرف باسم 'shared epitope'، التي تتواجد على مستوى موقع ربط المستضد (McInnes و Firestein، 2017). تملك المنطقة المشتركة دورا في انطلاق الاستجابة المناعية الذاتية وهذا راجع إلى وجود اضطراب وظيفي في التعرف على المستضدات مما ينتج عنه ربط مستضدات ذاتية أو محيطية.

### 2.2.3. العوامل البيئية

تلعب العديد من العوامل البيئية دورا جد مهما في تحفيز وتطور الإصابة بـ RA، من بين أهم العوامل البيئية نذكر:

## أ- عامل الجنس

لوحظ أن النساء أكثر عرضة للإصابة بـ RA من مرتين إلى ثلاث مرات مقارنة بالرجال، بالإضافة إلى ذلك قدرت نسبة الإصابة بهذا المرض بحوالي 3.6% عند النساء و1.7% عند الرجال. يمكن أن ترجع هذه النسب المرتفعة عند النساء إلى التأثيرات التحفيزية لهرمون Oestrogen على الجهاز المناعي.

عادة ما يزيد عدم الإنجاب عند النساء من خطورة الإصابة بـ RA، بينما تتميز مرحلة الحمل بانخفاض في حدة المرض لترتفع بعد الولادة. يصيب RA النساء بشكل كبير في منتصف العمر وعند بلوغ سن اليأس. بينما يظهر المرض لاحقاً عند الرجال وهم أكثر عرضة أن يكونوا ايجابيين العوامل الرئوية (Rheumatoid factors :RFs) والأجسام المضادة الموجهة ضد بروتين citrullinated (Anticitrullinated protein antibodies :ACPAs)؛ (Smolen وآخرون، 2018).

## ب- التدخين

يزيد تدخين السجائر من خطر الإصابة بـ RA مع مضاعفة نسبة الإصابة عند الأشخاص الذين لديهم 20 سنة من التدخين مقارنة بالأشخاص الغير المدخنين. لوحظ أن التدخين يزيد من إنتاج السيتوكينات المحفزة للالتهاب كما يزيد من نشاطية مرض RA. ترتبط الزيادة في المخاطر المتعلقة بالتدخين مع بعض التعديلات على مستوى الجينات حيث لوحظ أن التدخين يرتبط بشكل كبير بنقص الميثلة على مستوى بعض المناطق من ADN، في حين أن العلاج بالعقاقير المضادة للالتهاب المفاصل الرثوي المعدلة للمرض (Disease-modifying antirheumatic drug : DMARD) تسبب فرط في عملية الميثلة في نفس المناطق. دلت الدراسات أن العناصر الغير نيكوتينية المستنشقة من دخان السجائر تزيد من خطر الإصابة بـ RA في حين لا تملك مكونات التبغ هذا التأثير. وبالرغم من كل الأبحاث، فإن العلاقة بين التدخين وRA لا تزال طور البحث لأن العديد من الدراسات أفرزت عن نتائج متناقضة (Calabresi وآخرون، 2018).

## ج- العوامل المعدية

يوجد على مستوى سطح المخاطية في تجويف الفم والجهاز التنفسي العلوي والأمعاء مستعمرات من الكائنات الدقيقة، يمكن لهذه الأخيرة أن تحفز استجابة مناعية فطرية أو مكتسبة التي تؤدي إلى الإصابة بـ RA. أظهرت العديد من الدراسات وجود علاقة بين التهاب اللثة و RA الذي يكون سببه بكتيريا *Porphyromonas gingivalis*. أشارت كذلك الدراسات التي أجريت على الكائنات الدقيقة المتواجدة على مستوى الأمعاء في حالة الإصابة بـ RA على وجود انتشار كبير لبكتيريا *Prevotella copri* مقارنة بالأشخاص الطبيعيين (Taylor و Narayan، 2018).

أثبتت الدراسات أن بعض العوامل المعدية يمكن أن تسبب الإصابة بـ RA نذكر منها: parvovirus B19، Epstein-Barr virus (EBV)، retroviruses، alphaviruses، hepatitis B، *Proteus mirabilis*، *Escherichiacoli*، *Mycobacterium tuberculosis*، virus و *Mycoplasma*.

يمكن أن ينتقل parvovirus B19 عبر الجهاز التنفسي كما يمكن أن ينتقل من الأم إلى الجنين. التهاب المفاصل الناتج عن الإصابة بـ parvovirus B19 عادة ما يكون متناظر، يصيب في البداية المفاصل الصغيرة كاليدنين والمعصمين والركبتين وينتشر بصورة كبيرة عند الإناث مقارنة بالذكور (Kobayashi وآخرون، 2008). يمكن لفيروس EBV أن يتسبب في الإصابة بـ RA. حيث دلت الدراسات على تواجد تشابه في المنطقة المشتركة للـ HLA-DRB1 و غليكوبروتين EBV، بالإضافة إلى ذلك تم الكشف على تواجد الحمض النووي DNA للـ EBV في الخلايا أحادية النواة في دم الأشخاص المصابين بـ RA عشر مرات أكثر من الأشخاص الطبيعيين، كما تم العثور على فيروس EBV في السائل الزلالي للأشخاص المرضى بـ RA مما يدل على أن هذا الفيروس يلعب دور مهم في الإصابة بهذا المرض (Silman و Oliver، 2006).

### 3.3. تشخيص التهاب المفاصل الرثوي

من الصعب تشخيص RA لأنه يشترك في العديد من المظاهر والعلامات مع الأمراض الروماتيزمية الأخرى، لكن يمكن للمعايير المستعملة في تصنيف هذا المرض أن تساهم في عملية التشخيص. أهم الأعراض التي تظهر على الأشخاص المصابين بـ RA ألم على مستوى العديد من المفاصل وتصلب مفصلي في الصباح وتورم وإصابة متناظرة في العديد من المفاصل (إصابة كلتا اليدين وكلتا الركبتين...). قد يظهر كذلك عند الأشخاص المصابين فقدان في الوزن والحمى والتعب، بالإضافة إلى هذه الأعراض الفيزيائية فقد تم تسجيل تحسن في التشخيص المخبري لهذا المرض وهذا بالاعتماد على الكشف الدقيق للعديد من المؤشرات الحيوية مثل بروتين المفاعل C (C-reactive protein) ((CRP)) و معدل ترسب كريات الدم الحمراء (erythrocyte sedimentation rate (ESR)) وتواجد الأجسام المضادة الذاتية (ACPA و RF)؛ (Iqbal وآخرون، 2019).

تم في سنة 60 الأخيرة اقتراح العديد من معايير التصنيف الخاصة بمرض RA التي تم استعمالها بشكل واسع. في سنة 1956 وضعت الجمعية الأمريكية للروماتيزم ((ARA)) American Rheumatism Association)، التي أصبحت تعرف الآن باسم الكلية الأمريكية للأمراض الروماتيزمية ((ACR)) (American College of Rheumatology) لأول مرة المعايير المستعملة للتشخيص مرض RA. أجريت بعد ذلك تعديلات في عديد المرات على هذه المعايير حتى سنة 2010، تم وضع معايير جديدة (جدول 2) بالتعاون بين ACR والرابطة الأوروبية ضد الروماتيزم ((EULAR)) Rheumatism (European League Against).

#### 1.3.3. التحاليل المخبرية

يظهر عادة عند الأشخاص المصابين بـ RA زيادة في مستويات ESR و CRP. لكن تبقى هذه المؤشرات وحدها غير كافية. ترتبط مستويات CRP مع درجة خطورة المرض. يمكن أن تستعمل مؤشرات الطور

الحاد بعد بدأ العلاج من أجل تتبع تطورات المرض. بالإضافة إلى هذه المؤشرات فإنه يتم تقدير كل من RF و ACPA من أجل الكشف الجيد على هذا المرض ( Badghaish وآخرون، 2018).

**الجدول 2:** معايير تصنيف RA التي وضعت من قبل ACR و EULAR سنة 2010 (Alivernini وآخرون، 2019).

عدد النقاط	الأشخاص المستهدفين: الأشخاص الذين يظهر عندهم: - على الأقل مفصل واحد مصاب بانتفاخ. - أن لا يكون سبب الانتفاخ مرض آخر.
<b>أ- المفاصل المصابة</b>	
0	- إصابة مفصل كبير واحد
1	- إصابة من 2 إلى 10 من المفاصل الكبيرة
2	- إصابة من 1 إلى 3 من المفاصل الصغيرة
3	- إصابة من 4 إلى 10 من المفاصل الصغيرة
5	- إصابة أكثر من 10 مفاصل (على الأقل مفصل واحد صغير)
<b>ب- نتائج التحاليل المصلية</b>	
0	- RF و ACPA سلبية
2	- RF و ACPA ايجابية
3	- RF و ACPA ايجابية بشكل كبير
<b>ج- مؤشرات الطور الحاد</b>	
0	- CRP و ESR في المعدلات الطبيعية
1	- CRP و ESR مختلفة عن المعدلات الطبيعية
<b>د- مدة ظهور علامات المرض</b>	
0	- أقل من 6 أسابيع
1	- أكثر من 6 أسابيع

- يعرف الشخص أنه مصاب بـ RA إذا كان مجموع النقاط  $\leq 10/6$  المفاصل الكبيرة تشمل كل من مفاصل الكتفين، المرفقين، الوركين، الركبتين والكاحلين.

- المفاصل الصغيرة تتمثل في مفاصل اليدين، مفاصل الرجلين والمعصمين.

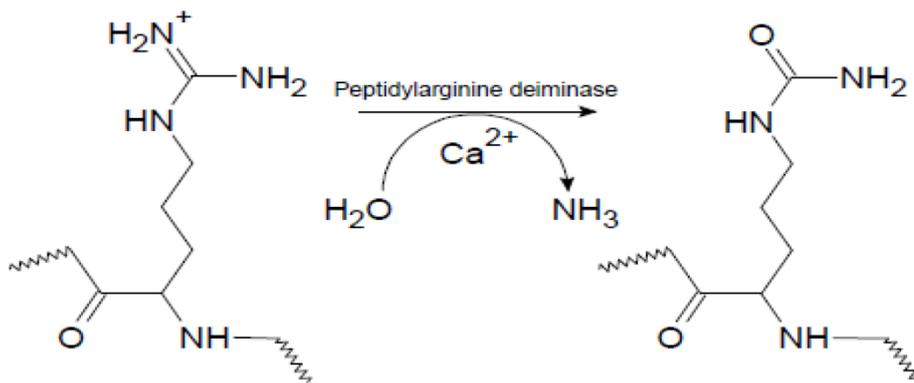
تعتبر RF أجسام مضادة موجهة ضد القطعة الثابتة من الجسم المضاد IgG. قدرت RF في مصل الأشخاص المصابين بـ RA بحوالي 85%. دلت الأبحاث على أن كل من RF و ACPA تملك نفس الحساسية (حوالي 67%) لكن ACPA جد متخصصة مقارنة بـ RF (95% و 85% على الترتيب). أظهرت نتائج التحاليل المخبرية لحوالي 20% من الأشخاص المصابين بـ RA أنهم سلبي RF و ACPA، يعرف هؤلاء المرضى بالأشخاص المصابين بـ RA ذو مصل سلبي (Byram وآخرون، 2020).

### أ- العوامل الرثوية (RF)

تم اكتشاف RF لأول مرة سنة 1940، وتم استعمالها منذ ذلك الحين في اختبار المصل من أجل الكشف عن RA. تكون RF في أغلب الحالات من النمط IgM، كما يمكن أن تكون من النمط IgG و IgA. تم الكشف عن RF في حوالي 75 إلى 80% من الأشخاص المصابين بـ RA. المستويات المرتفعة من IgM RF تساهم بشكل كبير في تشخيص RF. يمكن للـ RF أن تحفز الالتهاب وهذا بتنشيط مستقبلات FC على سطح الخلايا وحيدة النواة وتحفيز إنتاج السيتوكينات المحفزة للالتهاب مثل  $TNF-\alpha$ ، يمكن كذلك للمعقد المناعي الناتج عن RF أن ينشط المتممة وبالتالي تحفيز الالتهاب (Taylor و Narayan، 2018).

### ب- الأجسام المضادة للـ citrullinated بروتين (ACPs)

يقصد بمصطلح citrullination تحويل السلسلة الجانبية للحمض الأميني الأرجينين المتواجد في البروتينات إلى peptidyl citrulline عن طريق الأنزيم peptidylarginine deiminase (PADs) enzymes؛ (الشكل 6).



شكل 6: عملية تحويل الحمض الأميني الأرجينين إلى citrulline (Citrullination).

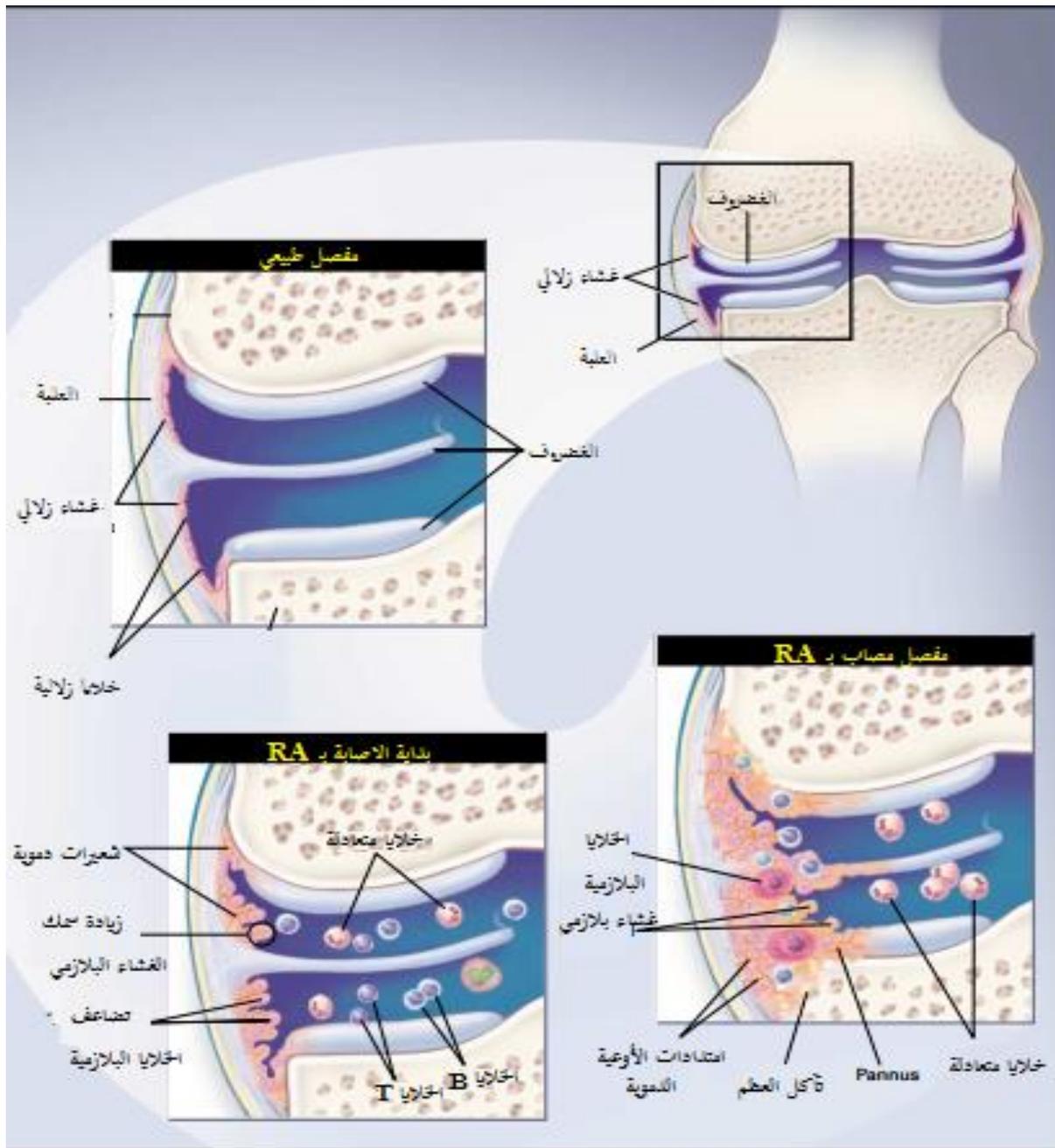
تلعب هذه العملية دور جد مهم في العديد من الظواهر الفيزيولوجية الطبيعية داخل الجسم نذكر مثلا أنها تساهم في تشكيل بويصلات الشعر وتمايز البشرة. هذه التغييرات البسيطة التي حدثت للحمض الأميني يمكن أن تؤدي إلى ظهور محدد مستضدي جديد يختلف عن ذلك المعروف عند الجهاز المناعي، هذا ما يؤدي إلى تحفيز استجابة مناعية ضد البيبتيد الذي تمت له عملية citrullinated (Nakken وآخرون، 2017). تتعرف ACPA على العديد من البروتينات التي حدثت لها تغييرات بعد الترجمة عن طريق الأنزيم PAD مثل: fibrinogen والكولاجين I وII والعديد من البروتينات الأخرى. ACPA عبارة عن أجسام مضادة موجهة ضد البيبتيدات الذي تمت لها عملية citrullinated يمكن أن تكون من النوع IgM، IgG أو IgA (Derksen وآخرون، 2017).

لوحظ عند الأشخاص المصابين بـ RA أن ACPA تكون موجهة ضد fibrinogen، filagrine، keratine و vimentin. تعتبر ACPA من الأجسام المضادة الذاتية التي تظهر بشكل مبكر في RA، كما أنها تظهر عند حوالي 80% من المرضى مع تخصص جد مرتفع يقدر بـ 99% (Arunachalam، 2014).

### 4.3. الفيزيولوجيا المرضية لالتهاب المفاصل الرثوي

بالرغم من أن الأسباب الدقيقة للـ RA مازالت غير معروفة لحد الآن إلا أن دراسة فيزيولوجيا المرض حققت تقدماً في السنوات الأخيرة. يعتبر التهاب الغشاء الزلالي السبب الرئيسي في تخريب البنية المفصالية، يمتد هذا الغشاء الملتهب عبر الغضروف مما يؤدي إلى تشكل pannus. تمر الإصابة بـ RA بالعديد من المراحل المعقدة تشمل كل من مرحلة البداية، تجمع الخلايا المناعية، الالتهاب والمرحلة الأخيرة التي تتمثل في تخريب المفاصل.

يتكون الغشاء الزلالي الطبيعي من نسيج ضام يتكون من طبقة واحدة من الخلايا الزلالية المتجاورة، يمكن أن تكون خلايا فيبروبلاست (دورها تغذية الغضروف) أو عبارة عن خلايا بالعة (تلعب دور البلعمة). يبدأ تخريب المفاصل في مرض RA بتنشيط وتضاعف خلايا الفيبروبلاست والخلايا البالعة الزلالية بعد التحفيز (الشكل 7)، عن طريق تفاعلات المناعة الذاتية أو العوامل المعدية (Muller و Rindfleisch، 2005). تعتبر هاتين الخليتين المصدر الرئيسي للسيتوكينات والإنزيمات الحالة، حيث تفرز الخلايا البالعة مجموعة مختلفة من السيتوكينات المحفزة للالتهاب نذكر منها: IL-1 و IL-6 و TNF. تفرز خلايا الفيبروبلاست IL-6 كما أنها تتميز بإنتاج كمية معتبرة من الإنزيمات المعدنية الحالة للبروتينات (matrix metalloproteinases (MMPs) والوسائط الالتهابية مثل prostaglandins و leukotrienes (Smolen وآخرون، 2018). تتميز كذلك بداية مرض RA بتسلل الخلايا الدموية البيضاء عبر بطانة الغشاء الزلالي. يحتوي الغشاء الزلالي الملتهب عند الأشخاص المصابين بهذا المرض على خلايا المناعة الطبيعية (خلايا وحيدة النواة، خلايا الماستوسيت والخلايا المتشجرة) وخلايا المناعة المكتسبة (الخلايا T والخلايا B). يتم تنظيم التفاعل الالتهابي على مستوى الغشاء الزلالي عن طريق شبكة معقدة من السيتوكينات و chemokine، من بين أهم هذه الوسائط نذكر TNF، IL-6 وعامل تحفيز مستعمرات الخلايا البالعة المحببة (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor).



الشكل 7: فيزيولوجيا مرض RA (Choy و Panayi، 2001).

تعمل السيتوكينات و chemokine على تحفيز وزيادة التفاعل الالتهابي عن طريق تنشيط الخلايا البطانية وجذب الخلايا المناعية إلى موقع الالتهاب. ينتج عن تنشيط خلايا الفيبروبلاست، خلايا وحيدة النواة، الخلايا البالعة، الخلايا T والخلايا B تحفيز خلايا تعرف باسم كسارة العظم (osteoclast) المسؤولة عن إتلاف العظم. تنشط هذه الأخيرة عن طريق مستقبلات تعرف باسم receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL)، تتواجد هذه المستقبلات على سطح خلايا الفيبروبلاست، الخلايا T والخلايا B. في حين تتواجد المستقبلات RANK على سطح الخلايا البالعة، الخلايا المتشجرة وطلائع الخلايا الكاسرة للعظم (Iqbal وآخرون، 2019).

ينتج عن الزيادة المفرطة في سمك الغشاء الزلالي أضرار كبيرة على مستوى الغضروف من خلال الالتصاق والضغط. تنشط خلايا الفيبروبلاست تحت تأثير الوسائط الالتهابية، حيث تفرز هذه الأخيرة إنزيمات MMPs المسؤولة عن تخریب الغضروف. بالإضافة إلى ذلك وتحت تأثير السيتوكينات (IL-1 و IL-17) والجذور الأزوتية يتم التخلص من الخلايا الغضروفية عن طريق الموت الخلوي المبرمج (Guo وآخرون، 2018).

### 5.3. علاج التهاب المفاصل الرثوي

الهدف الأول من علاج مرض RA هو التخلص من الالتهاب، في حالة عدم وجود العلاج الكافي يمكن للمريض أن يطور إعاقة غير رجعية. من بين الأدوية الكلاسيكية التي كانت تستعمل في علاج RA نذكر: aspirin و colloidal gold، هذه الأدوية تقلل من أعراض المرض لكنها لا تبطئ بشكل كبير أو تنقص من تقدم المرض. تتميز Steroids بتحسن سريع لأعراض المرض لكن الاستعمال المطول لهذه الأدوية يؤدي إلى العديد من الأضرار الجانبية (ارتفاع الضغط الدموي، السكري....). أستعمل Cyclosporine كذلك في علاج هذا المرض لكن لوحظ أنه لم يكن فعال عند بعض المرضى مع وجود العديد من الآثار الجانبية. فيما بعد تم إدراج مضادات الالتهاب الغير الستيرويدية مثل Naproxen و Ibuprofen كعلاج

فعال للـ RA. تعمل هذه الأدوية على تخفيف الآلام والتورم وصلابة المفاصل كما أنها تحسن من الوظائف الفيزيائية للمريض، لكن لا يمكنها إيقاف عملية تخریب المفاصل، حالياً لم تعد هذه الأدوية تستعمل بشكل كبير (Iqbal وآخرون، 2019).

في الآونة الأخيرة انتشر بشكل واسع علاج جد متطور يهدف إلى الحد من تطور المرض يعرف باسم DMARDs (disease-modifying antirheumatic drugs)، تعمل هذه الأدوية عن طريق تثبيط الالتهاب مما يؤدي إلى الحد من الأضرار التي تلحق بالمفاصل. تقسم DMARDs إلى مجموعتين أساسيتين تعرف باسم DMARDs البيولوجية وDMARDs المصنعة (الجدول 3). تقسم DMARDs المصنعة إلى قسمين التقليدي والموجهة، تستعمل DMARDs المصنعة التقليدية بشكل واسع على الرغم من أن آلية تأثير هذه الأدوية مزال غير معروف بشكل جيد، في حين تعتمد آلية عمل DMARDs المصنعة الموجهة عن طريق التأثير على أهداف جد محددة خلال التفاعل الالتهابي (مثل Tofacitinib وBaricitinib التي تعمل على تثبيط إنزيم Janus kinase (JAK)). تعتمد DMARDs البيولوجية كذلك على نفس آلية العمل، حيث يمكن أن تكون موجهة ضد TNF، IL-6، الخلايا T أو الخلايا B (Badghaish وآخرون، 2018).

الجدول 3: الأدوية الحديثة المستعملة في علاج RA (Smolen و Aletaha، 2018).

التصنيف	اسم الدواء	الجزئية المستهدفة	الآثار الجانبية
	Methotrexate (10-25 مغ / أسبوع)	غير معروفة	الغثيان، التهاب الفم، ارتفاع مستوى إنزيمات الكبد وانخفاض مستوى نقي العظام.
DMARDs	Sulfasalazine (2-4 غ / اليوم)	غير معروفة	تفاعلات فرط الحساسية (خاصة على مستوى الجلد)، إسهال والغثيان.
المصنعة التقليدية	Leflunomide (20 مغ/اليوم)	Dihydroorotate dehydrogenase	إسهال، ارتفاع ضغط الدم، ارتفاع مستوى إنزيمات الكبد، تفاعلات فرط الحساسية وانخفاض مستوى الكريات الدموية البيضاء.
	Chloroquine/ Hydroxychloroquine (250 مغ/اليوم)/(400 مغ/اليوم)	غير معروفة	اختلال شبكية العين الذي قد يؤدي إلى فقدان البصر.
DMARDs المصنعة الموجهة	Tofacitinib (10 مغ /اليوم)	JAK 1.2.3	الإصابة بالأمراض المعدية، إعادة تنشيط مرض السل، فقر الدم، ارتفاع مستوى الدهون في الدم وتزيد من مستويات إنزيم phosphokinase creatine
	Baricitinib (2-4 مغ/اليوم)	JAK 1.2	
DMARDs البيولوجية	Etanercept (50 مغ / أسبوع)		
أ- بيولوجية المنشأ	Infliximab (3-10 مغ/8 أسابيع)		
	Adalimumab (40مغ/أسبوعين)	TNF	الإصابة بالأمراض المعدية، إعادة تنشيط مرض السل، تغيرات جلدية صدفية، سرطان الجلد وتفاعلات على مستوى موقع الحقن
	Golimumab (50مغ/الشهر)		
	Certolizumab (200مغ/أسبوعين)		
	Tocilizumab (162مغ/أسبوع)		
	Sarilumab (150-200مغ/أسبوعين)	مستقبلات IL-6	الإصابة بالأمراض المعدية، إعادة تنشيط مرض السل، أضرار على مستوى الأمعاء، ارتفاع مستوى الدهون في الدم وتفاعلات فرط الحساسية

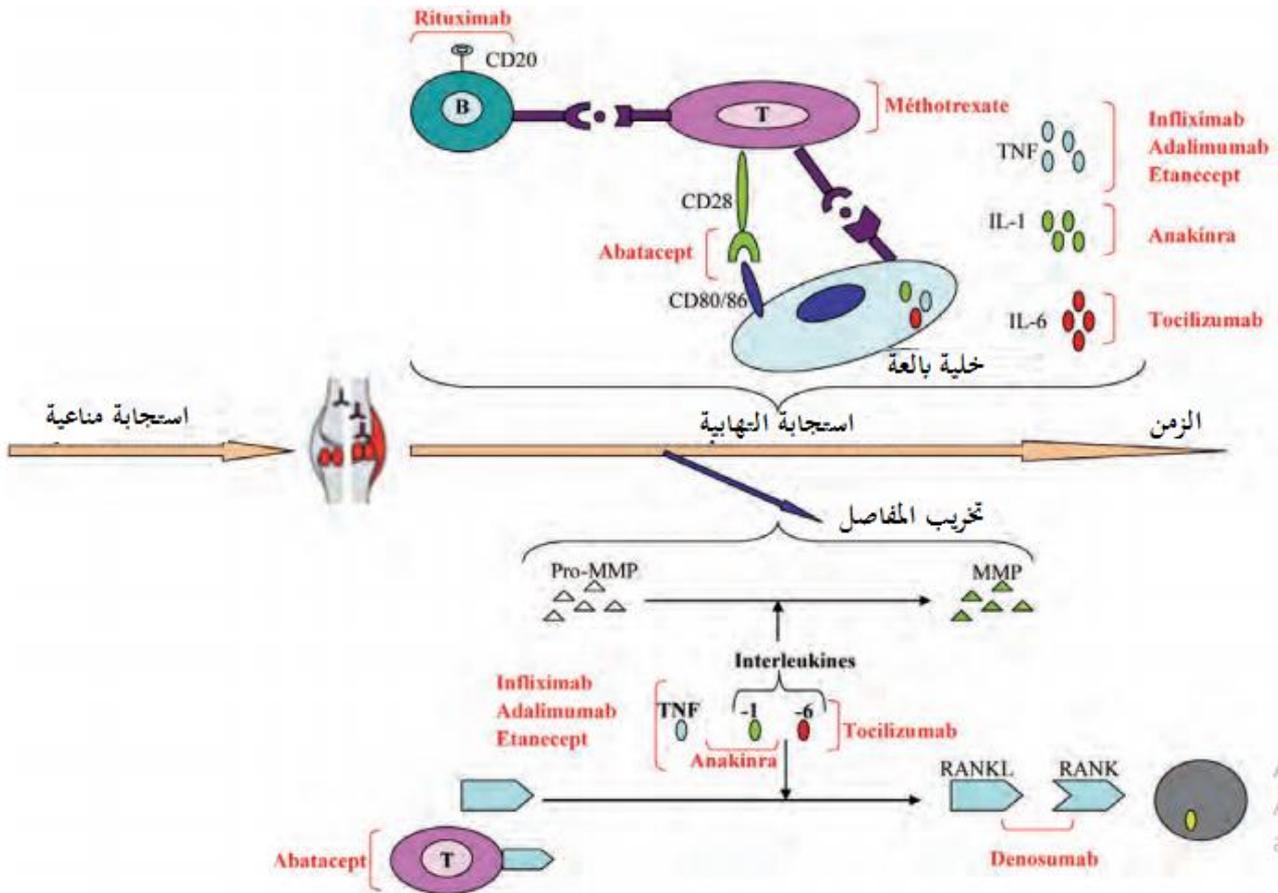
يتبع الجدول 3

تفاعلات فرط الحساسية، الالتهاب الكبدى B ونقص الكريات الدموية البيضاء	CD20 على سطح الخلايا B	Rituximab (1000مغ/6 أشهر)
الإصابة بالأمراض المعدية، إعادة تنشيط مرض السل وتفاعلات على مستوى موقع الحقن	مساعدات التحفيز CD80/86	Abatacept (125مغ/أسبوع)
الإصابة بالأمراض المعدية، إعادة تنشيط مرض السل وتفاعلات على مستوى موقع الحقن	TNF	Etanercept
		Infliximab
		Adalimumab
		Rituximab
	CD20 على سطح الخلايا B	

### 1.5.3 آلية تأثير DMARDs

تؤثر DMARDs المصنعة التقليدية عبر العديد من الآليات المختلفة. يعتبر Methotrexate الخيار الأول المستعمل بكثرة في علاج RA، هذا راجع إلى فعاليتها الممتازة في التخفيف والحد من نشاطية المرض عند 30 إلى 40% من المرضى، بالإضافة إلى سلامتها وسميتها المعروفة ( Littlejohn و Monrad، 2018). يحفز Methotrexate تحرير adenosine من خلايا الفيبروبلاست، يخفض التصاق الخلايا المتعادلة، يثبط إنتاج leukotrieneB4 من الخلايا المتعادلة، يثبط إنتاج IL-1، يخفض من مستويات IL-6 و IL8، يمنع التعبير عن مورثات إنزيم collagenase. من ناحية أخرى تعتبر DMARDs البيولوجية جد متخصصة من حيث آلية التأثير، من بين أهم طرق تأثيرها تدخلها في إفراز السيتوكينات أو وظائفها، تثبيط الإشارة الثانية اللازمة لتنشيط الخلايا T وتثبيط العوامل اللازمة لتنشيط الخلايا B (Rituximab و Belimumab)؛ (الشكل 8)؛ (Benjamin و Lappin، 2019).

Tofacitinib عبارة عن جزيئه صغيرة، تتمثل آلية تأثيرها في تثبيط JAK (عبارة عن إنزيم من نوع tyrosine kinase يتدخل في نقل الإشارة المحفزة عن طريق السيتوكينات)؛ (Lappin و Benjamin، 2019).



الشكل 8: آلية تأثير DMARDs خلال مرض RA (Ghozani وآخرون، 2012).

### 2.5.3. النباتات الطبية المستعملة في علاج RA

استخدمت النباتات الطبية منذ العصور القديمة من طرف الإنسان في علاج العديد من الأمراض. تم استعمال هذه النباتات بالاعتماد على تجارب الأطباء في النظام الطبي القديم لأكثر من مئات السنين، حيث دلت الدراسات أن الإنسان استخدم النباتات الطبية في العلاج منذ أكثر من 60000 سنة (Choudhary وآخرون، 2015). في الوقت الحالي يعتمد من 60 إلى 70% من سكان العالم في علاج الأمراض على الطب التقليدي الذي أصبح يعرف باسم الطب البديل أو الطب الشعبي. تعتبر النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي هي المصدر الرئيسي للأدوية الحديثة (Saluja وآخرون، 2015)، حيث أنها تعتبر مصدر لعدد كبير من العناصر الحيوية النشطة التي تملك تأثير علاجي مهم، طور عدد كبير منها إلى أدوية تستعمل عبر جميع أنحاء العالم في علاج العديد من الأمراض مثل الأمراض الالتهابية، أمراض المناعة الذاتية، الأمراض المعدية والسرطان (Zündorf وFurst، 2015).

ينتشر بشكل كبير استعمال النباتات الطبية في علاج الأمراض الروماتيزمية، حيث أشارت دراسة حديثة في الولايات المتحدة الأمريكية أن 90% من الأشخاص المصابين بالتهاب المفاصل يعتمدون على الأدوية البديلة مثل النباتات الطبية (Zhang وآخرون، 2012).

## *Tamus communis* L. .4

**1.4. التصنيف:** تم تصنيف النبتة بالاعتماد على Caddick وآخرون (2002).

المملكة: Plantae

الشعبة: Spermatophytae

تحت الشعبة: Angiospermae

الفصيلة: Monocotylédoneae

الرتبة: Liliales

العائلة: Dioscoreaceae

الجنس: *Tamus*

النوع: *Tamus communis* L.

**2.4. الاسم الشائع:** في الجزائر تعرف نبتة *Tamus communis* L. باسم الكرمة السوداء.

باللغة الفرنسية: 'Tamier commun ، 'Herbe aux femmes battues ، 'haut liseron ، 'racine-

'vierge ، 'raisin du Diable ، 'sceau de Notre-Dame و 'vigne noire.

باللغة الانجليزية: 'black bryony ، 'lady seal ، 'murain berry ، 'beaten woman's herb و 'wild

.wine

باللغة الايطالية: 'tamaro ، 'catal ، 'corriola de cavall ، 'gatmimo ، 'maimo ، 'marimo

و 'iragest.

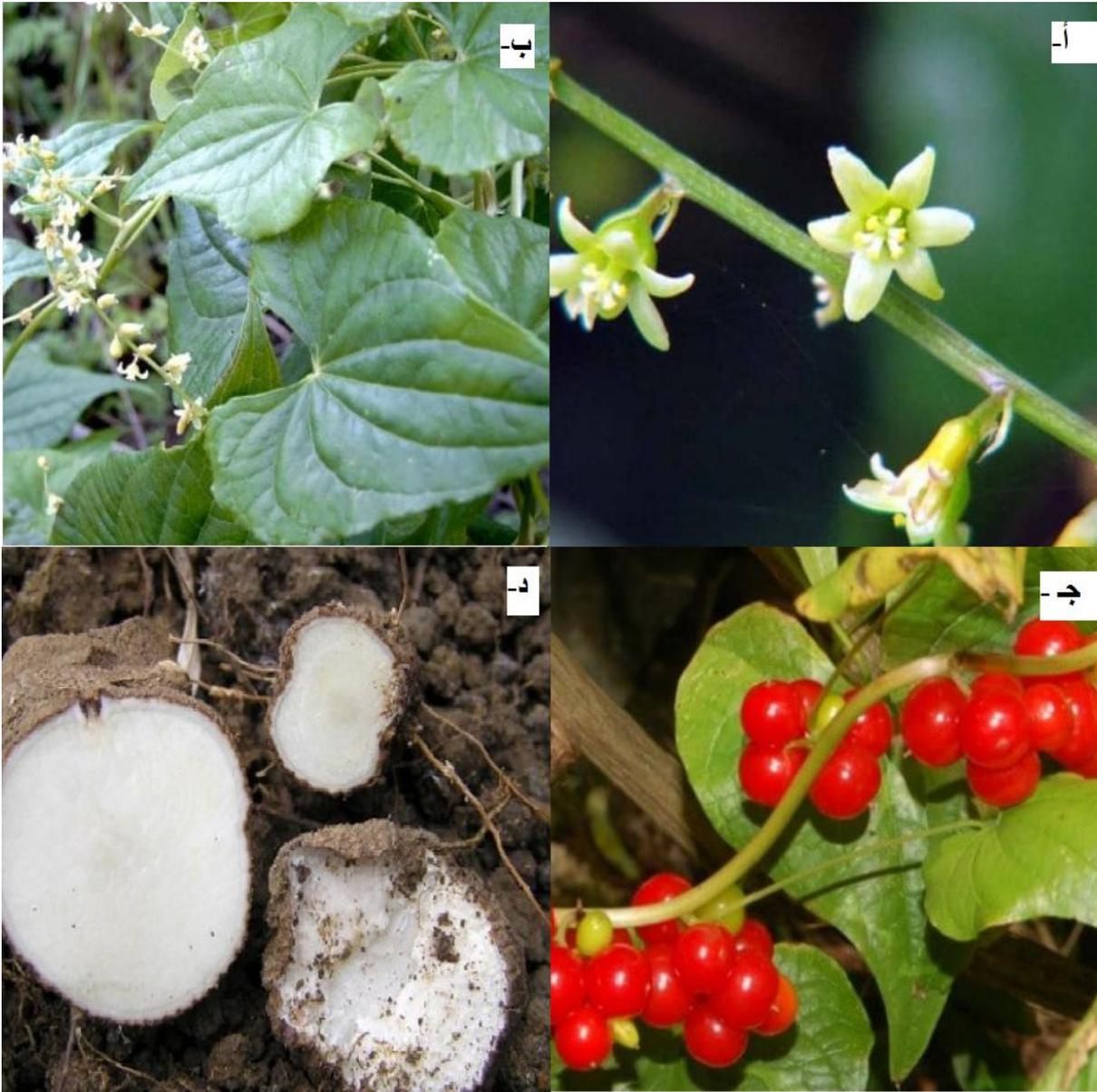
باللغة الاسبانية: 'naueza negra.

- الاسم اللاتيني: *Tamus communis* L. ومن الأسماء المرادفة لها *st lager Tamus baccifera* ، *Dioscorea* و *Tamus racemosa gouan* ، *Tamus cretica* L. ، *Tamus cordifolia* stokes *communis* (Rameau وآخرون، 2008).

### 3.4. وصف النبتة

تصنف نبتة *T. communis* من النباتات المعمرة، عبارة عن نبات متسلق ينتشر بشكل كبير في الجبال المنخفضة، الحواجز والغابات خاصة في التربة الجيرية. أغصانها نحيلة ورفيعة متسلقة تلتف حول نباتات أخرى التي تشكل دعامة لها، يمكن أن يصل ارتفاعها حتى أربعة أمتار (Aubin، 1982). *T. communis* عبارة عن نبات منفصل الجنس (dioecious)، حيث تحمل الزهور الأنثوية على غصن وتحمل الزهور الذكورية على غصن مختلف، تزهر في شهري مارس وأفريل، أزهارها ذات لون أخضر مصفر مكونة من ستة فصوص متساوية في كل زهرة (الشكل 9-أ)، مرتبة على شكل تكتلات كثيفة وممتدة على الأغصان عند الذكور في حين تكون قليلة وقصيرة عند الإناث. يتم تلقيحها عن طريق الحشرات وتنقل بذورها بواسطة الحيوانات. أوراقها رفيعة وناعمة ذات لون لامع، مدببة الأطراف على شكل قلب (الشكل 9-ب)؛ (Rameau وآخرون، 2008). تتضج ثمارها بين شهري سبتمبر ونوفمبر صغيرة الحجم، مستديرة حمراء اللون عند النضج. يتراوح قطرها ما بين 10 إلى 12 مم تبقى ثابتة على طول الغصن بعد سقوط الأوراق (الشكل 9-ج)؛ (Botineau، 2015).

جذور نبتة *T. communis* عبارة عن درنات يصل طولها حتى 20 سم (نادرا 60 سم)، بيضاوية الشكل غير منتظمة، لونها أسود من الخارج بيضاء اللون في الداخل (الشكل 9-د)؛ (Aubin، 1982).



الشكل 9: نبتة *Tamus communis* L.؛ أ- الأزهار؛ ب- الأوراق؛ ج- الثمار؛ د- الجذور

([https://www.gastronomiac.com/glossaire\\_des\\_produits/tamier/](https://www.gastronomiac.com/glossaire_des_produits/tamier/))

#### 4.4. الانتشار الجيوغرافي

ترجع أصول نبتة الكرمة السوداء إلى أوروبا وآسيا و شمال إفريقيا. تنمو في التلال والمرتفعات التي يبلغ علوها حتى 1200 م (Botineau، 2015). تنتشر نبتة *T. communis* بكثرة في بريطانيا العظمى، جنوب أوروبا والوسط الجنوبي والغربي (Tutin، 1972). تنتشر كذلك في كل من آسيا (إيران، العراق)؛ (Al-Khateeb وآخرون، 2012) وشمال إفريقيا حيث تتواجد في المغرب، تونس والجزائر.

#### 5.4. الاستعمال في الطب التقليدي

تستعمل كل أجزاء النبتة في الطب التقليدي في علاج العديد من الأمراض، حيث تستعمل الجذور في علاج الأمراض الروماتيزمية على شكل ضمادة أو يمكن أن تستعمل بطريقة مباشرة عن طريق التدليك، تستعمل كذلك من أجل التخلص من الكدمات (Botineau، 2015). تتميز الجذور بنشاطية مطهرة ومدرة للبول ومقيئة ومضادة لانحلال كريات الدم الحمراء، كما ينصح بها في علاج ذات الجنب، السعال الديكي والتهاب الشعب الهوائية (Capasso وآخرون، 1982). كما تستعمل في علاج عرق النساء، آلام الظهر والأمراض الجلدية (Moult وShmidt، 1982).

تملك ثمار *T. communis* نشاطية مضادة للالتهاب، حيث توضع على الجلد من أجل التخلص من الآلام الناتجة عن الأمراض الروماتيزمية (Lucia وGuarrera، 2007).

من الشائع في الطب التقليدي أن جذور و ثمار نبتة *T. communis* تسبب احمرار الجلد. تستعمل المستخلصات المحضرة من الجذور والثمار في معالجة التقرحات التي تظهر في اليدين نتيجة انخفاض درجة الحرارة (Al-Khateeb وآخرون، 2012).

## 6.4. التركيب الكيميائي

أثبتت دراسات الكيمياء النباتية أن *T. communis* تحتوي على العديد من المركبات مثل glycosides (Kovács وآخرون، 2007)، sterols ( $\beta$ -sitosterol)، furostane، spirostane، stigmasterol و campesterol) والعديد من الفلافونويدات مثل Diosgenin (Guarrera و Lucia، 2007)، glycosylated kaempferol و quercetin ومشتقات hydroxycinnamoyl (chlorogenic acid) تعتبر هذه المركبات مسؤولة عن النشاط المضاد للالتهاب (Barros وآخرون، 2011). بالإضافة إلى ذلك فإنها تحتوي على hydroxy/alkoxy-substituted phenanthrenes و dihydrophenanthrenes (Reisch وآخرون، 1969).

دلت الدراسات على جذور *T. communis* على وجود كمية كبيرة من calcium oxalate على شكل حلقات بالإضافة إلى مركبات تملك نشاطية مشابهة للهيستامين التي تعتبر مسؤولة عن حساسية الجلد عند اللمس (Shmidt و Moul، 1982).

## 7.4. السمية

تستعمل جذور نبتة *T. communis* تقليدياً في علاج الكدمات، لكن فرك جذور هذه النبتة على الجلد يمكن أن يتسبب في تهيج البشرة، هذا راجع لاحتوائها على مركبات تملك نشاطية مشابهة للهيستامين. حالياً أصبح استعمالها غير مرغوب فيه وهذا راجع للأثار السلبية الناجمة عند الاستعمال (Shmidt و Moul، 1982).

دلت الدراسات المخبرية على أن steroid glycosides و phenanthrenes المستخرجة من جذور *T. communis* تملك سمية على الحيوانات التجريبية (Kovács وآخرون، 2007). كما أن استهلاك هذه

النبتة عند الإنسان يسبب التهاب في البطانة الداخلية للفم، الحلق، الأمعاء والمعدة، يمكن أن يؤدي استهلاك كمية كبيرة منها إلى الموت (Duke، 2002).

## 8.4. النشاطية البيولوجية

دلت دراسات سابقة على أن مستخلصات نبتة *T. communis* تحتوي على مشتقات phenanthrene، furostane glycosides، spirostane، الفلافونويدات، الستيرويدات و glucans (Küçükboyacı) وآخرون، (2015). أظهرت الدراسات التي قام بها Aquino وآخرون (1991) أن مشتقات phenanthrene تملك نشاطية مضادة للفيروسات في الدراسة التي أجريت على فيروس التهاب الفم الحويصلي والفيروس الأنفي البشري نمط B1، كما أنها تتميز بنشاطية مضادة للأورام (Kovács وآخرون، 2007). تتميز نبتة *T. communis* بنشاطية مضادة للأكسدة يمكن ارجاع هذه النشاطية الى الفلافونويدات التي تحتويها هذه النبتة (Boumerfeg وآخرون، 2009؛ Shaheen وآخرون، 2009؛ Küçükboyacı وآخرون، 2015). كما أنها تملك نشاطية مضادة للبكتيريا (Küçükboyacı وآخرون، 2015).

تبين من خلال الدراسة التي قام بها Capasso وآخرون (1983) على أن المستخلص الايثانولي المحضر من جذور للكرمة السوداء يملك نشاطية مسكنة للألم ونشاطية مضادة للالتهاب في نموذج وذمة القدم المحفز بـ Carrageenan. في حين أظهرت دراسة أخرى ان كل من المستخلص الايثانولي والمائي المحضر من الجزء الهوائي وجذور النبتة لا تملك أي نشاطية مضادة للالتهاب في نفس النموذج (Kupeli وآخرون، 2007).

## 1. النبتة

تم اختيار نبتة *Tamus communis* L. (الكرمة السوداء) في هذه الدراسة انطلاقاً من استعمالها الشائع في الطب التقليدي في علاج الأمراض الروماتيزمية. جلبت جذور النبتة من منطقة بوقاعة، شمال ولاية سطيف سنة 2014. تم التعرف عليها وتصنيفها من طرف الأستاذ الدكتور بشير أوجحيج، جامعة باتنة. قطعت الجذور إلى قطع صغيرة، تركت لتجف في درجة حرارة المختبر تحت الظل ثم طحنت وخرنت في الظلام حتى وقت الاستعمال.

## 2. الحيوانات

الحيوانات المستعملة في هذه الدراسة عبارة عن إناث الجرذان *Wistar albino* يتراوح وزنها بين 150 و170 غ وإناث الفئران *Swiss albino* يتراوح وزنها ما بين 25 إلى 30 غ. تم الحصول على هذه الحيوانات من "معهد باستور الجزائر". وضعت الحيوانات في أقفاص خاصة، مع وفرة الماء والغذاء الذي جلب من الديوان الوطني لتغذية الأنعام (ONAB) بالقصر، ولاية بجاية. تركت الحيوانات للتأقلم مع الظروف المخبرية أسبوعاً قبل الاستعمال حيث تضبط درجة الحرارة ما بين 20 إلى 22°م والرطوبة ما بين 50 إلى 70% ودورة إضاءة 12/12 ساعة في اليوم.

## 3. الطرق

### 1.3. الاستخلاص

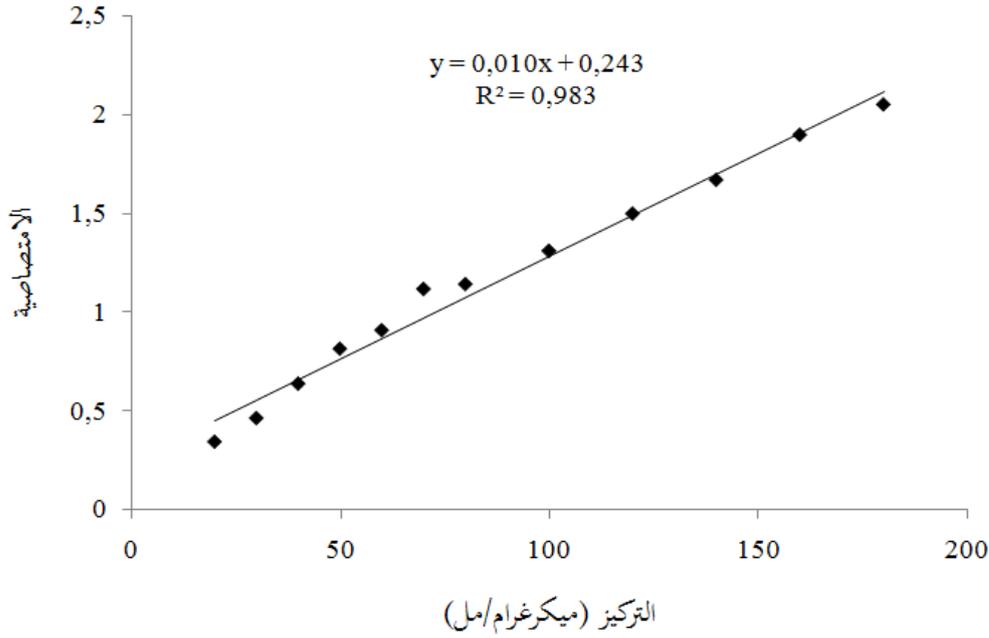
تم استخلاص المركبات النباتية باستعمال الميثانول حسب Arrar وآخرون (2013) وAouachria وآخرون (2017). تعتمد هذه الطريقة على وضع 2 كغ من مسحوق جذور النبتة المخفف في 10 لتر من

الميثانول، تترك لمدة أسبوع في درجة حرارة الغرفة، يرشح الخليط باستعمال ورق الترشيح. يعاد الاستخلاص لمدة خمسة أيام. يعرض الخليط المتحصل عليه للتبخير والتركيز باستعمال جهاز rotavapor. يجفف المستخلص النهائي في درجة حرارة 40°م، ثم يحفظ في درجة حرارة 4°م حتى وقت الاستعمال.

### 2.3. تقدير عديدات الفينول الكلية

تم استعمال Folin-Ciocalteu لتقدير عديدات الفينول الكلية للمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* (Boussoualim وآخرون، 2015). يتكون محلول Folin-Ciocalteu من حمض فوسفوموليبيديك ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) وحمض فوسفوتنغستيك ( $H_3PW_{12}O_{40}$ )، ينتج عن إرجاع Folin في الوسط القاعدي بواسطة المركبات الفينولية مزيج أزرق اللون يتكون من أكسيد التونغستين ( $W_8O_{23}$ ) والموليبيدين ( $Mo_8O_3$ ).

تعتمد هذه التقنية على وضع 100 ميكرو لتر من العينة في أنبوب الاختبار ثم إضافة 500 ميكرو لتر من كاشف Folin-Ciocalteu المخفف 10 مرات في الماء. بعد 4 دقائق تضاف 40 ميكرو لتر من كربونات الصوديوم 7.5%. يحضن الخليط النهائي في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة ونصف، تقاس بعدها امتصاصية الخليط في طول موجة 765 نانومتر. في هذا الاختبار ومن أجل تحديد تركيز عديدات الفينول، تم إنشاء المنحنى العياري باستعمال حمض الغاليك بتركيز بين 20 - 180 ميكروغرام/مل (الشكل 10). يعبر عن النتائج بعدد المليغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف من المستخلص (مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من المستخلص).

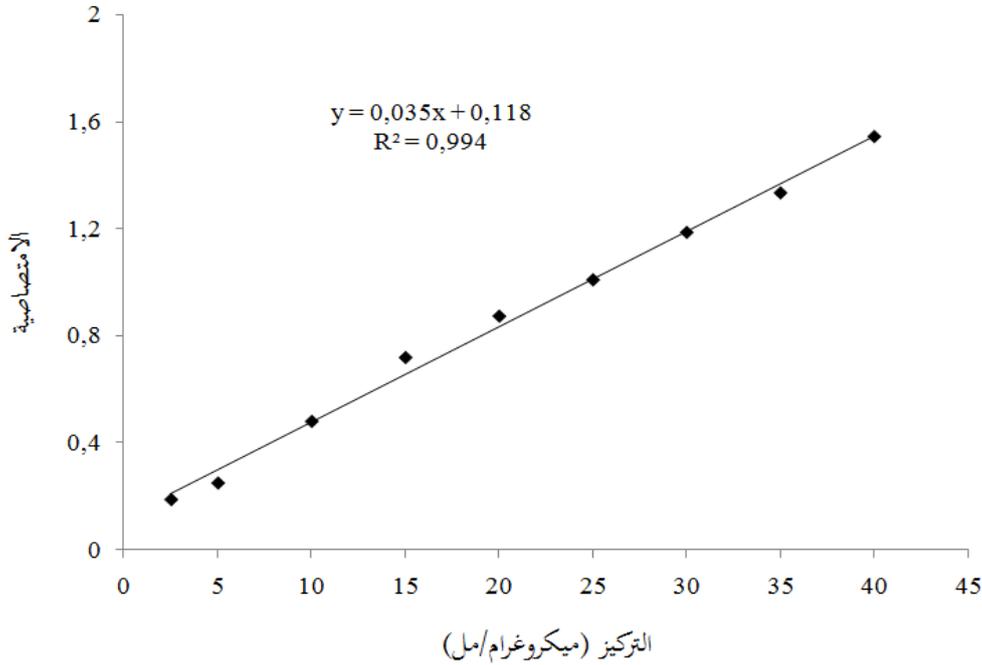


الشكل 10: منحنى العيارية لحمض الغاليك المستعمل لتقدير عديدات الفينول الكلية في المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis*.

### 3.3. تقدير كمية الفلافونويدات

تم تقدير كمية الفلافونويدات الموجودة في المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بطريقة ثلاثي كلورور الألومنيوم ( $AlCl_3$ )؛ (Boussoualim وآخرون، 2015). تعتمد هذه التقنية على تشكل رابطة تكافؤية بين  $AlCl_3$  ومجاميع الهيدروكسيل في الفلافونويدات التي ينتج عنها لون أصفر.

يضاف 1 مل من محلول ثلاثي كلورور الألومنيوم المذاب في الميثانول بتركيز 2% إلى 1 مل من المستخلص الميثانولي، ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 10 دقائق. بعد فترة التفاعل تقاس الامتصاصية في طول موجة 430 نانومتر. ويتم حساب تركيز الفلافونويدات انطلاقاً من المنحنى العياري للكركستين (2 – 40 ميكروغرام/مل)؛ (الشكل 11). يعبر عن النتائج بعدد الملغرامات المكافئة من الكركستين لكل غرام من المستخلص الجاف للنبته (مغ مكافئ للكركستين/غ من المستخلص).

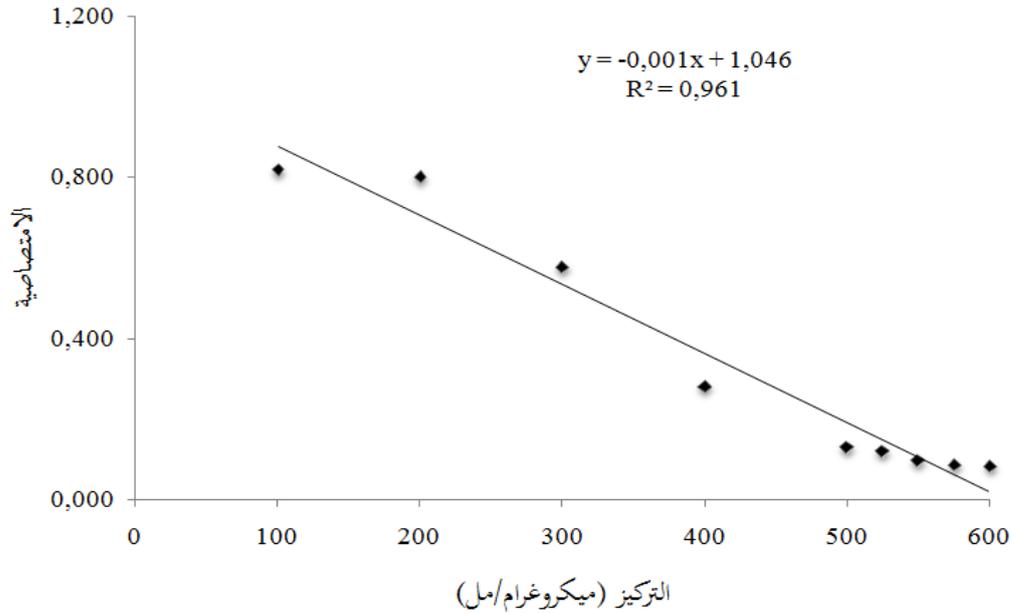


الشكل 11: منحنى العيارية للكروستين المستعمل لتقدير الفلافونويدات في المستخلص الميثانولي لنبته

*T. communis*

### 4.3. تقدير كمية الدباغ الكلية

تم تقدير كمية الدباغ الموجودة في المستخلص النباتي بالاعتماد على خاصية ترسيب الهيموغلوبين الذي تتميز به الدباغ (Gharzouli وآخرون، 1999؛ Bouaziz وآخرون، 2014). تعتمد هذه التقنية على إضافة حجم من الدم إلى نفس الحجم من المستخلص (تركيز مناسب). بعد الحضان لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة يعرض الخليط للتردد المركزي بسرعة 4000 دورة/د لمدة 10 دقائق، تتم قراءة امتصاصية الجزء الطافي عند طول موجة 576 نانومتر. يستعمل حمض التانيك (100-600 ميكروغرام/مل) لرسم منحنى العيارية (الشكل 12). ويتم التعبير عن النتائج بعدد الميليغرامات المكافئة لحمض التانيك لكل غرام من وزن المستخلص الجاف (مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من المستخلص).



الشكل 12: منحنى المعايرة لحمض التانيك لتقدير كمية الدباغ الكلية في المستخلص الميثانولي لنباتة *T. communis*

### 5.3. النشاط المضاد للأكسدة

#### 1.5.3. التأثير الإزاحي باستعمال اختبار DPPH

يعتبر DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) من أكثر الطرق استعمالاً في تقدير تأثير الإزاحة للمركبات الفينولية والمستخلصات النباتية، حيث يتم إرجاع جذر DPPH ذو اللون البنفسجي الداكن بمركبات مزيحة للجذور الحرة إلى 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazine الذي يتميز باللون الأصفر (Aouachria وآخرون، 2017). يضاف 50 ميكرو لتر من مختلف التراكيز المحضرة للمستخلص النباتي إلى 1250 ميكرو لتر من DPPH (يحضر بتركيز 0.004 % في الميثانول)، ترج الأنابيب وتحضن لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة وفي الظلام. ثم تقاس الامتصاصية عند طول

موجة 517 نانومتر. تتم مقارنة النتائج المتحصل عليها مع مركب BHT. تحسب نسبة إزاحة جذر DPPH للمستخلص (% I) كالتالي:

$$\% I = 100 \times (Ac - Ae) / Ac$$

حيث: Ac: امتصاصية الشاهد (الخالي من المستخلص)، Ae: الامتصاصية في وجود المستخلص.

يتم حساب التركيز المثبط لـ 50% من نشاطية جذر DPPH ( $IC_{50}$ ) للمستخلص من خلال منحنى نسب التثبيط (% I) بدلالة تركيز المستخلص.

### 2.5.3. اختبار $\beta$ -carotene/linoleic acid

تقدر النشاطية المضادة للأكسدة في هذا الاختبار بقياس قدرة المستخلص على تثبيط البيروكسيدات الناتجة من أكسدة حمض اللينولييك (Kartal وآخرون، 2007). باختصار يتم إذابة 0.5 مغ من  $\beta$ -carotene في 1 مل من الكلوروفورم، ثم يضاف لها 25 ميكرو لتر من حمض اللينولييك و200 مغ من Tween 40 مع الرج. يتم التخلص من الكلوروفورم بشكل نهائي عن طريق التبخير عند درجة الحرارة 40 م° في جهاز rotavapor. تضاف 100 مل من الماء المقطر المشبع بالأكسجين (يحقن الماء بغاز الأكسجين لمدة ساعة قبل الاستعمال) مع تحريك الخليط بشدة. في الأخير نأخذ 2.5 مل من الخليط المحضر سابقا ويوضع في أنابيب الاختبار، يضاف إليه 350 ميكرو لتر من المستخلص المحضر بتركيز 2 مغ/مل. نستعمل BHT كشاهد موجب في حين نستعمل الميثانول والماء كشاهدان سالبان. تحضن الأنابيب في درجة حرارة المخبر وفي الظلام. تقاس امتصاصية المحاليل في طول موجة 490 نانومتر بعد ساعة ثم بعد ساعتين، 4 ساعات، 6 ساعات، 24 ساعة و48 ساعة. تقارن النشاطية المضادة للأكسدة للعينات مع BHT والشواهد السالبة. يتم حساب النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية (% AA) حسب المعادلة التالية:  $AA: 100 \times A_t/A_0$  حيث:  $A_t$  الامتصاصية في الأوقات المختلفة،  $A_0$ : الامتصاصية في الساعة 0.

## 6.3. النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا

### 1.6.3. تثبيط تخريب بروتينات الألبومين المصلية

قدرت النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا بالاعتماد على تقنية تثبيط تخريب بروتينات الألبومين المصلية للبقر (Bovine serum albumin :BSA) بالحرارة المرتفعة (72°م). تم تقدير هذه النشاطية بإتباع الطريقة المعتمدة من طرف Chandra وآخرون (2012) مع بعض التعديلات. تعتمد هذه التقنية على تحضير تراكيز مختلفة في الماء المقطر من المستخلص و Diclofenac الذي استعمل كمييار للمقارنة. يتم تحضير المحلول المنظم Tris-HCl بإذابة 1.2114 غ من Tris (0.02 مولر) في 500 مل من الماء المقطر، يضبط pH على 6.6 بواسطة HCl. يحضر محلول BSA بتركيز 2% بإذابة 2 غ من BSA في 100 مل من المحلول النظامي.

يتم تحضير ثلاث مجموعات مختلفة من أنابيب الاختبار، حيث يوضع في أنابيب المجموعة الأولى 0.5 مل من كل تركيز من مستخلص *T. communis* و 0.5 مل من محلول BSA، أما في المجموعة الثانية فيحتوي كل أنبوب على 0.5 مل من Diclofenac و 0.5 مل من محلول BSA، أما أنابيب المجموعة الثالثة فتعتبر كشاهد وتحتوي على 0.5 مل من محلول BSA و 0.5 مل من الماء المقطر. يتم حضان العينات في درجة حرارة 37°م لمدة 20 دقيقة ثم توضع في حمام مائي (72°م) لمدة 5 دقائق. تترك الأنابيب لتبرد وتُقاس الامتصاصية في طول الموجة 660 نانومتر. يمثل الشاهد نسبة 100% من البروتينات المخربة. تقارن النتائج المحصل عليها مع Diclofenac. يتم حساب نسبة تثبيط تخريب بروتينات BSA (% I) بواسطة المستخلص الميثانولي و Diclofenac حسب العلاقة:

$$\% I = 100 \times (Ac - Ae) / Ac$$

حيث Ac: امتصاصية الشاهد و Ae: امتصاصية العينة.

### 2.6.3. تثبيط تخريب بروتينات ألبومين البيض

تم الاعتماد في هذا الاختبار على الطريقة المتبعة من قبل Kumari وآخرون (2015) مع بعض التعديلات، حيث يتم استخلاص الألبومين من بياض بيضة دجاج طازجة. يحضر محلول من ألبومين البيض بخلط 1 مل من بياض البيض في 99 مل من محلول الفوسفات النظامي (Phosphate-: PBS) buffered saline ذو pH = 6.6. تحضر تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي لـ *T. communis* و Diclofenac في مجموعة من أنابيب الاختبار حيث يوضع في كل أنبوب 2 مل من محلول الألبومين و 100 ميكرو لتر من كل تركيز. يحضر الشاهد بإضافة 100 ميكرو لتر من الماء المقطر إلى 2 مل من محلول الألبومين. تحضن الأنابيب في درجة الحرارة 37°م لمدة 20 دقيقة ثم في درجة الحرارة 70°م لمدة 5 دقائق. تترك الأنابيب لتبرد وتقاس الامتصاصية في طول الموجة 660 نانومتر. يتم حساب نسبة تثبيط تخريب بروتينات ألبومين البيض بنفس الطريقة المستعملة مع بروتينات الألبومين المصلية. يرسم المنحنى العياري الذي يمثل نسبة التثبيط بدلالة التراكيز المختلفة لكل من *T. communis* و Diclofenac. انطلاقاً من هذا المنحنى يتم حساب IC<sub>50</sub> (الجرعة التي تثبط تخريب 50% من بروتينات ألبومين البيض) لكل من *T. communis* و Diclofenac.

### 7.3. اختبار سمية المستخلص الميثانولي

بغرض إجراء مختلف الدراسات التجريبية على الحيوانات تم اختبار سمية نبتة الكرمة السوداء. اعتمدنا في هذه الدراسة على المبادئ التوجيهية لمنظمة التعاون الاقتصادي والتنمية (OECD-423): (Organisation for economic Cooperation and Development)؛ (2001). تم اختيار مجموعة مكونة من ثلاث فئران سليمة حيث تم إعطاء الفئران جرعة 5 مغ/كغ من مستخلص النبتة عن طريق المسلك الشفوي وتمت مراقبتها لمدة 3 أيام. في حالة موت فأرين أو ثلاثة فإن الجرعة المعطاة تعتبر سامة، في حين إذا سجل موت فأر واحد فيتم إعادة التجربة مرة ثانية من أجل تأكيد السمية. في حالة

لم يمّت أي فأر يتم إعادة التجربة ولكن بجرعات مرتفعة (50، 300 و2000 مغ/كغ) ويتم مراقبة ظهور أعراض السمية على الفئران مثل تغيير السلوك، فقدان الوزن، الحركة والموت.

### 8.3. النشاطية المضادة للالتهاب عند الكائن الحي

#### 1.8.3. تحفيز وذمة الأذن بواسطة الكزيلان

قدرت النشاطية المضادة للالتهاب في هذا النموذج بالاعتماد على الطريقة المتبعة من قبل Xiao-Li وآخرون (2013) مع بعض التعديلات. تم تقسيم الفئران إلى 5 مجموعات (تحتوي كل مجموعة 5 فئران) كالآتي:

**المجموعة 1:** مجموعة الشاهد غير المعالجة، أعطيت لها جرعة من الماء المقطر فقط.

**المجموعة 2:** مجموعة الشاهد المعالجة، أعطي لها Diclofenac كمضاد التهاب مرجعي بجرعة 30 مغ/كغ.

**المجموعات 3، 4 و5:** عولجت هذه المجموعات بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ، على الترتيب.

عولجت جميع الفئران بمختلف الجرعات عن طريق الفم (gavage) وبعد ساعة تم تحفيز الالتهاب الجلدي عن طريق وضع 20 ميكرو لتر من الكزيلان على الواجهة الداخلية للأذن اليمنى لكل الفئران باستعمال ماصة دقيقة. تم قياس سمك الأذن اليمنى قبل وبعد ساعة من تحفيز الوذمة عن طريق القدم القنوية. تم حساب نسبة تثبيط الزيادة في سمك الوذمة (%I) مقارنة مع مجموعة الشاهد الغير معالجة حسب العلاقة التالية:

$$\%I = 100 \times (\Delta Ot - \Delta Oe) / \Delta Ot$$

حيث:

$\Delta Ot$ : الفرق في سمك الأذن بالنسبة لمجموعة الشاهد الغير معالجة قبل وبعد تحفيز الودمة.

$\Delta Oe$ : الفرق في سمك الأذن بالنسبة للمجموعات المعالجة قبل وبعد تحفيز الودمة.

### 2.8.3. تحفيز ودمة الأذن بزيت Croton

أعتمدنا في هذا الاختبار على الطريقة المتبعة من قبل Wang وآخرون (2008) مع بعض التعديلات. أستعمل في هذا النموذج فئران إناث من سلالة *Swiss albino*. تم تحفيز الالتهاب الجلدي عن طريق وضع 20 ميكرو لتر من خليط الأسيطون-ماء (1:1) يحتوي على 80 ميكرو غرام من زيت Croton على الواجهة الداخلية للأذن اليمنى لكل الفئران باستعمال ماصة دقيقة. تم إعطاء مختلف الجرعات عن طريق المسلك الشفوي ساعة قبل المعاملة بزيت Croton. قسمت الحيوانات التجريبية إلى 5 مجموعات تحتوي كل منها على خمسة فئران كالاتي:

**المجموعة 1:** مجموعة الشاهد غير المعالجة، يعطى لها فقط جرعة من الماء.

**المجموعة 2:** مجموعة الشاهد المعالجة، يعطى لها Diclofenac بجرعة 60 مغ/كغ.

**المجموعات 3، 4 و 5** عولجت بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بجرعات 150، 300 و 600 مغ/كغ، على الترتيب.

تم قياس سمك الأذن اليمنى لكل فأر بواسطة القدم القنوية قبل إعطاء مختلف الجرعات وبعد 6 ساعات من تحفيز الالتهاب. تم حساب نسبة تثبيط الزيادة في سمك الودمة (%I) مقارنة مع مجموعة الشاهد غير المعالجة بنفس الطريقة المستعملة في نموذج الكزيلان.

### 3.8.3. تحفيز وذمة القدم بـ Carrageenan

استعمل في هذا الاختبار جرذان إناث من نوع *Wistar albino*. اعتمد في هذه الدراسة على الطريقة المتبعة من طرف Buodonpri وآخرون (2009) مع بعض التعديلات. قسمت الجرذان إلى خمسة مجموعات (كل مجموعة من 5 جرذان) كالاتي:

**المجموعة 1:** مجموعة الشاهد غير المعالجة، أعطت لها جرعة من الماء المقطر فقط.

**المجموعة 2:** مجموعة الشاهد المعالجة، التي يعطى لها Diclofenac بجرعة 10 مغ/كغ.

**المجموعات 3، 4 و5:** عولجت بالمستخلص الميثانولي بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ، على الترتيب.

تم تحفيز الوذمة بحقن 0.1 مل من Carrageenan (محضر بتركيز 1% في المحلول الفيزيولوجي: 0.9% NaCl) تحت الجلد في القدم اليمنى لكل جرذ. تم قياس سمك القدم اليمنى قبل ثم بعد 1، 2، 3، 4، 5 و6 ساعات من حقن Carrageenan. يم إعطاء مختلف الجرعات العلاجية عن طريق المسلك الشفوي ساعة قبل حقن Carrageenan وتم حساب نسبة تثبيط الزيادة في سمك الوذمة (I %) حسب العلاقة التالية:

$$\% I = 100 \times (Dt - Do) / Do$$

حيث:  $Dt$ : سمك القدم في الساعات المختلفة بعد حقن Carrageenan و  $Do$ : سمك القدم قبل حقن

Carrageenan.

### 4.8.3. تحفيز وذمة القدم بالدكستران

اعتمد في هذه الدراسة على الطريقة المتبعة من طرف de Carvalho وآخرون (2013) حيث استعمل في هذا الاختبار جرذان إناث من نوع *Wistar albino*. قسمت هذه الحيوانات إلى خمسة مجموعات من 5 جرذان، تم إعطاء مختلف الجرعات العلاجية بنفس الطريقة المتبعة في نموذج Carrageenan. عولجت الحيوانات بمختلف الجرعات العلاجية عن طريق المسلك الشفوي ساعة قبل تحفيز الوذمة بحقن 0.1 مل من الدكستران (محضر بتركيز 1.5% في المحلول الفيزيولوجي) تحت الجلد في القدم اليمنى لكل حيوان. تم قياس سمك القدم اليمنى لكل جرذ قبل ثم بعد 1، 2، 3 و4 ساعات من حقن الدكستران. تم حساب نسبة تثبيط الزيادة في سمك الوذمة (%I) حسب نفس العلاقة المستعملة في نموذج Carrageenan.

### 9.3. النشاطية المضادة للتهاب المفاصل

#### 1.9.3. التهاب المفاصل المحفز بالفورمالين

اعتمدنا في تحفيز التهاب المفاصل على الطريقة المتبعة من طرف Akindele و Adeyemi (2007) مع بعض التعديلات. يحفز الالتهاب المزمن عن طريق حقن إناث الجرذان من السلالة *Wistar albino* بـ 0.1 مل من formaldehyde (2.5% في المحلول الفيزيولوجي) تحت الجلد في القدم اليمنى في اليوم الأول والثالث من الدراسة. قسمت الجرذان إلى خمسة مجموعات (كل مجموعة من 5 جرذان) كالاتي:

**المجموعة 1:** مجموعة الشاهد الغير معالجة، يعطى لها فقط جرعة من الماء.

**المجموعة 2:** مجموعة الشاهد المعالجة، يعطى لها Aspirin كمضاد التهاب بجرعة 150 مغ/كغ.

تعالج المجموعة 3، 4 و5 بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بجرعة 150، 300 و600 مغ/كغ على الترتيب.

تم إعطاء الجرعات الخاصة بكل مجموعة ساعة قبل حقن الفورمالين ويومياً لمدة 10 أيام متتالية. تم قياس سمك القدم اليمنى لكل جرذ في اليوم الأول قبل تحفيز التهاب المفاصل ثم في الأيام 2، 4، 6، 8، و10 باستعمال القدم القنوية. تم حساب نسبة تثبيط الزيادة في سمك وذمة القدم (I %) حسب العلاقة التالية:

$$I = 100 \times (Dt - Do) / Do$$

حيث:  $Do$ : سمك القدم قبل التحفيز بالفورمالين؛  $Dt$ : سمك القدم في مختلف الأيام بعد التحفيز بالفورمالين.

### 2.9.3. التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل

تم تحفيز التهاب المفاصل بواسطة مساعد فروند الكامل (Adjuvant-induced arthritis : AIA) بالاعتماد على الطريقة التي وصفت مسبقاً من قبل Pan وآخرون (2015). أستعمل في هذا النموذج إناث الجرذان من السلالة *Wistar albino*. تم تحفيز التهاب المفاصل بحقن 0.1 مل من مساعد فروند الكامل (Complete Freund's adjuvant (CFA)) تحت الجلد في القدم اليمنى للجرذان تحت تأثير تخدير خفيف بواسطة Diethyl ether. تم تقسيم الحيوانات إلى 6 مجموعات من 6 جرذان كالاتي:

**المجموعة 1:** مجموعة الشاهد السليمة، يعطى لها جرعة من الماء فقط.

**المجموعة 2:** مجموعة الشاهد غير المعالجة (AIA) التي تحقن بـ 0.1 مل من CFA ويعطى لها جرعة من الماء.

**المجموعة 3:** مجموعة الشاهد المعالجة، تحقن بـ 0.1 مل من CFA وتعالج بـ Diclofenac بجرعة 3 مغ/كغ.

**المجموعة 4، 5 و6:** تحقن بـ 0.1 مل من CFA وتعالج بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بجرعة 150، 300 و600 مغ/كغ على الترتيب.

تم إعطاء مختلف الجرعات العلاجية عن طريق المسلك الشفوي مباشرة قبل تحفيز التهاب المفاصل وبشكل يومي لمدة 28 يوماً. وتم تقدير التأثير المضاد لالتهاب المفاصل بإتباع العديد من المعايير مثل Arthritic score وقياس سمك القدم في الأيام 1، 4، 8، 12، 16، 20، 24 و28. كما تم وزن الجردان في الأيام 1، 8، 16، 24 و28، وبحسب التغير في الوزن  $\Delta$  (غ) حسب العلاقة التالية:

$$\Delta \text{ (غ)} = \text{الوزن (في اليوم x)} - \text{الوزن الابتدائي (الوزن في اليوم الأول)}$$

### أ- قياس سمك القدم

من أجل تتبع تطور التهاب المفاصل تم قياس سمك القدم اليمنى لكل الجردان في اليوم الأول قبل حقن CFA، ثم بعد ذلك كل أربعة أيام حتى نهاية الدراسة باستعمال القدم القنوية (Bendele، 2011). تم حساب نسبة تثبيط الزيادة في سمك وذمة القدم بنفس الطريقة المستعملة في نموذج الفورمالين.

### ب- Arthritic score

تمت مراقبة أرجل الجردان كل أربعة أيام ابتداء من اليوم 8 بعد حقن CFA حتى نهاية الدراسة من أجل ملاحظة ظهور أعراض التهاب المفاصل. طُوِرَ نظام يعرف بـ Arthritic score من أجل تتبع تطور وحدة التهاب المفاصل، يحتوي هذا النظام على أربعة درجات (كل درجة تمثل بنقطة) تتعلق بتطور المرض حيث أن:

الدرجة 0: لا يوجد أي انتفاخ أو احمرار في القدم.

الدرجة 1: انتفاخ طفيف في مفاصل أصبع القدم.

الدرجة 2: انتفاخ معتدل في الركبة أو المعصم.

الدرجة 3: التهاب شديد في كامل القدم.

الدرجة 4: تشوه كلي للقدم.

يكون عدد النقاط الكلي في كل حيوان على الأكثر 8 (4 نقاط لكل قدم)؛ (Tang وآخرون، 2007).

### ج - مؤشر الكبد والطحال

عند نهاية التجربة في اليوم 28 يتم قتل كل الحيوانات التجريبية عن طريق فرط في التخدير، يتم استئصال كل من الكبد والطحال ووزنهما. تم حساب مؤشر الكبد والطحال بقسمة وزن هذه الأعضاء على وزن الجرد. يتم التعبير عن هذا المؤشر بـ مع/غ (Zhang وآخرون، 2004).

### د- معدل ترسيب كريات الدم الحمراء

في اليوم 28 قبل قتل الحيوانات التجريبية يتم سحب الدم من الوريد على مستوى العين (orbital venous) تحت التخدير باستعمال diethyl ether. تم قياس معدل الترسيب بالاعتماد على الطريقة المتبعة من قبل Cai وآخرون (2006) مع بعض التعديلات. تعتمد هذه الطريقة على مزج 120 ميكرو لتر من الدم الطازج مع 30 ميكرو لتر من sodium citrate (3.8%)، تمزج بشكل جيد ثم توضع في أنابيب دقيقة (أبعاد 1 مم × 100 مم). مباشرة توضع الأنابيب بشكل مائل بزاوية 45°، بعد 20 دقيقة يتم قياس معدل الترسيب باستعمال مسطرة ويعبر عن النتائج بالمليمتر.

## 10.3. إختبار الآلام المحفزة بحمض الخل

تم الاعتماد على نموذج الآلام المحفزة بواسطة حمض الخل (acetic acid) عند الفئران من أجل تقدير النشاطية المسكنة للألم للمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis*. تم تقدير هذه النشاطية بإتباع الطريقة المعتمدة من قبل Koster وآخرون (1959)، حيث تم حقن جميع الفئران بـ 0.1 مل من حمض الخل 0.6% داخل التجويف البطني (intra-peritoneal). يحفز حمض الخل التواء في جسم الفئران بسبب تقلصات على مستوى عضلات البطن بالإضافة إلى تمدد الجسم والأطراف الخلفية. قسمت الفئران إلى خمس مجموعات (كل مجموعة من 6 فئران) كالاتي:

المجموعة 1: مجموعة الشاهد غير المعالجة التي يعطى لها فقط جرعة من الماء.

المجموعة 2: مجموعة الشاهد المعالجة التي يعطى لها Aspirin بجرعة 200 مغ/كغ.

المجموعة 3، 4 و5: عولجت بالمستخلص الميثانولي بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ على الترتيب.

تم إعطاء مختلف الجرعات العلاجية عن طريق المسلك الشفوي ساعة قبل حقن حمض الخل. تم وضع

الفئران في الأقفاص بشكل فردي، وبعد الحقن بخمس دقائق يتم حساب عدد الالتواءات لكل فأر لمدة 25

دقيقة. يتم التعبير على النشاطية المسكنة للألم للمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* و Aspirin

عن طريق نسبة الانخفاض في عدد الالتواءات (C %)، التي يتم حسابها عن طريق العلاقة التالية:

$$\%C = 100 \times (NTn - Nt) / NTn \text{ ؛ حيث:}$$

$NTn$ : معدل عدد الالتواءات في مجموعة الشاهد غير المعالجة،  $Nt$ : معدل عدد الالتواءات في مجموعة

الشاهد المعالجة أو المجموعات المعالجة بـ *T. communis*.

### 11.3. التحليل الإحصائي

تم التعبير عن النتائج بالمتوسط الحسابي (X)  $\pm$  الانحراف المعياري (SD) بالنسبة لنتائج الدراسة

مخبرياً وبالمتوسط الحسابي (X)  $\pm$  متوسط الخطأ المعياري (SEM) بالنسبة لنتائج الدراسة على الكائن

الحي. استعمل برنامج Graphpad Prism (V. 7.0) في رسم المنحنيات البيانية والتحليلات

الإحصائية. حلت النتائج إحصائياً عن طريق اختبار Student واختبار One-way ANOVA،

Two-way ANOVA متبوعاً باختبار Dunnet. أعتبرت القيمة  $p \leq 0.05$  ذات دلالة إحصائية

معنوية مقارنة بالشاهد.

## 1. عديدات الفينول والفلافونويدات والدباغ

تتمتع النباتات الطبية حالياً بأهمية كبيرة وهذا لاحتوائها على العديد من المركبات الكيميائية المهمة التي يمكن أن تستعمل في تطوير أدوية جديدة. دلت الدراسات على أن معظم المركبات الكيميائية المستخلصة من النباتات الطبية مثل عديدات الفينول والفلافونويدات تملك العديد من التأثيرات البيولوجية مثل مضادات للأكسدة، مضادات للالتهاب، مضادات للجراثيم والوقاية من العديد من الأمراض المزمنة مثل السرطان والأمراض الوعائية القلبية (Hussain وآخرون، 2016).

تعد عملية استخلاص المركبات الفينولية من النباتات الطبية خطوة جد مهمة. يستعمل حالياً العديد من الطرق في الاستخلاص وهي تقليدية استعملت منذ فترة طويلة وحديثة طورت في الآونة الأخيرة. تعتمد طرق الاستخلاص التقليدية على استعمال المذيبات العضوية مثل الماء، acetone ، hexane ، الميثانول، الايثانول وغيرها... كما يعتمد في طرق الاستخلاص التقليدية على العديد من التقنيات مثل الاستخلاص بالغليان (infusion)، الاستخلاص باستعمال soxhlet والنقع والتقطير المائي (Marie وآخرون، 2017). تعد عملية الاستخلاص باستعمال المذيبات العضوية الطريقة الأكثر استعمالاً وهذا راجع إلى سهولة استعمالها وكفاءتها وقابلية التطبيق (Ignat وآخرون، 2011). يعتبر كل من الميثانول والايثانول من المذيبات العضوية المعروفة التي تستعمل بكثرة في عملية الاستخلاص (Zhang وآخرون، 2018). دلت الدراسات على أن الميثانول أكثر استعمالاً في استخلاص عديدات الفينول مقارنة بالايثانول (Barla وآخرون، 2007)، بالإضافة إلى ذلك أظهرت دراسة قام بها Altemimi وآخرون (2017) أستعمل فيها العديد من المذيبات العضوية من أجل استخلاص المركبات الفينولية ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة، أن المستخلص الميثانولي يملك فعالية عالية كمضاد للأكسدة. لهذا السبب تم اعتماد الميثانول في هذه الدراسة من أجل استخلاص عديدات الفينول. أعتمد في هذا البحث على تقنية الاستخلاص بالنقع التي تعتبر الطريقة الأكثر استعمالاً من طرف الباحثين وهذا راجع إلى أنها طريقة بسيطة جداً وغير مكلفة

وتعطي مردودية عالية مع الحفاظ على المركبات المراد استخلاصها (Zhang وآخرون، 2018).

قدر مردود المستخلص الميثانولي لنبته الكرمة السوداء بـ 9.9%. وهي قيمة قريبة جدا من المتحصل عليها من طرف Boumerfeg وآخرون (2009) التي قدرت بـ 8.5%. يمكن أن يرجع هذا الاختلاف الطفيف إلى نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص، حيث أستعمل في عملية الاستخلاص خليط ميثانول/ماء (15/85%). كما يمكن للموقع الجغرافي ونوعية المناخ والتربة أن تؤثر في كمية عديدات الفينول. تم جلب النبتة في الدراسة التي قامت بها Boumerfeg وآخرون (2009) من منطقة بوعنداس، في حين جلبت النبتة في هذه الدراسة من منطقة بوقاعة. يمكن لنسبة تساقط الأمطار من موسم لآخر أن تؤثر كذلك في مردودية الاستخلاص.

تحتوي النباتات الطبية على العديد من المركبات التي تلعب دورا هاما كمضادات للأكسدة مثل الفيتامينات والمركبات الفينولية مثل الفلافونويدات والدباغ (Altemimi وآخرون، 2017). كما تملك هذه المركبات العديد من النشاطات الحيوية مثل النشاطية المضادة للالتهاب والبكتيريا والفيروسات والحساسية والتخثر الدموي وعلى الأوعية الدموية. أغلب هذه النشاطات تعود أساسا إلى النشاطية المضادة للأكسدة (Gulcin وآخرون، 2010) وعلى هذا الأساس تم تقدير كمية عديدات الفينول، الفلافونويدات والدباغ في المستخلص الميثانولي لنبته الكرمة السوداء.

تم تقدير المركبات الفينولية الكلية باستعمال طريقة Folin-Ciocalteu حيث تعطي هذه المركبات لونا أزرقا عند ارتباطها مع حمض phosphomolybdic-phosphotungstic (Folin-Ciocalteu). تم قياس الامتصاصية في طول الموجة 765 نانومتر والتعبير عن النتائج بعدد المليغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص. أما كمية الفلافونويدات الموجودة في المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* فقدرت بطريقة ثلاثي كلورور الألومنيوم ( $AlCl_3$ )؛ (Boussoualim وآخرون، 2015)، ويعبر عن النتائج بعدد المليغرامات المكافئة من الكرسيتين لكل غرام من المستخلص الجاف للنبته. كما تم تقدير كمية الدباغ الموجودة في المستخلص النباتي بالاعتماد على خاصية ترسيب

الهيموغلوبين (Gharzouli وآخرون، 1999؛ Bouaziz وآخرون، 2014). ويعبر عن النتائج بعدد الملغرامات المكافئة لحمض التانيك لكل غرام من وزن المستخلص الجاف.

بينت النتائج أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* يحتوي كمية من عديدات الفينول قدرت بـ  $55.2 \pm 0.036$  مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من المستخلص و قدرت كمية الفلافونويدات بـ  $1.191 \pm 0.002$  مغ مكافئ للكرستين/غ من المستخلص. أظهرت النتائج في دراسة سابقة قامت بها Zerargui وآخرون (2016) أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* يحتوي كمية من عديدات الفينول والفلافونويدات قدرت بـ  $69.786 \pm 0.10$  مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ و  $8.080 \pm 0.07$  مغ مكافئ للكرستين/غ من المستخلص على الترتيب. أما محتوى مستخلص النبتة من عديدات الفينول والفلافونويدات في الدراسة التي قامت بها Boumerfeg وآخرون (2009) فكانت  $26.55 \pm 3.93$  مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ و  $10.2 \pm 0.1$  مغ مكافئ للكرستين/غ من المستخلص على الترتيب. يمكن إرجاع هذا الاختلاف في القيم المتحصل عليها إلى الفصل الذي جمعت فيه النبتة، الموقع الجغرافي ونوعية المناخ والتربة، حيث تم جلب النبتة في الدراسة التي قامت بها Boumerfeg وآخرون (2009) من منطقة بوعنداس، في حين جلبت النبتة في هذه الدراسة من منطقة بوقاعة. بالإضافة إلى ذلك يمكن أن يرجع هذا الاختلاف إلى طريقة الاستخلاص ومدتها، نوع المحلول المستعمل ودرجة الحرارة (Cai وآخرون، 2010)، حيث أستعمل في عملية الاستخلاص في الدراسة السابقة خليط ميثانول/ماء (15/85%) لمدة 24 ساعة، في حين أستعمل في هذه الدراسة الميثانول لمدة أسبوع. يمكن كذلك لدرجة حرارة الهواء، ضوء الشمس ومعدل تساقط الأمطار أن تؤثر في كمية عديدات الفينول من موسم لآخر (Tolić وآخرون، 2017).

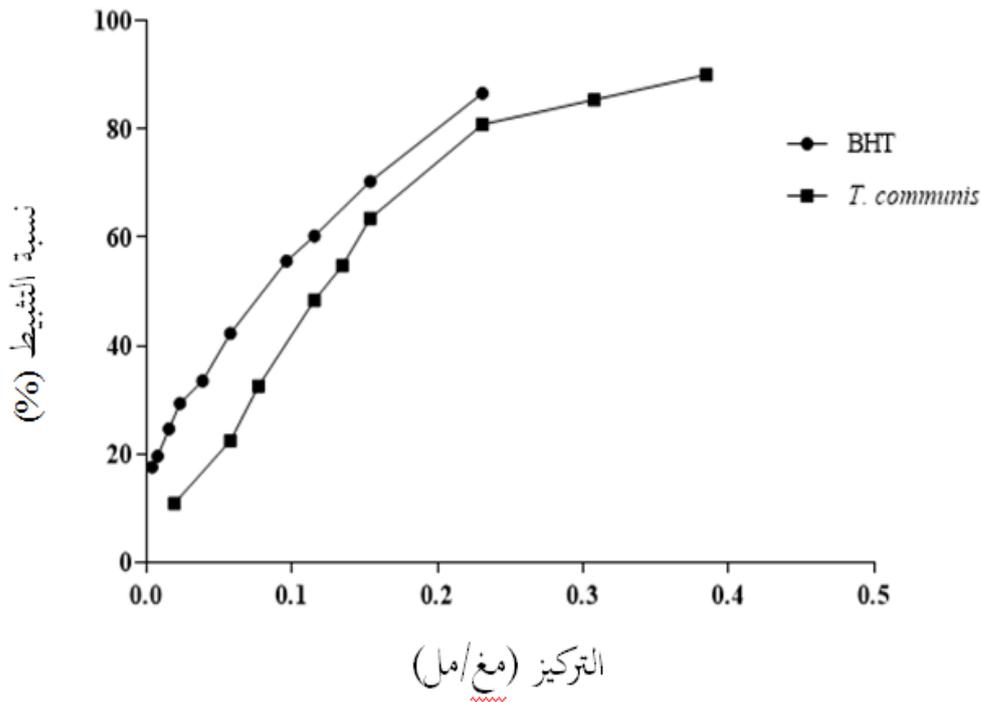
بالنسبة لكمية الدباغ بينت النتائج المتحصل عليها أن المستخلص الميثانولي يحتوي على  $173.37 \pm 2.65$  مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من المستخلص الجاف.

## 2. النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا

### 1.2. التأثير الإزاحي لجذر DPPH

يستعمل نموذج إزاحة جذر DPPH بكثرة من أجل تقدير التأثير الإزاحي لمختلف المستخلصات (Mahmoudi وآخرون، 2010)، وهذا راجع لكونها طريقة بسيطة وسريعة وغير مكلفة. تستعمل هذه التقنية بشكل واسع في تقدير نشاطية المركبات على إزاحة الجذور الحرة أو إعطائها ذرة هيدروجين وتقدير النشاطية المضادة للأكسدة للأطعمة (Kedare و Singh، 2011). يعتمد مبدأ هذه التقنية على إرجاع DPPH ذو اللون البنفسجي عن طريق مضادات الأكسدة فينتج عن هذه العملية تحول اللون من البنفسجي إلى الأصفر وتقاس الامتصاصية في طول موجة 517 نانومتر. يتناسب التغير في اللون طرديا مع قدرة العينات على إزاحة جذر DPPH (Dontha، 2016).

تم حساب  $IC_{50}$  الذي هو التركيز الموافق لتثبيط 50% من جذور DPPH، لكل من المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* و BHT الذي استعمل كشاهد من أجل المقارنة. أدنى قيمة له تعكس أحسن فعل إزاحي للمركبات. يظهر من خلال النتائج المحصل عليها والموضحة في الشكل 13 على أن مستخلص *T. communis* يملك قدرة على إزاحة جذر DPPH بشكل يتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز. وبحساب قيم  $IC_{50}$  نلاحظ أن BHT يملك القدرة الإزاحية الأكبر حيث قدرت  $IC_{50}$  بـ 0.087  $\pm$  0.001 مغ/مل. أما بالنسبة للمستخلص الميثانولي لـ *T. communis* فقدت  $IC_{50}$  بـ 0.128  $\pm$  0.011 مغ/مل، هذه القيمة قريبة جدا من القيمة المتحصل عليها عند BHT مما يدل على أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* يملك القدرة على إزاحة جذر DPPH بقيمة قريبة لقدرة BHT.

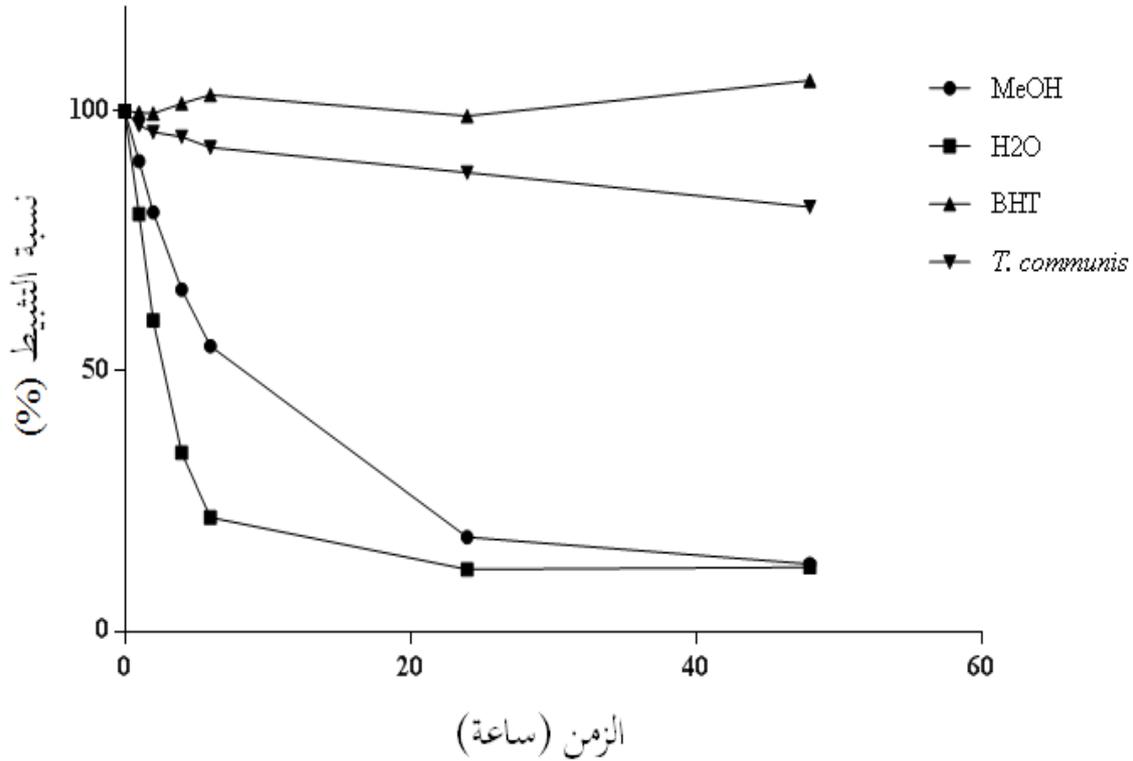


الشكل 13: نسب تثبيط جذور DPPH بالمستخلص الميثانولي لنباتة *T. communis* و BHT.

إن هذه النتائج مشابهة للنتائج المتحصل عليها في دراسة Zerargui (2016) التي بينت أن المستخلص الميثانولي لنباتة الكرمة السوداء يملك قدرة إزاحية بقيمة  $IC_{50}$  يساوي  $0.025 \pm 0.1187$  مغ/مل. يمكن إرجاع القدرة العالية على إزاحة الجذور الحرة إلى غنى النباتة بعديدات الفينول والفلافونويدات المعروفة بنشاطيتها المضادة للأكسدة، حيث دلت الدراسات على وجود علاقة طردية بين كمية عديدات الفينول والنشاطية المضادة للأكسدة (Namoune وآخرون، 2018). يمكن إرجاع النشاطية المضادة للأكسدة في المركبات الفينولية إلى خاصية الأكسدة والإرجاع التي تتميز بها والتي يمكن أن تلعب دورا جدمهم في إبطال تأثير الجذور الحرة عن طريق قدرتها على إعطاء ذرة هيدروجين (Ebrahimzadeh وآخرون، 2010).

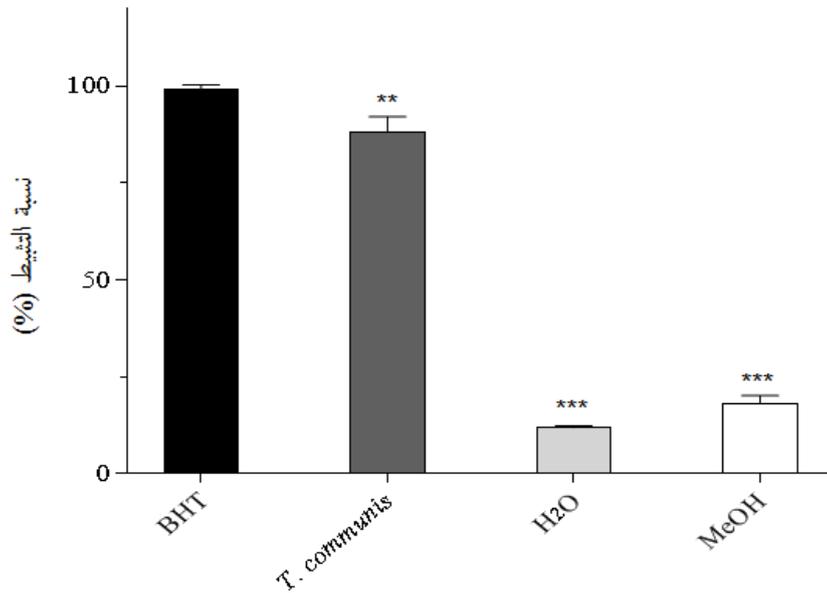
## 2.2. نتائج اختبار $\beta$ -carotene/linoleic acid

يعتمد هذا الاختبار على الحمض الدهني لينولييك الذي يصنف من بين الأحماض الدهنية الغير مشبعة، ينتج عن أكسدة هذا الحمض تشكل جذور حرة تهاجم  $\beta$ -carotene مما يؤدي إلى انخفاض اللون البرتقالي الذي تتميز به. تعمل مضادات الأكسدة على حماية  $\beta$ -carotene من الأكسدة عن طريق إبطال أكسدة حمض اللينولييك أو إبطال مفعول الجذور الحرة الناتجة عن أكسدته (Naidu وآخرون، 2011). قدرت النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي لنبذة الكرمة السوداء بمتابعة زوال لون  $\beta$ -carotene مع مرور الزمن عند طول الموجة 490 نانومتر.



الشكل 14: تثبيط أكسدة  $\beta$ -carotene/linoleic acid بواسطة المستخلص الميثانولي لنبذة الكرمة السوداء. MeOH: ميثانول؛ استعمل BHT كشاهد موجب، الميثانول والماء المقطر كشاهدين سالبين.

من خلال تحليل نتائج نسب التثبيط بدلالة الزمن الموضحة في الشكل 14، يظهر أن المستخلص الميثانولي يملك القدرة على تثبيط أكسدة  $\beta$ -carotene. من خلال مقارنة نسبة تثبيط أكسدة  $\beta$ -carotene بواسطة مستخلص نبتة الكرملة السوداء مع BHT الذي يعتبر من أقوى مضادات الأكسدة المصنعة بعد مرور 24 ساعة والموضحة في الشكل 15، تبين أن المستخلص الميثانولي يملك نسبة تثبيط مرتفعة قدرت بـ 88.13  $\pm$  4.03% مقارنة مع النسبة المسجلة عند BHT والتي قدرت بـ 99.02  $\pm$  1.32%.



**الشكل 15:** نسبة تثبيط أكسدة  $\beta$ -carotene بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* عند 24 ساعة باستعمال طريقة  $\beta$ -carotene/linoleic acid. MeOH: ميثانول. استعمل BHT كشاهد موجب، الميثانول والماء المقطر كشاهدين سالبين.  $0.01 > p^{**}$ ؛  $0.001 > p^{***}$ ، يعبر عن النتائج بالمتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف المعياري (n=3).

يسمح اختبار  $\beta$ -carotene بقياس قدرة المستخلصات على تثبيط أكسدة الدهون، حيث في غياب مضادات الأكسدة تفقد لونها بسرعة. تعمل مضادات الأكسدة على وقف ابيضاض  $\beta$ -carotene عن طريق إبطال مفعول الجذور الحرة الناتجة عن أكسدة حمض اللينولييك والعديد من الجذور الأخرى المتشكلة في هذا

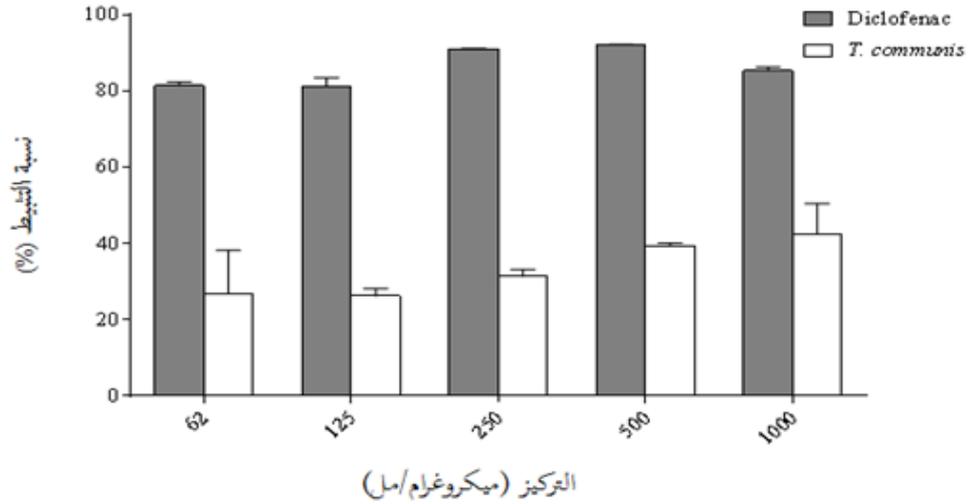
النظام (Kamath و Rajini ، 2007). من خلال النتائج المتحصل عليها يظهر أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* يملك القدرة على وقف أكسدة  $\beta$ -carotene عن طريق إبطال أكسدة حمض اللينوليك أو التفاعل مع الجذور الحرة وإبطال مفعولها. يمكن إرجاع هذه النشاطية إلى محتواها من عديدات الفينول والفلافونويدات. حيث دلت الدراسات أن المركبات الفينولية تشكل أهم قسم من مضادات الأكسدة الطبيعية وأن هناك علاقة طردية بين كمية المركبات الفينولية في المستخلصات النباتية والنشاطية المضادة لفرق أكسدة الدهون (Zhao وآخرون، 2014).

### 3. النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا

#### 1.3. تثبيط تخريب ألومين المصل

المقصود بتخريب البروتينات ظاهرة يفقد خلالها البروتين البنية الثانوية والثلاثية نتيجة إجهاد أو عوامل خارجية مثل الأحماض أو القواعد القوية، أملاح غير عضوية مركزة، مذيبات عضوية أو درجة الحرارة المرتفعة. معظم البروتينات تفقد وظيفتها البيولوجية بعد التخريب (Dass و Leelaprakash، 2011). أشارت بعض الدراسات إلى أن تخريب البروتينات يعتبر واحدا من بين أسباب ظهور RA (Rahman وآخرون، 2015)، حيث يمكن أن ينتج عن تخريب البروتينات النسيجية ظهور مستضدات ذاتية في مرض التهاب المفاصل. وبالتالي يمكن أن يكون تخريب البروتينات النسيجية خاصة مهمة تميز هذا المرض. يمكن أن تستغل المركبات التي تملك نشاطية حماية البروتينات من التخريب في تطوير أدوية جديدة مضادة للالتهاب. وبالتالي فإنه يمكن للدراسة مخبريا أن تعطي فكرة على النشاطية مضادة للالتهاب في المستخلصات النباتية قبل القيام بالدراسة على الكائن الحي (Banerjee وآخرون، 2014).

أشار Rathisre وآخرون (2013) أن تقنية تثبيط تخريب البروتينات هي الطريقة الأنسب لتقدير النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا. في هذه الدراسة تم تقدير هذه النشاطية بطريقتين: تثبيط تخريب ألومين المصل وتثبيط تخريب ألومين البيض المحرض بالحرارة. أعتمد في هذه الدراسة على تقنية تثبيط تخريب ألومين مصل البقر المحرض بالحرارة. تم تقدير هذه النشاطية بالاعتماد على الطريقة المتبعة من طرف Chandra وآخرون (2012) مع بعض التعديلات. تم تحضير تراكيز متزايدة من المستخلص الميثانولي لـ *T. communis* و Diclofenac الذي استعمل كشاهد للمقارنة. من أجل تقدير النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا تقارن نتائج مختلف التراكيز المستعملة من نبتة *T. communis* مع نفس التراكيز المستعملة من Diclofenac. النتائج المتحصل عليها معروضة في الشكل 16.

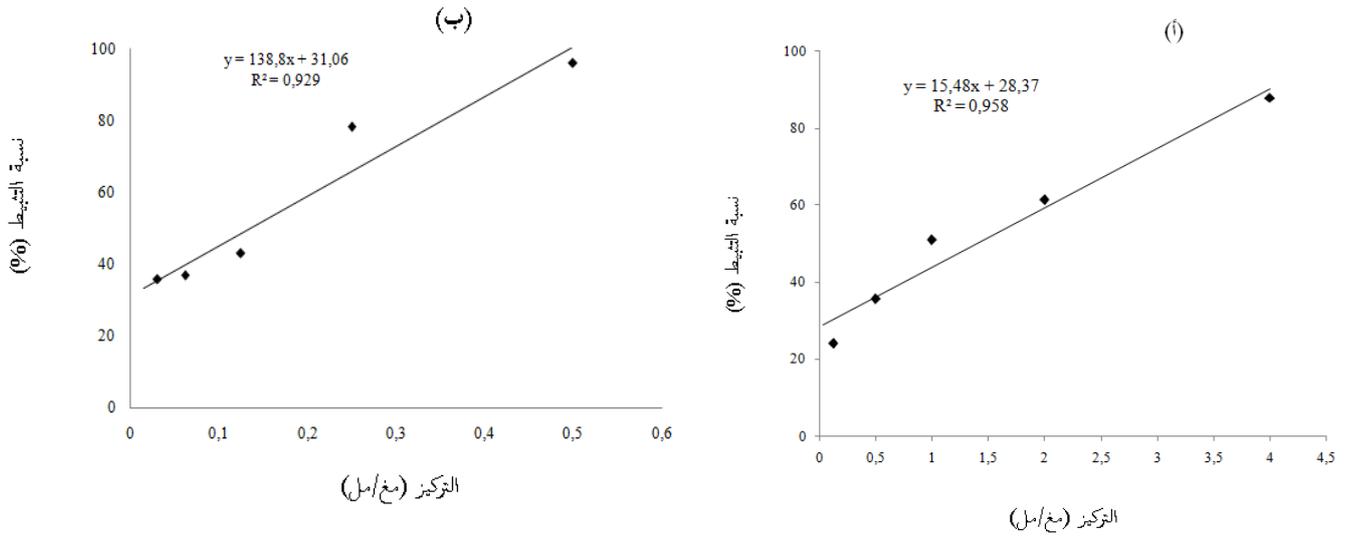


**الشكل 16:** مقارنة نسب تثبيط تخريب بروتينات BSA بواسطة المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* و Diclofenac. يعبر عن النتائج بالمتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف المعياري (n=3).

من هذه النتائج نلاحظ أن نسب تثبيط تخريب BSA بواسطة مستخلص الكرمه السوداء كانت متناسبة طرديا مع التركيز. بالنسبة للمستخلص الميثانولي لـ *T. communis* عند التراكيز 125، 250، 500 و 1000 ميكروغرام/مل قدرت نسبة التثبيط بـ  $26.18 \pm 2.05\%$ ،  $31.32 \pm 1.87\%$ ،  $39.26 \pm 0.83\%$  و  $42.57 \pm 7.89\%$  على الترتيب، أما بالنسبة لـ Diclofenac الذي استعمل كشاهد فقدرت نسبة التثبيط عند نفس التراكيز بـ  $81.10 \pm 2.37\%$ ،  $91.03 \pm 0.11\%$ ،  $92.07 \pm 0.15\%$  و  $85.31 \pm 0.91\%$  على الترتيب.

### 2.3. تثبيط تخريب ألبومين البيض

يبين الشكل 17 (أ) نسب تثبيط تخريب ألبومين البيض بواسطة المستخلص الميثانولي للكرمة السوداء. تتزايد نسبة التثبيط بزيادة التركيز بشكل خطي بمعامل ارتباط 96% وقدرت نسبة التثبيط القصوى بـ 87.78% عند التركيز 4 مغ/مل.



**الشكل 17:** نسب تثبيط تخريب ألبومين البيض: أ- بواسطة المستخلص الميثانولي لـ *T. communis*؛  
ب- بواسطة Diclofenac.

نسب تثبيط تخريب ألبومين البيض بواسطة Diclofenac موضحة في الشكل 17 (ب). يتبين من خلال النتائج أن نسب التثبيط تتناسب طردياً مع التركيز. وسجلت أعلى نسبة تثبيط (95.95%) عند التركيز 0.5 مغ/مل. من خلال النتائج المحصل عليها نلاحظ أن تأثير المستخلص الميثانولي للنبته جد مهم مقارنة بـ Diclofenac، هذا ما تم تأكيده عن طريق حساب  $IC_{50}$  التي قدرت بـ  $0.216 \pm 1.387$  مغ/مل بالنسبة للمستخلص الميثانولي لـ *T. communis* و  $0.007 \pm 0.136$  مغ/مل بالنسبة لـ Diclofenac. هذه النتائج تشير إلى أن نشاطية المستخلص الميثانولي لـ *T. communis* ضد تثبيط تخريب ألبومين البيض مقبولة جداً رغم أنها تظهر ضعيفة بالمقارنة مع Diclofenac.

بتحليل النتائج المتحصل عليها في دراسة النشاطية المضادة للالتهاب مخبرياً لاحظنا أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* يملك نشاطية تثبيط تخريب البروتينات، التي يمكن إرجاعها إلى محتوى النبتة من عديدات الفينول، الفلافونويدات والذباغ المعروفة بمساهمتها في النشاطية المضادة للالتهاب (Mary وآخرون، 2017)، لكن تبقى هذه النشاطية ضعيفة بالمقارنة مع Diclofenac، الذي يعتبر

مركب نقي على عكس المستخلص الميثانولي الذي يحوي عدد معتبر من المركبات مثل الدباغ، حيث يمكن لهذه الأخيرة أن ترتبط مع البروتينات مشكلة معقد غير ذائب ما يؤدي إلى ترسيبها وبالتالي حمايتها من التخریب (Adamczyk وآخرون، 2012).

#### 4. السمية المحتملة للمستخلص الميثانولي

من أجل اختبار السمية على الفئران استعملنا المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بتركيز 5، 50، 300 و 2000 مغ/كغ ولاحظنا أنها لم تقتل أي واحد من الفئران المستعملة في هذا الاختبار، بالإضافة إلى ذلك لم نسجل ظهور أي أعراض تسمم مثل تغيرات في سلوك الفئران، فقدان الوزن، الحركة والموت. لهذا تم اختيار ثلاث تراكيز مختلفة من مستخلص النبتة (150، 300 و 600 مغ/كغ) من أجل تقدير النشاطية البيولوجية للنبته على الكائن الحي.

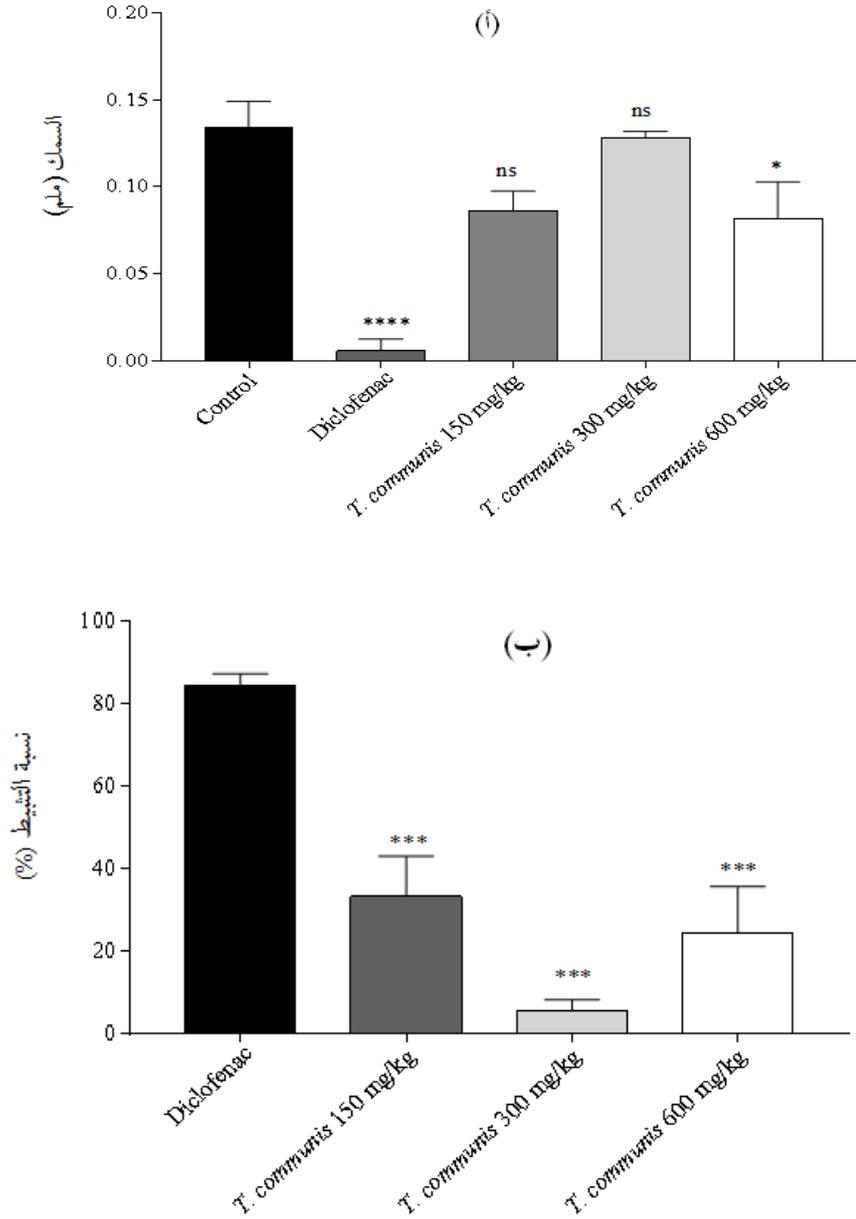
## 5. النشاطية المضادة للالتهاب على الكائن الحي

### 1.5. التأثير على وذمة الأذن المحرصة بالكزيران

من المعروف أن الكزيران يسبب توسعا شديدا في الأوعية الدموية وتغيرات على مستوى الجلد مؤديا إلى ظهور وذمة وانتفاخ على مستوى الأذن، التي تعتبر من أهم العلامات المميزة للالتهاب الحاد (Dzoyem وآخرون، 2017). يستعمل نموذج وذمة الأذن المحفرة بالكزيران بكثرة من أجل تقدير التأثير الموضعي لمضادات الالتهاب الستيرويدية وغير الستيرويدية خاصة منها تلك التي تثبط إنزيم Phospholipase  $A_2$ . يحفز الكزيران ظهور وذمة عصبية المنشأ مرتبطة بشكل خاص بالمادة P. تنتشر هذه المادة في الجهاز العصبي المركزي والمحيطي ويتم إفرازها من الخلايا العصبية الحسية (Bagad وآخرون، 2013). ينتج عن إفراز المادة P توسع الأوعية الدموية ونفاذية البلازما، مما يؤدي إلى ظهور الوذمة (Agbaje وFageyinbo، 2012). بالإضافة إلى ذلك تتدخل مجموعة من الوسائط الالتهابية في هذا نموذج مثل الهيستامين، kinin وfibrinolysin (Bagad وآخرون، 2013).

أعتمد في هذا النموذج على الطريقة المتبعة من Xiao-Li وآخرون (2013) مع بعض التعديلات. تم قياس سمك الأذن اليمنى قبل وبعد ساعة من تحفيز الوذمة. يحفز التطبيق الموضعي للاكزيران زيادة في سمك وذمة الأذن عند فئران مجموعة الشاهد الغير معالجة قدرت ب  $0.015 \pm 0.134$  مم. أدت معالجة الفئران بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ إلى انخفاض في سمك الوذمة قدر ب  $0.012 \pm 0.086$  مم،  $0.004 \pm 0.128$  مم و  $0.021 \pm 0.082$  مم على الترتيب (الشكل 18-أ) هذا ما يعادل نسبة تثبيط قدرت ب  $9.73 \pm 33.38\%$ ،  $5.64 \pm 2.68\%$  و  $24.54 \pm 11.15\%$  على الترتيب (الشكل 18-ب). في حين سمحت معالجة الفئران بجرعة 30 مغ/كغ من Diclofenac بانخفاض جد معنوي ( $p > 0.001$ ) في سمك الوذمة ( $0.007 \pm 0.006$  مم) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد السالب، هذا ما يقابل نسبة تثبيط قدرت ب  $84.29 \pm 2.90\%$ . بمقارنة نسب التثبيط المتحصل عليها من المستخلص الميثانولي مع تلك المتحصل عليها من Diclofenac، نلاحظ أنها جد

معنوية ( $p > 0.001$ ) من الناحية الإحصائية. تدل هذه النتائج على أن مستخلص هذه النبتة لا يملك تأثيراً مضاداً للالتهاب في نموذج الأذن المحفزة بالكزِيلان.

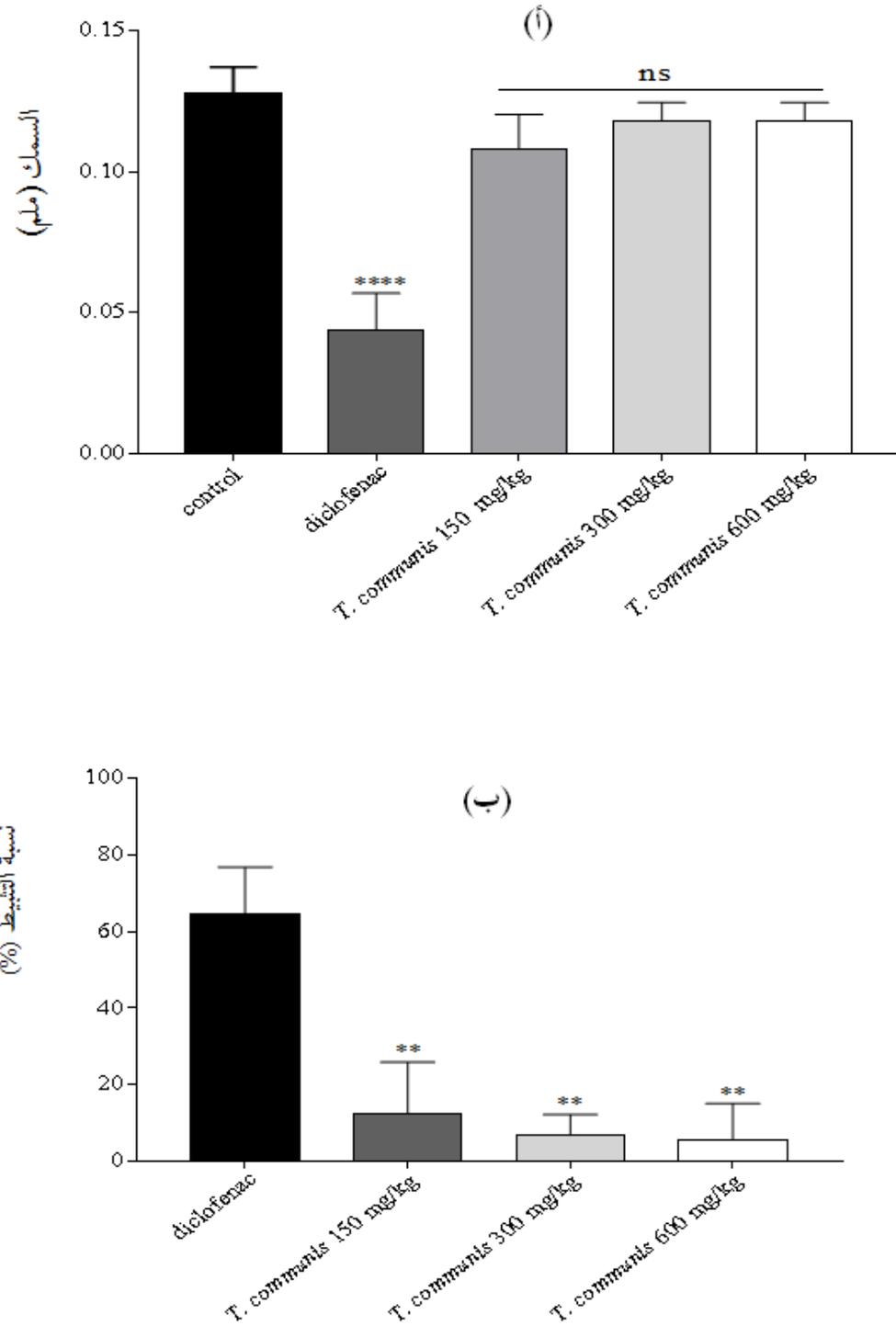


**الشكل 18:** شكل يوضح: أ- تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* على وذمة الأذن المحرّضة بالكزِيلان عند الفئران. ب- نسب التثييط. يعبر عن النتائج بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 5). أ- تقارن النتائج مع مجموعة الشاهد الغير معالجة (control)؛ ب- تقارن النتائج مع المجموعة المعالجة بـ Diclofenac.  $p > 0.05$  \*,  $p > 0.001$  \*\*\*.

## 2.5. التأثير على وذمة الأذن المحرصة بزيت Croton

يتميز الالتهاب الحاد بالمظاهر الكلاسيكية المعروفة مثل الحرارة، الاحمرار، الانتفاخ (وذمة) والألم. يعتبر قياس الوذمة المحفزة بالعديد من العوامل الالتهابية مثل زيت Croton طريقة جيدة من أجل تقدير الالتهاب. يستعمل نموذج وذمة الأذن المحفزة بزيت Croton بشكل واسع من أجل دراسة العملية الالتهابية على مستوى الجلد والتعرف على العناصر المضادة للالتهاب التي يمكن أن تستعمل في علاج الأمراض الجلدية (Veras وآخرون، 2013).

زيت Croton عامل محفز للالتهاب مستخلص من نبتة *Croton tiglium* L. وهو عامل مهيج للجلد يحتوي على أسترات phorbol، أهمها 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) المسمى أيضا phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). يحفز التطبيق الموضعي لهذا الأخير تفاعلا التهابيا حادا يتميز باتساع الأوعية الدموية ونفذية الخلايا البيضاء والخلايا متعددة النواة للأنسجة وتشكل الوذمة (Wang وآخرون، 2015). تحدث هذه التغيرات نتيجة نشاطية protein kinase C (PKC) الذي يحفز زيادة نشاطية إنزيم Phospholipase A2 (PLA2). نشاطية هذا الأخير تزيد من كمية حمض arachidonic مثل Prostaglandins و Leukotrienes. بالإضافة إلى ذلك فإن PKC يحفز إفراز ونشاطية العديد من الوسائط الالتهابية الأخرى مثل السيتوكينات و chemokines التي تزيد من الاستجابة الالتهابية على مستوى الجلد (Cabrini وآخرون، 2011). من أجل تقدير النشاطية المضادة للالتهاب للمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* في نموذج وذمة الأذن المحرصة بزيت Croton، تم قياس سمك الأذن اليمنى قبل وبعد 6 ساعات من التطبيق الموضعي لزيت Croton. النتائج المتحصل عليها موضحة في الشكل 19.



**الشكل 19:** أ- تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* على وذمة الأذن المحرصة بزيت croton عند الفئران، ب- نسب التثبيط. يعبر عن النتائج بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 5). أ- تقارن النتائج مع مجموعة الشاهد الغير معالجة (control)؛ ب- تقارن النتائج مع المجموعة المعالجة بـ Diclofenac.  $0.01 > p^{**}$ ،  $0.001 > p^{***}$ .

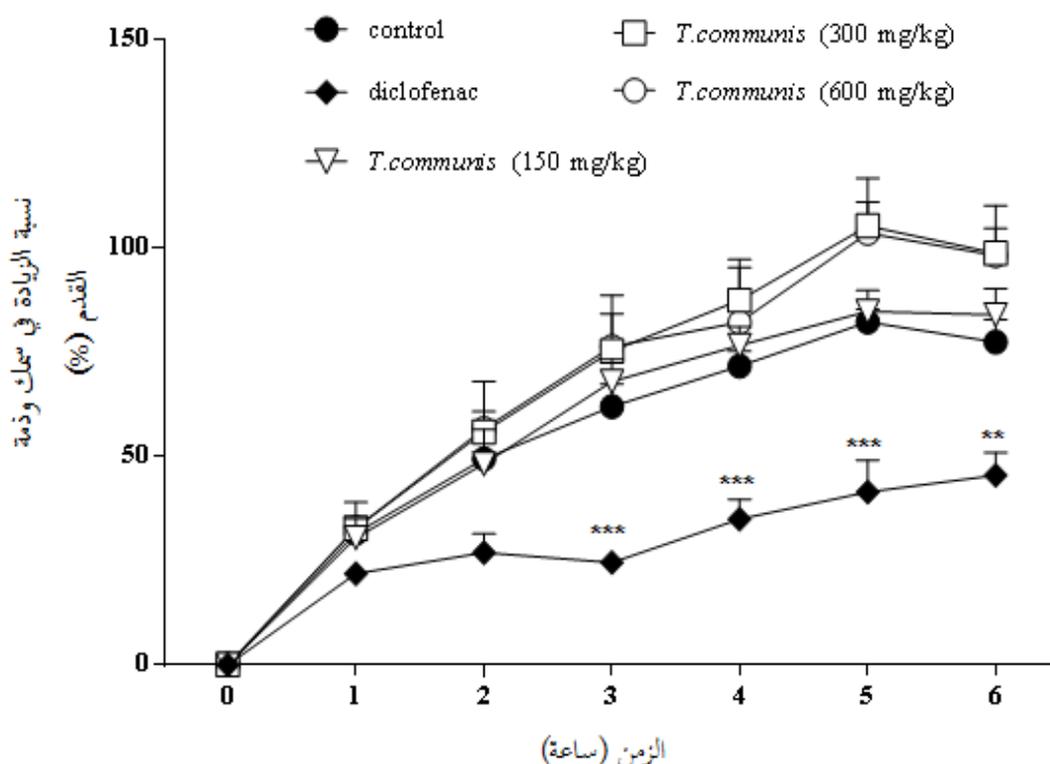
بعد 6 ساعات من التطبيق الموضعي لزيت Croton لوحظت زيادة في وذمة الأذن عند فئران مجموعة الشاهد الغير معالجة (control) قدرت بـ  $0.128 \pm 0.009$  مم (الشكل 19-أ). أدت معالجة الفئران بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بالجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ إلى انخفاض ضعيف في معدل الوذمة بنسبة 12.51%، 6.81% و5.69% على الترتيب. في حين أدت معالجة الفئران بـ Diclofenac بجرعة 30 مغ/كغ عن طريق المسلك الشفوي إلى انخفاض جد معنوي ( $p > 0.001$ ) في سمك الوذمة ( $0.013 \pm 0.044$  مم) بالمقارنة مع فئران مجموعة الشاهد الغير معالجة، هذا ما يقابل نسبة تثبيط قدرت بـ 64.51% (الشكل 19-ب). بمقارنة نسب تثبيط الزيادة في سمك وذمة الأذن في المجموعات المعالجة بمستخلص *T. communis* مع المجموعة المعالجة بـ Diclofenac نلاحظ أنها معنوية من الناحية الإحصائية ( $p > 0.01$ )، هذه النتائج تدل أن هذه النبتة لا تملك تأثيرا مضادا للالتهاب في نموذج وذمة الأذن المحفزة بزيت Croton.

### 3.5. التأثير على تحفيز وذمة القدم بـ Carrageenan

يعتبر اختبار وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan نموذج مناسب من أجل تقدير النشاطية المضادة للالتهاب للمستخلصات النباتية، يستعمل هذا النموذج بشكل كبير في تقدير التأثير المضاد للوذمة. مادة Carrageenan عبارة عن سكريات متعددة كبريتية مشتقة من بعض أنواع الطحالب مثل *Chondrus crispus* (Junior وآخرون، 2004). وذمة القدم المحفزة بواسطة Carrageenan عبارة عن نموذج تجريبي للالتهاب الحاد عند الجرذان، يمر هذا الاختبار بمرحلتين، تبدأ المرحلة الأولى مباشرة بعد حقن Carrageenan وتستمر ساعة تقريبا. أهم ما يميز هذه المرحلة إفراز الهيستامين والسيروتونين (أمينات الأوعية الدموية) التي يتم في غالب الأحيان إبطال مفعولهما عن طريق مضادات الالتهاب الغير سترويدية (NSAIDS) مثل Diclofenac وAspirin. يعتقد أن إفراز الهيستامين والسيروتونين يمكن أن يحفز إفراز البيبتيدات العصبية وprostaglandins من الخلايا البطانية مما يؤدي إلى تأثيرات محفزة للالتهاب. تبدأ المرحلة الثانية مع نهاية المرحلة الأولى وتستمر حتى 5 أو 6 ساعات، تتميز هذه المرحلة

بإفراز  $PGE_2$  والإنزيمات الحالة. ينتج الالتهاب عند حقن كل هذه الوسائط الالتهابية خاصة الهيستامين، السيروتونين،  $PGE_2$  و bradykinin في باطن القدم. يحدث انتفاخ الوذمة نتيجة تأثير هذه الوسائط (Ben وآخرون، 2016).

قمنا في هذا النموذج بقياس سمك القدم اليمنى لكل جرد قبل حقن Carrageenan ثم كل ساعة بعد الحقن لمدة 6 ساعات. وتم حساب نسبة تثبيط الوذمة لمختلف الجرعات العلاجية. بينت النتائج الموضحة في الشكل 20 أن حقن Carrageenan في المجموعة الشاهدة غير المعالجة يحفز زيادة في سمك الوذمة بمرور الوقت ( $31.55 \pm 4.07\%$ ،  $49.44 \pm 6.38\%$ ،  $61.97 \pm 5.37\%$  و  $71.68 \pm 3.55\%$  في الساعة 1، 2، 3 و 4 بعد حقن Carrageenan ، على الترتيب) لتصل إلى الحد الأقصى في الساعة الخامسة ( $82.20 \pm 3.04\%$ ). سمحت المعالجة بـ Diclofenac بتخفيض سمك الوذمة بشكل معنوي ابتداء من الساعة الثالثة ( $p > 0.001$ ) حتى الساعة السادسة ( $p > 0.01$ ). في حين لم يظهر أي انخفاض معنوي في سمك الوذمة عند الجرذان المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بجرعات 150، 300 و 600 مغ/كغ، هذا يدل على أن مستخلص هذه النبتة لا يملك أي تأثير مضاد للالتهاب في نموذج وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan. أشارت دراسة سابقة قام بها Kupeli وآخرون (2007) إلى أن كل من المستخلصات المائية والايثانولية المحضرة من الجزء الهوائي وجذور نبتة *T. communis* لم تظهر أي نشاطية مضادة للالتهاب في نموذج وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan.



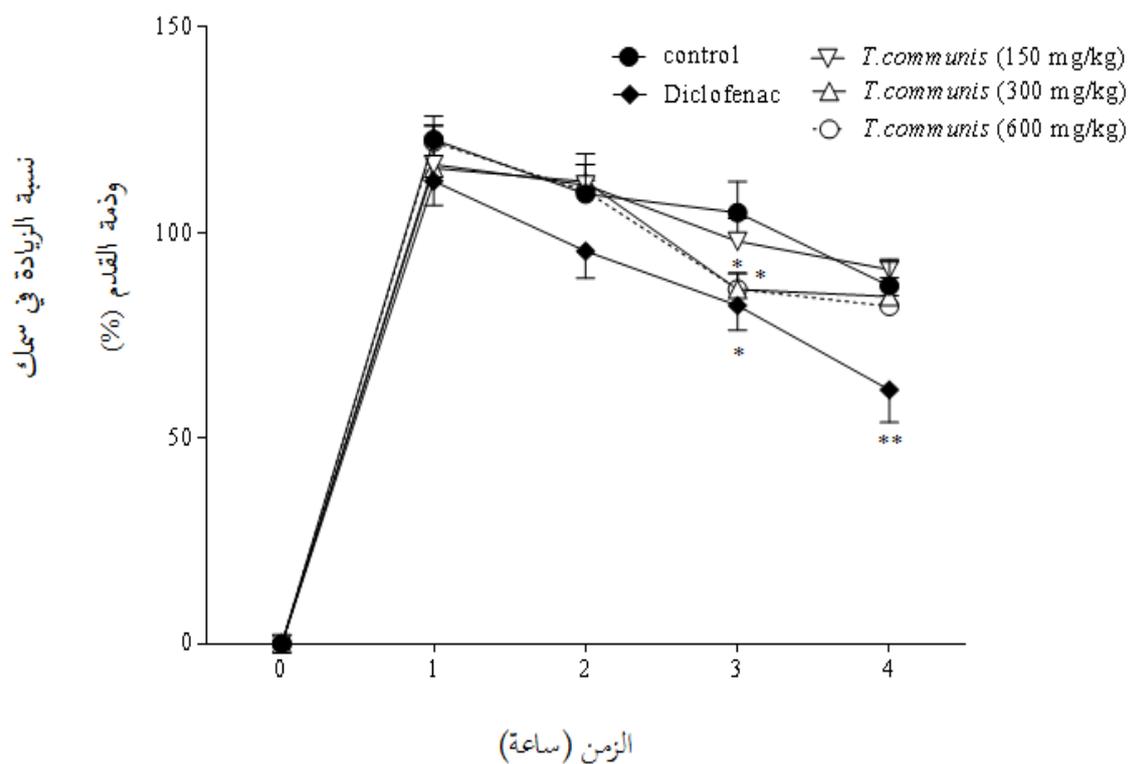
**الشكل 20:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan عند الجرذان. يعبر عن النتائج بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 5). تمت مقارنة النتائج مع المجموعة الشاهد غير المعالجة.  $0.01 > p^{**}$ ،  $0.001 > p^{***}$ .

#### 4.5. التأثير على وذمة القدم المحرّضة بالدكسبران

يختلف نموذج وذمة القدم المحفزة بالدكسبران عن المحفزة بـ Carrageenan من حيث الآلية، حيث لوحظ في هذا النموذج نشاطية خلايا الماستوسيت (de Carvalho وآخرون، 2013). يمر هذا النموذج بمرحلتين، تتميز المرحلة الأولى (0-1 ساعة) بزيادة تدفق الدم وتشكل الوذمة نتيجة إفراز الهيستامين، حيث يحفز هذا الأخير زيادة النفاذية الوعائية وتدفق الدم إلى موقع التفاعل الالتهابي. أما المرحلة الثانية (بعد الساعة الأولى) تتميز بإفراز السيروتونين من خلايا الماستوسيت، كما تتميز هذه المرحلة بإنتاج

الجذور الحرة، bradykinin، PGE2، LTD4 والسيتوكينات (IL-10، IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$ )؛ (Xu وآخرون، 2019). يؤدي إفراز هذه الوسائط الالتهابية إلى تغيرات وعائية بما في ذلك توسع الأوعية الدموية، زيادة النفاذية الوعائية وزيادة تدفق الدم، مما يؤدي إلى انتفاخ القدم (Igbe وآخرون، 2010). الديكستران عبارة عن سكر متعدد ذو وزن جزيئي كبير، ينتج عن حقه للفئران والجرذان تفاعلات حساسية مفرطة ينتج عنها وذمة (Andrade وآخرون، 2007).

اعتمدنا في هذه النموذج على الطريقة المتبعة من طرف de Carvalho وآخرون (2013) حيث تم قياس سمك القدم اليمنى لكل الجرذان قبل حقن الديكستران ثم بعد 1، 2، 3 و 4 ساعات من الحقن وتم حساب نسبة تثبيط وذمة الرجل. حفز حقن الديكستران في باطن القدم اليمنى في جرذان مجموعة الشاهد الغير معالجة ظهور الوذمة، بلغت أقصى سمك لها في الساعة الأولى بعد الحقن ( $122.70 \pm 3.28\%$ )، ثم تراجعت تدريجيا حتى الساعة الرابعة أين بلغت نسبة الزيادة  $87.13 \pm 5.84\%$  (الشكل 21). أدت المعالجة بالجرعات 300 و 600 مغ/كغ من المستخلص الميثانولي للنبته إلى انخفاض معنوي في سمك الوذمة في الساعة الثالثة فقط ( $p > 0.05$ )، في حين لم تظهر المجموعة المعالجة بجرعة 150 مغ/كغ أي انخفاض معنوي في سمك الوذمة. سمحت المعالجة بـ Diclofenac بانخفاض في سمك الوذمة بشكل معنوي ابتداء من الساعة الثالثة ( $p > 0.05$ ) حتى الساعة الرابعة ( $p > 0.01$ ) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد الغير معالجة.

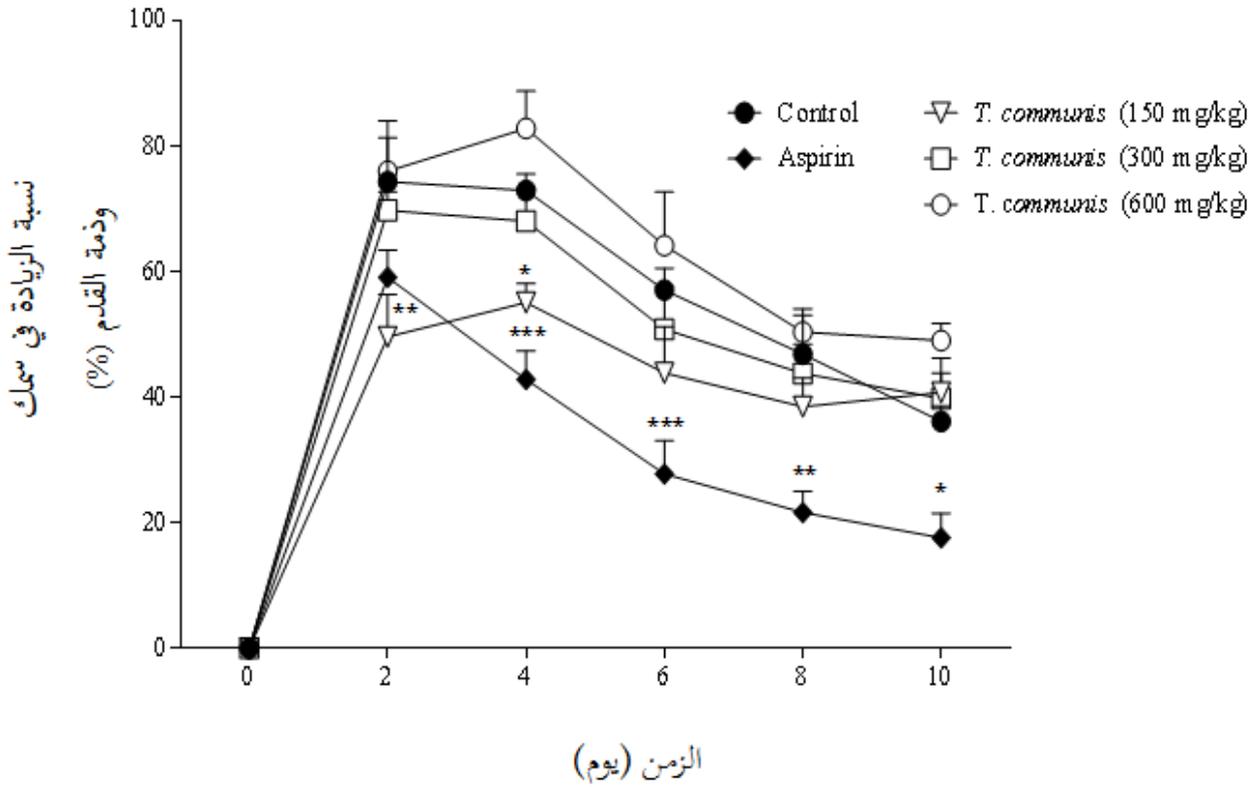


**الشكل 21:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* على وذمة القدم المحفزة بالدكستران عند الجرذان. يعبر عن النتائج بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 5). تمت مقارنة النتائج مع مجموعة الشاهد غير المعالجة. \*  $p > 0.05$ ، \*\*  $p > 0.01$ .

## 6. النشاطية المضادة للالتهاب المفاصل

### 1.6. التهاب المفاصل المحرض بالفورمالين

التهاب المفاصل المحرض بالفورمالين عبارة عن نموذج تجريبي للالتهاب المزمن، يشبه كثيراً التهاب المفاصل الرثوي عند الإنسان ولهذا يستعمل من أجل دراسة النشاطية المضادة للالتهاب عموماً والمضادة لالتهاب المفاصل خصوصاً (Greenwald، 1991). ينتج عن حقن الفورمالين في باطن القدم ظهور التهاب محلي وألم. يتميز هذا النموذج بمرحلتين تبدأ المرحلة الأولى بعد حقن المحلول مباشرة ويتم خلالها إفراز المادة P و Bradykinin أما المرحلة الثانية فتحدث بسبب الألام الالتهابية المحلية الناتجة عن إفراز الهيستامين، السيروتونين، kinins و prostaglandins (Tsai وآخرون، 2001). يوضح الشكل 22 تأثير المستخلص الميثانولي لنبته الكرمة السوداء على وذمة القدم المحفزة بالفورمالين عند الجرذان. سجلت أعلى زيادة في سمك الوذمة في المجموعة الشاهد غي المعالجة في اليوم الثاني ( $74.29 \pm$  7.00%)، ثم تبدأ بالانخفاض تدريجياً حتى نهاية التجربة. أظهرت المجموعة المعالجة بالمستخلص الميثانولي (150 مغ/كغ) انخفاضاً معنوياً في سمك الوذمة في اليومين الثاني ( $p > 0.01$ ) والرابع ( $p > 0.05$ ) من الدراسة، في حين لم يسجل أي انخفاض معنوي في المجموعتين المعالجة بالجرعات 300 و600 مغ/كغ. سمحت المعالجة بالأسبيرين بانخفاض معنوي في سمك الوذمة ابتداءً من اليوم الرابع ( $p > 0.001$ ) حتى اليوم العاشر من التجربة ( $p > 0.05$ ).



**الشكل 22:** تأثير المستخلص الميثانولي لنباتة *T. communis* على وذمة القدم المحفزة بالفورمالين عند الجرذان. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 5). تمت المقارنة مع الشاهد غير المعالجة، \*  $p > 0.05$ ، \*\*  $p > 0.01$ ، \*\*\*  $p > 0.001$ .

## 2.6. التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل

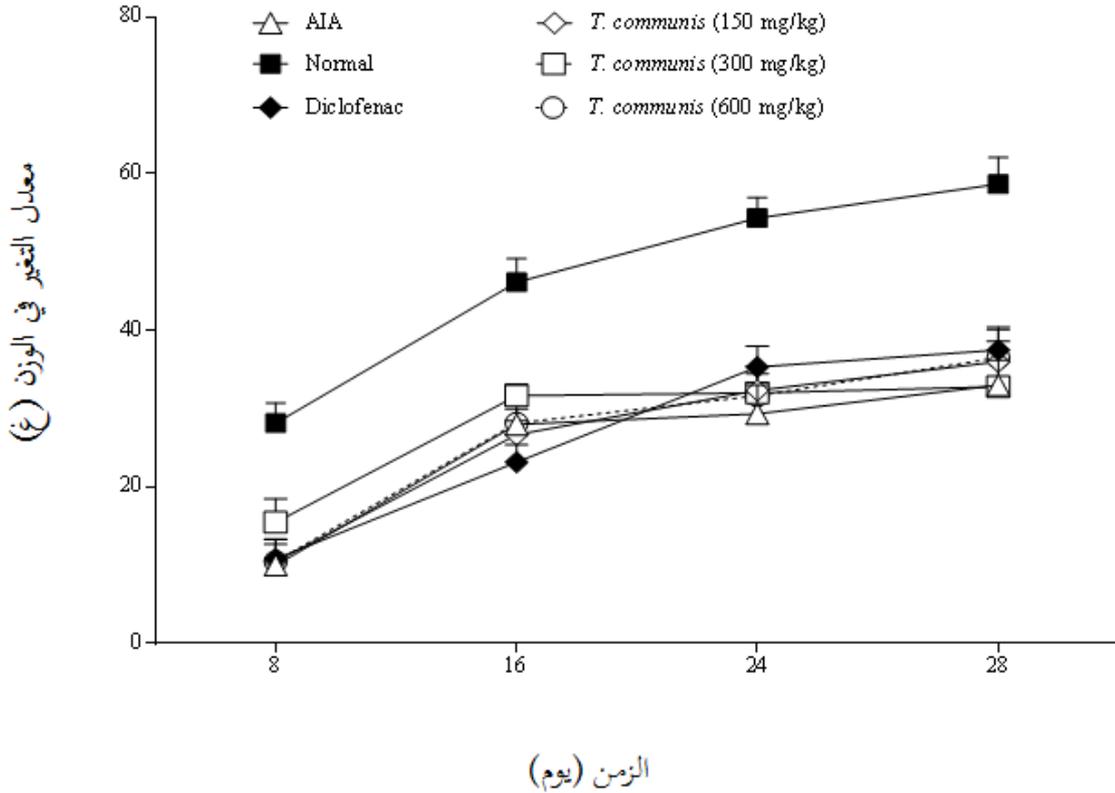
يستعمل التهاب المفاصل المحفز بالمساعد (Adjuvant-induced arthritis (AIA)) بكثرة كنموذج تجريبي للالتهاب المزمن، حيث يشبه كثيرا في العلامات السريرية والمرضية التهاب المفاصل الرثوي عند الإنسان (Lin وآخرون، 2014). يحفز حقن مساعد فروند الكامل عند الجرذان استجابة مناعية التي تؤدي إلى تخريب الغضروف والعظم بالإضافة إلى تورم الأنسجة المحيطة (Whiteley و Dalrymplek، 2001). يعتبر تورم الأطراف، انسلال الخلايا المناعية، زيادة سمك الغشاء الزلالي

الملتهب وتآكل الغضروف والعظم من أهم المظاهر المشتركة بين AIA و RA عند الإنسان، نتيجة هذا التشابه الكبير يستعمل AIA كنموذج تجريبي لـ RA من أجل تقدير التأثيرات المضادة للتهاب المفاصل (Bihani وآخرون، 2014) ومن ثم دراسة تأثيرات مختلف المركبات الطبيعية والمصنعة المضادة لالتهاب المفاصل.

يحفز AIA في هذا النموذج بحقن 0.1 مل من CFA في باطن القدم اليمنى للجرذان، تم إعطاء مختلف الجرعات العلاجية بشكل يومي عن طريق المسلك الشفوي لمدة 28 يوما. من أجل تقدير التأثير المضاد لالتهاب المفاصل تم إتباع العديد من المعايير مثل الوزن والانتفاخ ومؤشر الالتهاب وغيرها.

### 1.2.6. تأثير *T. communis* على وزن الجسم

يعتبر وزن الجسم مؤشرا جد مهم على الحالة الصحية ودرجة الشفاء من الأمراض. أشارت الدراسات إلى أن الحيوانات التجريبية تفقد الوزن بعد حقن مساعد فروند الكامل. لهذا السبب يتم استعمال وزن الجسم كأحد المؤشرات من أجل تتبع تطور المرض وتقدير التأثير العلاجي للمستخلص النباتي المستعمل في الدراسة (Liu وآخرون، 2017). تم وزن الجرذان في اليوم الأول، 8، 16، 24 واليوم 28. يوضح الشكل 27 تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* على وزن الجرذان. تظهر جرذان مجموعة الشاهد السليمة (Normal) زيادة معنوية في الوزن تبدأ من اليوم الثامن حتى نهاية الدراسة، أما المجموعة المعالجة بـ Diclofenac فتظهر زيادة معتبرة في الوزن لكنها غير معنوية من الناحية الإحصائية. في حين لم تسجل أي زيادة معنوية في معدل الوزن في المجموعات المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ بالمقارنة مع المجموعة AIA.

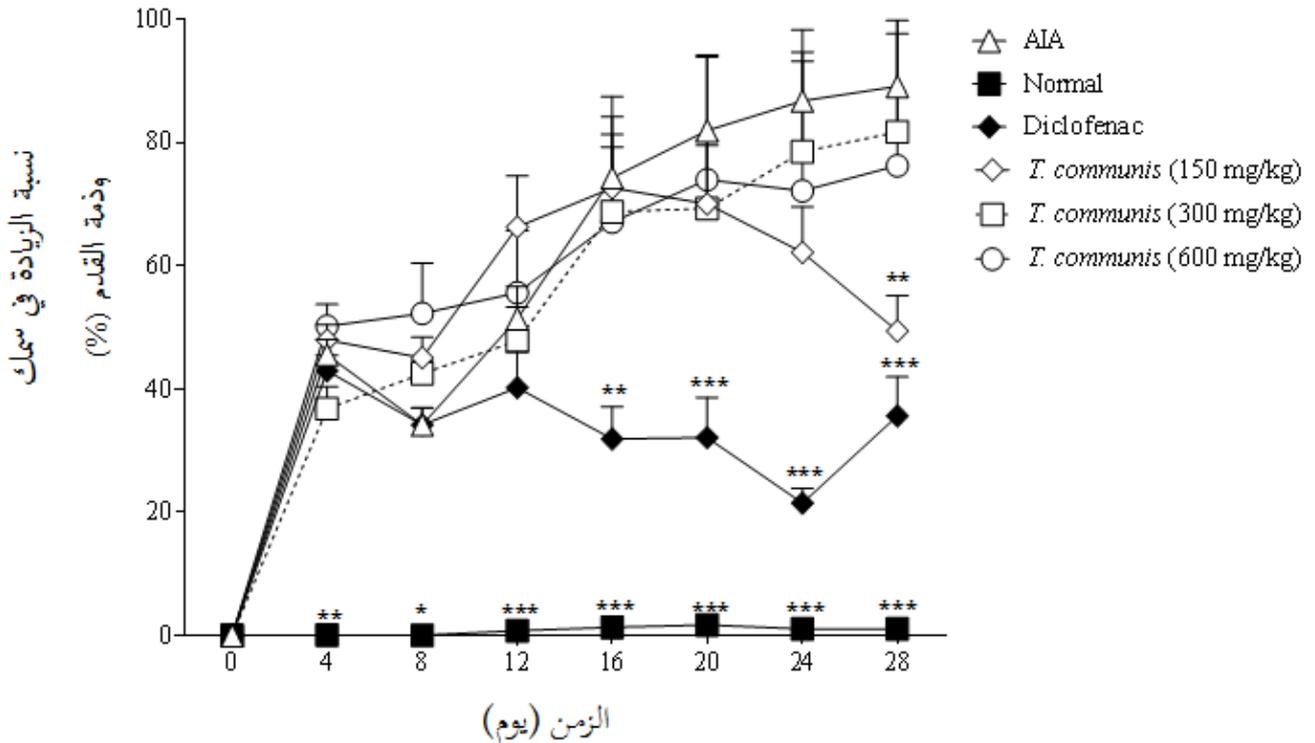


الشكل 23: تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على وزن الجردان في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n=6).

## 2.2.6. تأثير مستخلص *T. communis* على سمك القدم

قياس سمك وذمة القدم طريقة بسيطة، حساسة وسريعة لتقدير تطور الالتهاب والتأثير العلاجي للمستخلص المستعمل (Ratheesh وآخرون، 2009)، لذلك قمنا بقياس سمك القدم اليمنى لكل الجردان في اليوم الأول قبل حقن CFA، ثم كل أربعة أيام حتى نهاية الدراسة. يوضح الشكل 24 نسبة الزيادة في سمك وذمة القدم بدلالة الأيام. نلاحظ في المجموعة AIA أن حقن CFA يتسبب في زيادة سمك وذمة القدم ابتداءً من اليوم الرابع ( $2.46 \pm 45.60\%$ ) حتى اليوم 28 ( $11.25 \pm 89.15\%$ ) من الدراسة. أظهرت المجموعة المعالجة بـ *T. communis* (150 مغ/كغ) انخفاضا معنويا في سمك الوذمة في اليوم الأخير من الدراسة ( $p > 0.05$ )، في حين لم يسجل أي تأثير معنوي على سمك الوذمة في المجموعتين

المعالجتين بالجرعتين 300 و600 مغ/كغ بالمقارنة مع المجموعة AIA. سمحت المعالجة بـ Diclofenac بانخفاض معنوي في سمك الوذمة ابتداء من اليوم 16 ( $p > 0.01$ ) حتى اليوم 28 ( $6.34 \pm 35.67\%$ ) بالمقارنة مع المجموعة AIA.



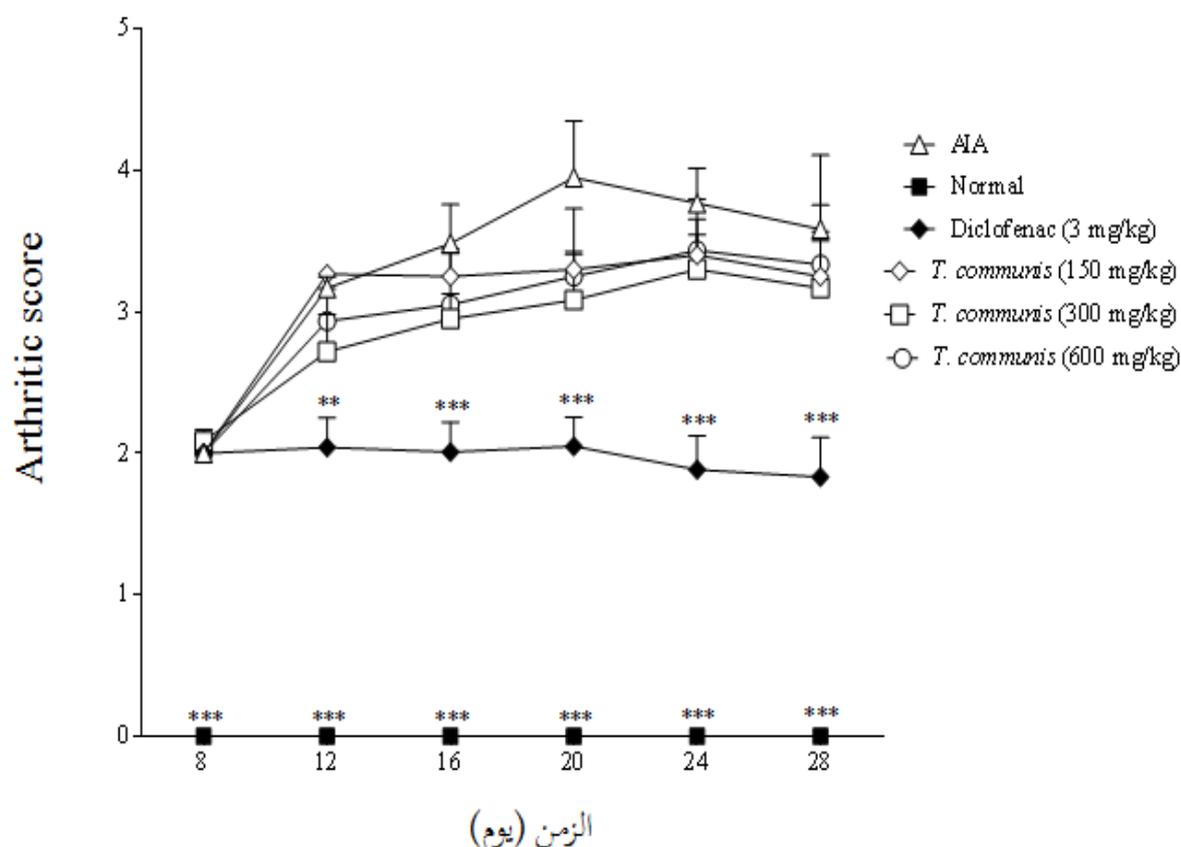
الشكل 24: تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على سمك وذمة القدم في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM ( $n = 6$ ) ومقارنة مع مجموعة AIA.  $p > 0.05$  \*،  $p > 0.01$  \*\*،  $p > 0.001$  \*\*\*.

### 3.2.6. تأثير *T. communis* على Arthritic score

Arthritic score عبارة عن مؤشر يستعمل من أجل تقدير النشاطية المضادة لالتهاب المفاصل، أستعمل في هذه الدراسة من أجل تقدير تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis*. تمت مراقبة

الأرجل الخلفية للجرذان كل أربعة أيام ابتداء من اليوم الثامن بعد حقن CFA حتى نهاية الدراسة ودونت

النتائج في الشكل 25.



الشكل 25: تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على Arthritic score في نموذج

التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 6).

ومقارن مع مجموعة AIA.  $0.01 > p^{**}$ ،  $0.001 > p^{***}$ .

من الشكل 25 نلاحظ أنه لم يحدث أي تغيير في مؤشر Arthritic score في مجموعة الشاهد السالب

(Normal)، بينما سجلت زيادة في معدل Arthritic score في مجموعة AIA ابتداء من اليوم 12 لتبلغ

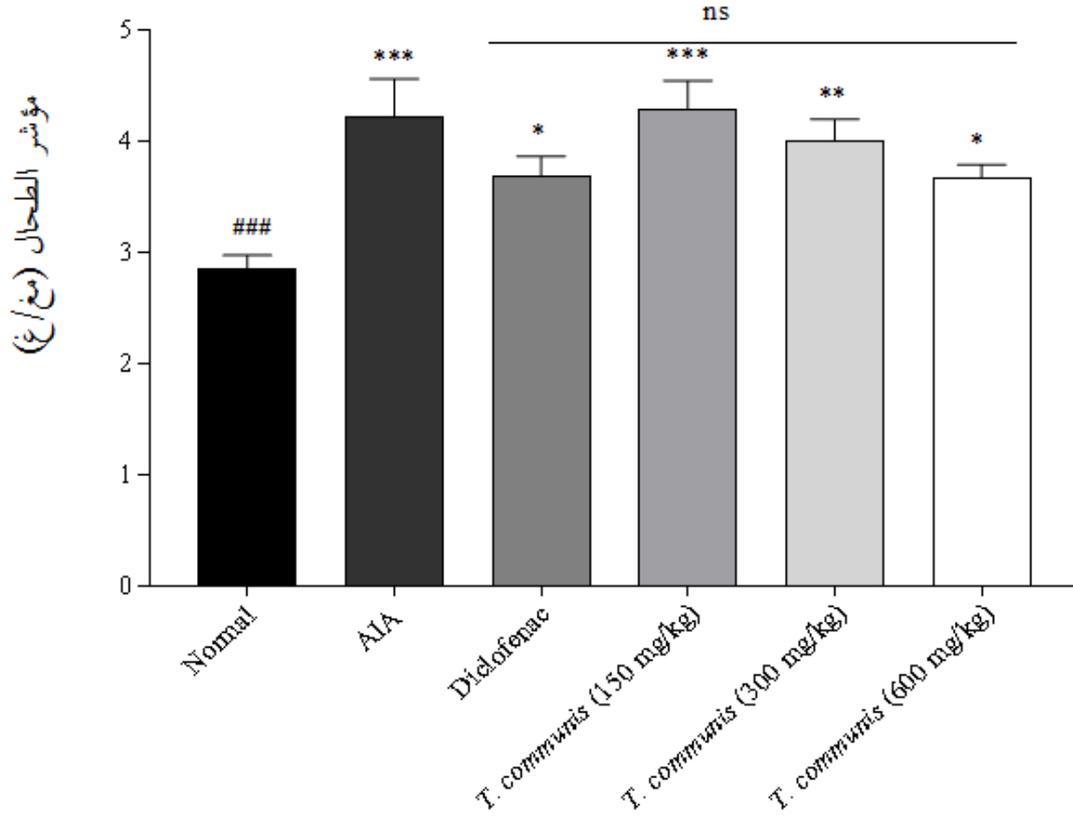
أعلى قيمة لها في اليوم 20 بعد التحفيز. سمحت المعالجة بـ Diclofenac بانخفاض معنوي في معدل

Arthritic score ابتداء من اليوم 12 ( $p > 0.01$ ) حتى اليوم 28 من الدراسة ( $p > 0.001$ ) بالمقارنة مع المجموعة AIA. في حين لم يسجل أي انخفاض معنوي في معدل Arthritic score في المجموعات المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* بالجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ.

#### 4.2.6. تأثير *T. communis* على مؤشر الكبد والطحال

أشارت العديد من الدراسات على أن انتفاخ المفاصل ليست وحدها المؤشر الواضح لالتهاب المفاصل المحفز بالمساعد بل يمكن للعديد من الأعضاء أن تتأثر أثناء تطور المرض مثل الكبد والطحال على الخصوص حيث يسجل زيادة في وزنها (Akramas وآخرون، 2015). يعتبر وزن الكبد والطحال مؤشرا جيدا على الوظائف المناعية (Zhang وآخرون، 2014). ترجع الزيادة في وزن الطحال في نموذج الجرذان المحفزة بالمساعد إلى تضخم الطحال واعتلال العقد اللمفاوية وتغير في وظائف الكبد (Mythilypriya وآخرون، 2008؛ Jeengar وآخرون، 2016).

عند نهاية التجربة تم قتل كل الحيوانات التجريبية تم استئصال الكبد والطحال ووزنهما وحساب مؤشر العضوين (الشكل 26).

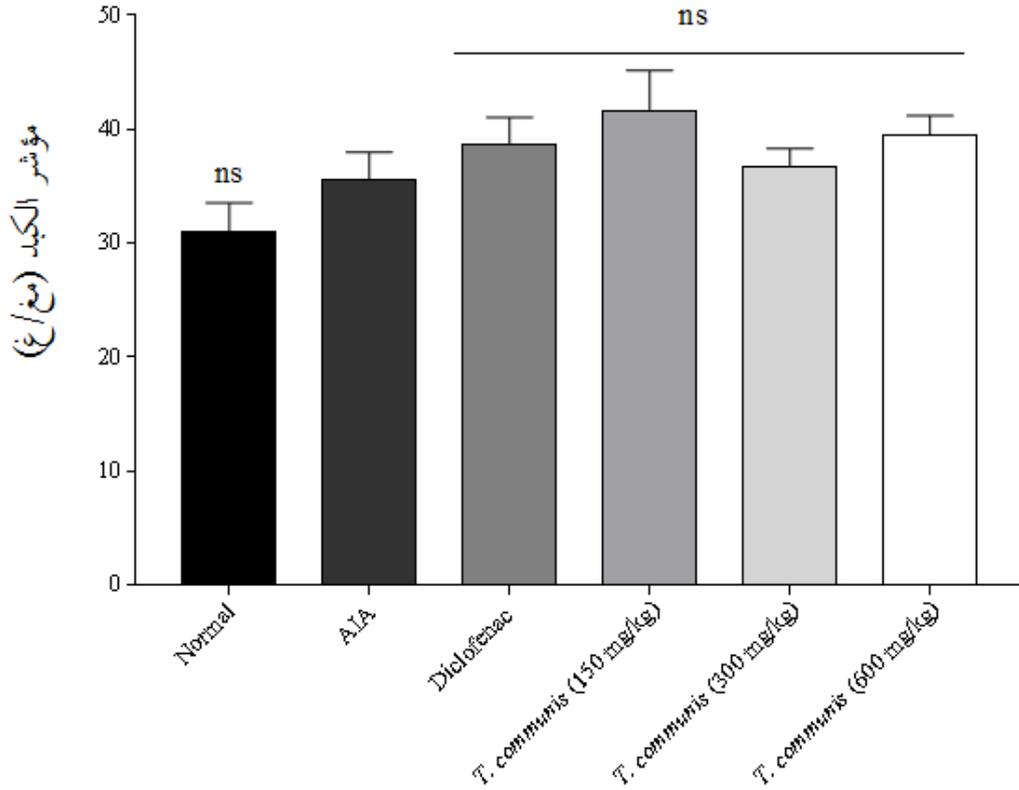


الشكل 26: تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على مؤشر الطحال في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 6).  
 ###  $p > 0.001$ ; ns: غير معنوي عند المقارنة مع المجموعة AIA. \*  $p > 0.05$ , \*\*  $p > 0.01$ ,  
 \*\*\*  $p > 0.001$  عند المقارنة مع مجموعة الشاهد السليمة (normal).

من خلال الشكل 26 نلاحظ زيادة جد معنوية ( $p > 0.001$ ) في وزن الطحال في المجموعة AIA بالمقارنة مع مجموعة الشاهد السليمة (control). بينما المجموعات المعالجة بـ Diclofenac والمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بمختلف الجرعات لم تظهر أي انخفاض معنوي في مؤشر الطحال بالمقارنة مع المجموعة AIA.

يمثل الشكل 27 تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على مؤشر الكبد. يسجل زيادة معتبرة

في وزن الكبد في جردان المجموعة AIA لكنها غير معنوية من الناحية الإحصائية بالمقارنة مع مجموعة الشاهد السليمة. المجموعات المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* وبـ Diclofenac لم تظهر أي انخفاض معنوي في مؤشر الكبد بالمقارنة مع المجموعة AIA.

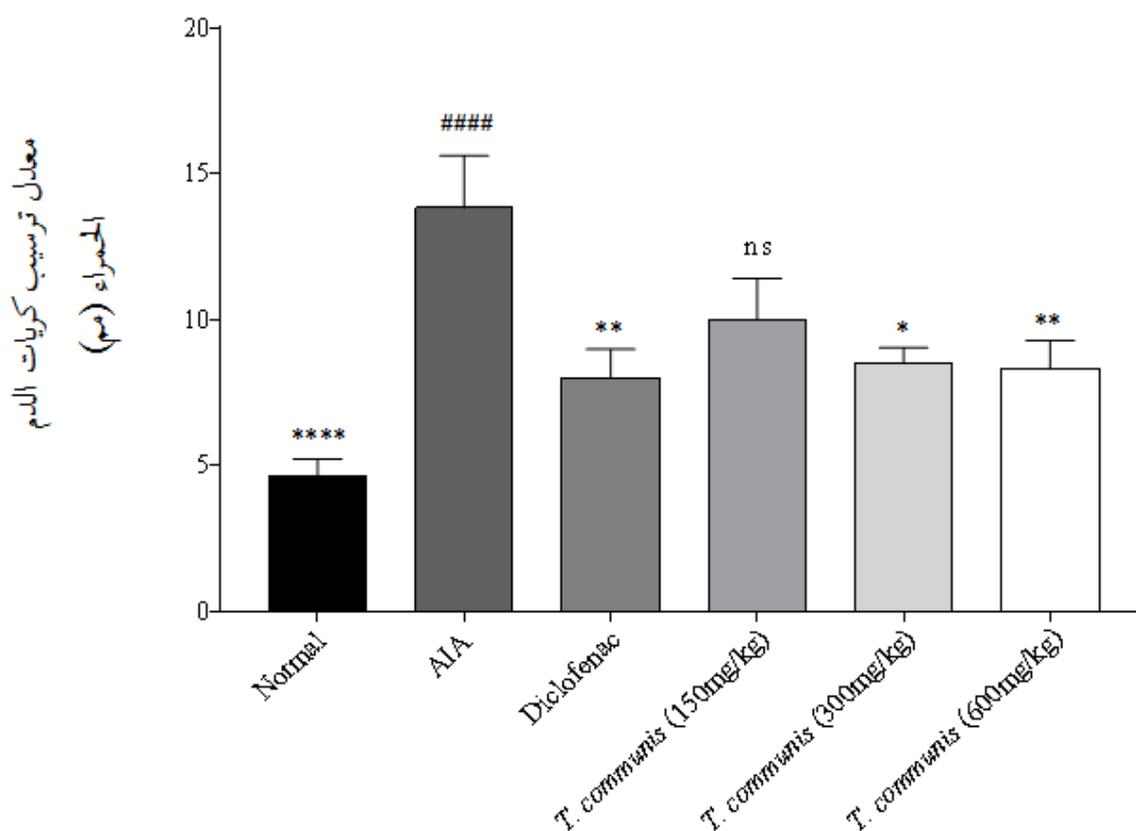


**الشكل 27:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* على مؤشر الكبد في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 6). ns: غير معنوي عند المقارنة مع المجموعة AIA.

### 5.2.6. تأثير *T. communis* على معدل ترسب كريات الدم الحمراء

يعتبر معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء (Erythrocyte Sedimentation Rate) واحدا من بين الاختبارات التي توصف بشكل كبير من قبل الأطباء. يعتمد معدل الترسيب على العديد من العوامل الفيزيولوجية والمرضية مثل تركيز الهيموغلوبين ونسبة البروتينات البلازمية وتركيز الدهون المصلية

pH البلازما (Hashemi وآخرون، 2015). معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء اختبار بسيط وغير مكلف للكشف عن الالتهاب (Mehta وآخرون، 2011). ذكر Kyei (2012) وجود ارتفاع معنوي في معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء خلال التهاب المفاصل، يرجع هذا الارتفاع في معدل الترسيب إلى سرعة تشكل البروتينات البلازمية مثل fibrinogen و  $\alpha/\beta$  globulin (Suresh وآخرون، 2012). كما أشار Wolf (1997) أن اختبار معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء يساعد في الكشف على الإصابة بـ RA. في هذه الدراسة تم استرجاع الدم في اليوم 28 قبل قتل الحيوانات التجريبية ثم قمنا بقياس معدل ترسيب كريات الدم الحمراء.



**الشكل 28:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبات *T. communis* على معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء في نموذج التهاب المفاصل المحفز بالمساعد. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 6). تمت المقارنة مع المجموعة AIA؛ \*  $p > 0.05$ ، \*\*  $p > 0.01$ ، \*\*\*  $p > 0.001$ ، ns: غير معنوي. بالمقارنة مع مجموعة الشاهد السليمة (normal)؛ ####  $p > 0.001$ .

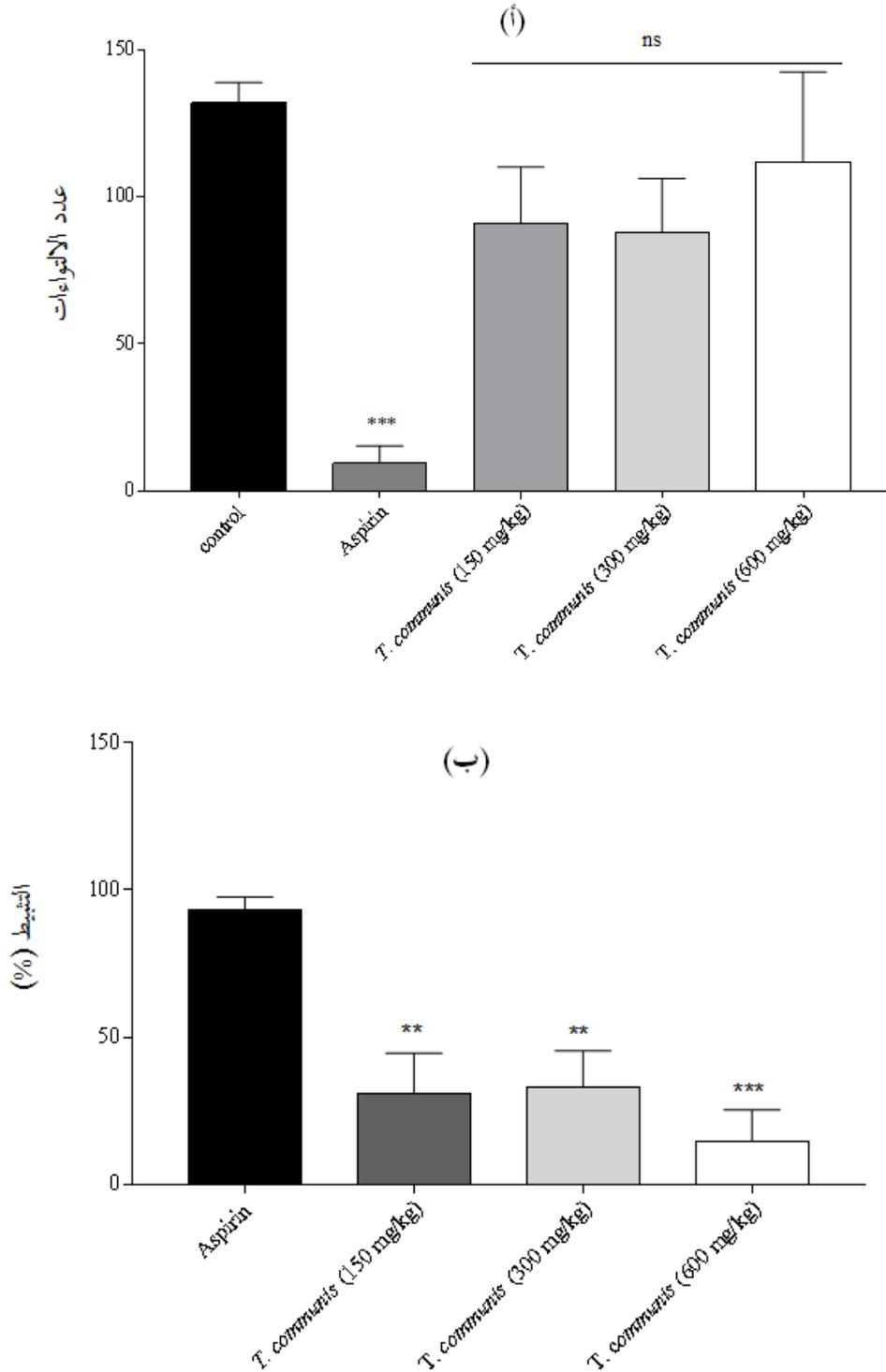
يوضح الشكل 28 تأثير المستخلص الميثانولي لنبات *T. communis* على معدل ترسيب الكريات الدموية

الحمراء. يلاحظ من الشكل زيادة جد معنوية ( $p > 0.001$ ) في معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء في المجموعة AIA ( $1.79 \pm 13.83$  ملم) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد السليمة ( $0.55 \pm 4.66$  ملم). سجل انخفاض معنوي في معدل الترسيب ( $p > 0.01$ ) في المجموعة المعالجة بـ Diclofenac (8.00  $\pm 1.00$  ملم) بالمقارنة مع المجموعة AIA. سمحت المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بالجرعات 300 و600 مغ/كغ بانخفاض معنوي في معدل الترسيب ( $p > 0.05$ ؛  $p > 0.01$  على الترتيب)، في حين لم يسجل أي انخفاض معنوي في المجموعة المعالجة بالجرعة 150 مغ/كغ بالمقارنة مع المجموعة AIA.

## 7. تأثير *T. communis* على الآلام المحفزة بحمض الخل

يستعمل نموذج الآلام المحفزة بحمض الخل بكثرة من أجل تقدير النشاطية المسكنة للألم والنشاطية المضادة للالتهاب (Dzoyem وآخرون، 2017). ينتج عند حقن حمض الخل داخل الصفاق إصابة نسيجية ينتج عنها إفراز العديد من الوسائط الكيميائية مثل الهيستامين، السيروتونين، bradykinin، acetylcholin و prostaglandins. تحفز هذه الوسائط الخلايا العصبية المحيطة المسببة للألم كما أنها تحفز الزيادة في النفاذية الوعائية (Riahi وآخرون، 2011)، بالإضافة إلى ذلك أشارت دراسة قام بها Ribeiro وآخرون (2000) أن سبب الألم في هذا النموذج يمكن أن يكون نتيجة إفراز TNF- $\alpha$ ، IL-1 $\beta$  و IL-8 من الخلايا البالعة وخلايا الماستوسيت المتواجدة على مستوى الصفاق. يترجم الألم عند الفئران في التواء الجسم يشمل تمدد الرجلين الخفيتين وتقلصات على مستوى عضلات البطن. أستعمل هذا النموذج في هذه الدراسة من أجل تقدير النشاطية المسكنة للألم للمستخلص الميثانولي لـ *T. communis*، دونت النتائج في الشكل 29.

بعد حقن الفئران بحمض الخل توضع بشكل فردي ويتم حساب عدد الالتواءات. في المجموعة الشاهدة الغير معالجة سجل عدد معتبر من الالتواءات قدر بـ  $6.7 \pm 132$  التواء. سمحت المعالجة بالأسبيرين بانخفاض جد معنوي ( $p > 0.001$ ) في عدد الالتواءات ( $5.9 \pm 9.28$  التواء) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد غير المعالجة، هذا ما يقابل نسبة تثبيط قدرت بـ  $93.03 \pm 4.53\%$  (الشكل 29-ب). المجموعات المعالجة بمختلف جرعات المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* لم تظهر أي انخفاض معنوي في عدد الالتواءات بالمقارنة مع مجموعة الشاهد غير المعالجة، هذه النتائج تدل على أن المستخلص الميثانولي لـ *T. communis* لا يملك أي تأثير مسكن للألم في نموذج الآلام المحفزة بحمض الخل.



**الشكل 29:** تأثير المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis*؛ أ- على عدد الالتواءات في نموذج الألام المحفزة بحمض الخل، ب- نسب التثبيط. النتائج معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  SEM (n = 6) ومقارنة مع مجموعة الشاهد غير المعالجة؛  $0.01 > p$  \*\*,  $0.001 > p$  \*\*\*. ب- نسب التثبيط، مقارنة مع المجموعة الشاهدة المعالجة؛  $0.01 > p$  \*\*,  $0.001 > p$  \*\*\*.

## المناقشة العامة

استخدمت النباتات الطبية منذ العصور القديمة في الطب التقليدي في علاج العديد من الأمراض. على الرغم من التطور الكبير الذي شهده الطب الحديث في العقود الأخيرة، إلا أن النباتات الطبية مازالت تستعمل بشكل واسع في الرعاية الصحية. طبقاً لمنظمة الصحة العالمية فإن أكثر من 80% من سكان العالم يعتمد في العلاج الأولي على النباتات الطبية خاصة في الدول النامية (Rakotoarivelo وآخرون، 2015). ترجع هذه التأثيرات العلاجية بشكل أساسي إلى المستقبلات الثانوية، حيث تشكل المركبات الفينولية الجزء الأكبر منها والأكثر انتشاراً في المملكة النباتية، تتميز هذه المركبات باختلافها وتنوع بنيتها. أكدت الدراسات أن المركبات الفينولية تملك العديد من التأثيرات البيولوجية عند الإنسان مثل النشاطية المضادة للأكسدة، المضادة للسرطان، المضادة للالتهاب والمضادة لارتفاع مستويات السكر في الدم (Zhang وآخرون، 2018).

*Tamus communis* L. نبتة واسعة الانتشار في شمال الجزائر تعرف باسم الكرمة السوداء، تستعمل هذه النبتة في التخفيف من الآلام الالتهابية، كما تستعمل جذورها في علاج الروماتيزم، آلام الظهر، التهاب المفاصل والأمراض الجلدية. الهدف من هذه الدراسة هو تقدير المحتوى الفينولي للمستخلص الميثانولي لجذور نبتة *T. communis* ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة مخبرياً، المضادة للالتهاب مخبرياً وعلى الكائن الحي، المسكنة للألم والنشاطية المضادة لالتهاب المفاصل.

أعتمد في هذه الدراسة على تقنية الاستخلاص بالنقع باستعمال الميثانول كمذيب عضوي، هذا راجع لأنها طريقة بسيطة وغير مكلفة، كما أنها تسمح باستخلاص عدد أكبر من الجزيئات الموجودة في النبتة. تم بعد ذلك تقدير محتوى المستخلص الميثانولي من عديدات الفينول والفلافونويدات باستعمال طريقة Folin-ciocalteu وطريقة  $AlCl_3$  على الترتيب. بينت النتائج أن المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* يحتوي كمية معتبرة من عديدات الفينول والفلافونويدات حيث قدرت بـ  $0.036 \pm 55.2$  مغ مكافئ

لحمض الغاليك/غ من المستخلص و  $1.191 \pm 0.002$  مغ مكافئ للكرستين/غ من المستخلص على الترتيب. هذه القيم تختلف عن القيم المتحصل عليها في الدراسة التي قامت بها Boumerfeg وآخرون (2009)، يمكن إرجاع هذا الاختلاف إلى طريقة الاستخلاص ونوع المذيب المستعمل بالإضافة إلى مدة الاستخلاص. كما يمكن أن يرجع هذا الاختلاف إلى الموقع الجغرافي، ونوعية التربة والفصل الذي جمعت فيه النبتة، حيث يمكن لدرجة حرارة الهواء، ضوء الشمس ومعدل تساقط الأمطار أن تؤثر في كمية عديدات الفينول من موسم لآخر (Tolić وآخرون، 2017).

قدرت النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا للمستخلص الميثانولي بالاعتماد على اختباري DPPH وتبييض  $\beta$ -carotene/linoleic acid . بينت نتائج اختبار DPPH أن مستخلص *T. communis* يملك القدرة على إزاحة جذر DPPH بقيمة قريبة لقدرة BHT الذي استعمل كشاهد. لاحظنا في هذا الاختبار وجود توافق بين قدرة المستخلص على إزاحة الجذور الحرة وغناها بعديدات الفينول والفلافونويدات. يعتمد اختبار وتبييض  $\beta$ -carotene/linoleic acid على أكسدة الحمض الدهني لينولييك، الذي يؤدي إلى تشكل جذور حرة تهاجم  $\beta$ -carotene مما يؤدي إلى انخفاض اللون البرتقالي الذي تتميز به. تعمل مضادات الأكسدة على حماية  $\beta$ -carotene من الأكسدة عن طريق إبطال أكسدة حمض اللينولييك أو إبطال مفعول الجذور الحرة الناتجة عن أكسدته (Naidu وآخرون، 2011). أظهرت النتائج أن مستخلص النبتة يملك قدرة جد مرتفعة على تثبيط أكسدة  $\beta$ -carotene أو إزاحة الجذور الناتجة عن أكسدة حمض اللينولييك. يمكن إرجاع النشاطية المضادة للأكسدة التي يتمتع بها مستخلص هذه النبتة إلى محتواها من عديدات الفينول والفلافونويدات.

بالمقارنة بين اختباري DPPH وتبييض  $\beta$ -carotene/linoleic acid ، يلاحظ وجود توافق بين النشاطية المضادة للأكسدة ومحتويات النبتة من عديدات الفينول والفلافونويدات. حيث دلت الدراسات على وجود علاقة طردية بين كمية عديدات الفينول والنشاطية المضادة للأكسدة (Namoune وآخرون، 2018).

من المعروف أن تخريب البروتينات النسيجية يؤدي إلى ظهور الأمراض الالتهابية والتهاب المفاصل، حيث يمكن أن يكون ظهور المستضدات الذاتية في الأمراض الالتهابية نتيجة تخريب البروتينات. قد لا تثبط مضادات الالتهاب الغير الستيرويدية مثل Diclofenac إنتاج البروستاغلوندينات فقط بل يمكن أن تثبط تخريب البروتينات، حيث أشارت الدراسات على أنها تثبط تخريب البروتينات المحفزة بالحرارة (Ngoua-Meye-Misso وآخرون، 2018). من أجل تقدير النشاطية المضادة للالتهاب مخبريا تم استعمال اختبار تثبيط تخريب بروتينات الألبومين المصلية وتخريب بروتينات ألبومين البيض المحفزة بالحرارة. من خلال تحليل النتائج اتضح أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* يملك القدرة على تثبيط تخريب البروتينات (الألبومين) المحفز بالحرارة في كلتا الاختبارين، لكن تبقى هذه النشاطية ضعيفة بالمقارنة مع Diclofenac، هذا ما تم تأكيده من خلال حساب  $IC_{50}$ . يمكن أن ترجع هذه النشاطية إلى المستقلبات الثانوية مثل الدباغ وعديدات الفينول مثل الفلافونويدات (Mathew و Dharsana، 2014؛ Rose و Hina، 2018).

قبل إجراء الاختبارات على الحيوانات التجريبية، قمنا بدراسة سمية نبته *T. communis* بالاعتماد على المبادئ التوجيهية لـ OECD-423. بعد إجراء هذا الاختبار لاحظنا أن جميع الجرعات المستعملة لم تقتل الفئران، بالإضافة إلى ذلك لم نسجل ظهور أي علامات من أعراض السمية، لهذا السبب تم اختيار الجرعات 150، 300 و 600 مغ/كغ من أجل دراسة النشاطية البيولوجية للمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis*.

تم تقدير النشاطية المضادة للالتهاب على الكائن الحي باستعمال مجموعة من النماذج الحيوانية من الالتهاب الحاد، حيث استعمل نموذجي وذمة الأذن المحفزة بالكزبان وزيت Croton، كما قدرت هذه النشاطية في نموذجي وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan والدكستران.

تعتبر وذمة الأذن المحفزة بالكزبان نموذج للالتهاب الحاد، يستعمل بكثرة من أجل تقدير التأثير الموضعي لمضادات الالتهاب الستيرويدية وغير الستيرويدية خاصة منها تلك التي تثبط إنزيم

Phospholipase A<sub>2</sub> (Bagad وآخرون، 2013). يحفز الكزيلان ظهور وذمة عصبية المنشأ في المراحل المبكرة من الالتهاب الحاد مرتبطة بشكل خاص بالمادة P. تنتشر هذه المادة في الجهاز العصبي المركزي والمحيطي ويتم إفرازها من الخلايا العصبية الحسية. ينتج عن إفراز المادة P توسع الأوعية الدموية ونفاذية البلازما، تحفز هذه المادة كذلك إفراز العديد من الوسائط الالتهابية مما يؤدي إلى ظهور الوذمة في أذن الفئران (Illuri وآخرون، 2015).

سمحت معالجة الفئران بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ بانخفاض في سمك الوذمة بنسب تثبيط متفاوتة قدرت بـ  $33.38 \pm 9.73\%$ ،  $5.64 \pm 2.68\%$  و24.54  $\pm 11.15\%$  على الترتيب. بمقارنة هذه النسب مع تلك المتحصل عليها في Diclofenac ( $84.29 \pm 2.90\%$ )، نلاحظ أنها جد معنوية ( $p > 0.001$ ) من الناحية الإحصائية. تدل هذه النتائج على أن مستخلص هذه النبتة لا يملك تأثيرا مضادا للالتهاب في نموذج الأذن المحفزة بالكزيلان. يمكن تفسير هذه النتائج على أن مستخلص النبتة لا يملك القدرة على التثبيط المباشر للمادة P أو إبطال تأثير الوسائط الالتهابية المنتجة عن طريق المادة P.

يستعمل نموذج وذمة الأذن المحفزة بزيت Croton بشكل كبير من أجل دراسة العملية الالتهابية. في هذا النموذج ترجع الزيادة في سمك الوذمة بشكل أساسي نتيجة نشاطية PLA<sub>2</sub>، حيث ينتج عن تحفيز هذا الأخير مجموعة متنوعة من eicosanoids (Prostaglandins و Leukotrienes) النشطة بيولوجيا والتي تلعب دور جد مهم في تطور التفاعل الالتهابي. بالإضافة إلى ذلك فإن PKC يحفز إفراز ونشاطية العديد من الوسائط الالتهابية الأخرى مثل السيتوكينات و chemokines التي تزيد من الاستجابة الالتهابية. يمكن لإنزيم PKC النشط تحت تأثير زيت Croton أن يحفز العديد من الإنزيمات الأخرى مثل cyclooxygenase 2 و nitric oxide synthase، مما يؤدي إلى اتساع الأوعية الدموية وزيادة النفاذية الوعائية وهجرة الخلايا البيضاء متعددة النواة للأنسجة، إفراز الهستامين والسيروتونين وإنتاج eicosanoids عن طريق تنشيط إنزيمات cyclooxygenase و 5-lipoxygenase وبالتالي تشكل

الوذمة (Bouriche وآخرون، 2016).

أدت معالجة الفئران بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بالجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ إلى انخفاض ضعيف في سمك الوذمة، حيث قدرت نسبة تثبيط الزيادة في سمك الوذمة بـ 12.51%، و6.81% و5.69% على الترتيب. هذه النسب معنوية ( $p > 0.01$ ) من الناحية الإحصائية مع نسبة التثبيط التي سجلت في المجموعة المعالجة بـ Diclofenac (64.51%). تدل هذه النتائج على أن مستخلص *T. communis* لا يملك القدرة على التثبيط المباشرة PKC أو التخفيض من نشاطيته وبالتالي إيقاف سلسلة التفاعلات الالتهابية وإنتاج eicosanoids وتشكل الجذور الحرة.

جاءت النتائج في نموذجي وذمة الأذن المحفزة بالكزبان وزيت Croton متشابهة، حيث بعد تحفيز الالتهاب الحاد عن طريق التطبيق الموضعي للكزبان وزيت Croton، كانت نسب تثبيط سمك وذمة الأذن لمختلف الجرعات العلاجية لـ *T. communis* معنوية مقارنة مع Diclofenac. هذه النتائج تدل على أن مستخلص *T. communis* لا يملك أي تأثير مضاد للالتهاب في نموذجي وذمة الأذن المحفزة بالكزبان وزيت Croton.

وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan نموذج جد مناسب للالتهاب الحاد، يستعمل بكثرة من أجل تقدير النشاطية المضادة للالتهاب للمستخلصات النباتية. يتميز هذا النموذج بمرحلتين، تبدأ المرحلة الأولى مباشرة بعد حقن Carrageenan وتستمر لساعة من الزمن. أهم ما يميز المرحلة الأولى إفراز الهيستامين، السيروتونين، bradykinin والمادة P، أما المرحلة الثانية (تبدأ بعد الساعة الأولى) يمكن أن تحدث نتيجة هجرة الخلايا المتعادلة نحو موقع التفاعل الالتهابي وإنتاج وإفراز العديد من الوسائط المحفزة للالتهاب مثل PGE2 والعديد من السيتوكينات مثل IL-1 $\beta$ ، IL-6، IL-10 وTNF- $\alpha$  (Ma وآخرون، 2013). بينت النتائج أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ لم يظهر أي انخفاض معنوي في سمك الوذمة بالمقارنة مع مجموعة الشاهد غير المعالجة، يمكن تفسير هذه النتائج على أن مستخلص النبتة لا يملك القدرة على تثبيط إفراز الهيستامين، السيروتونين،

bradykinin والمادة P أو إبطال مفعولها، كما أنه لم ينجح في تثبيط إنتاج PGE2. هذه النتائج تتوافق مع النتائج المتحصل عليها في الدراسة التي قام بها Kupeli وآخرون (2007)، حيث أشارت إلى أن كل من المستخلصات المائية والايثانولية المحضرة من الجزء الهوائي وجذور نبتة *T. communis* لم تظهر أي نشاطية مضادة للالتهاب في نموذج وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan.

يتميز نموذج وذمة القدم المحرصة بالدكستران بمرحلتين، أهم ما يميز المرحلة الأولى (0-1 ساعة) هو زيادة تدفق الدم وتشكل الوذمة نتيجة إفراز الهيستامين، حيث يحفز هذا الأخير زيادة النفاذية الوعائية وتدفق الدم إلى موقع التفاعل الالتهابي. أما المرحلة الثانية (بعد الساعة الأولى) فتتميز بإفراز السيروتونين من خلايا الماستوسيت، كما تتميز هذه المرحلة كذلك بإنتاج الجذور الحرة، bradykinin، PGE2، LTD4 والسيتوكينات (IL-1 $\beta$ ، IL-10، TNF- $\alpha$ )؛ (Xu وآخرون، 2019).

من خلال النتائج المتحصل عليها لاحظنا أن معالجة الجرذان بالجرعات 300 و600 مغ/كغ من المستخلص الميثانولي للنبتة سمحت بانخفاض معنوي في سمك الوذمة في الساعة الثالثة فقط ( $p > 0.05$ )، في حين لم تظهر المجموعة المعالجة بجرعة 150 مغ/كغ أي انخفاض معنوي في سمك الوذمة.

بمقارنة النتائج المتحصل عليها من نموذج وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan والدكستران، يمكن أن نستنتج أن مستخلص النبتة لا يملك القدرة على تثبيط إفراز أو إبطال مفعول الهيستامين، السيروتونين، bradykinin، المادة P وتثبيط إنتاج PGE2. وبالتالي يمكن تفسير النتائج المحصل عليها في نموذج وذمة القدم المحرصة بالدكستران على أن تثبيط الزيادة في سمك الوذمة في الساعة الثالثة يمكن أن يرجع إلى أن مستخلص النبتة ثبط خلايا الماستوسيت على إفراز محتواها من الحبيبات.

التهاب المفاصل المحرض بالفورمالين عبارة عن نموذج تجريبي للالتهاب المزمن، يشبه كثيراً التهاب المفاصل الرثوي عند الإنسان ولهذا يستعمل من أجل دراسة النشاطية المضادة للالتهاب عموماً والمضادة لالتهاب المفاصل خصوصاً (Greenwald، 1991). ينتج عن حقن الفورمالين في باطن القدم ظهور

التهاب محلي الذي يتميز بمرحلتين، أهم ما يميز المرحلة المبكرة (المرحلة العصبية) هو إفراز المادة P، أما المرحلة الثانية (المرحلة الالتهابية) فتتميز بتحرير الوسائط الالتهابية مثل الهيستامين، السيروتونين، Bradykinin و prostaglandins، هذا ما يؤدي إلى اتساع الأوعية الدموية وزيادة النفاذية الوعائية (Alamgeer وآخرون، 2017).

يحفز التهاب المفاصل في هذا النموذج عن طريق حقن 0.1 مل من formaldehyde (2.5% في المحلول الفيزيولوجي) في باطن القدم اليمنى للجرذان في اليوم الأول والثالث، يتم تقدير تأثير مستخلص النبتة بتتبع سمك وذمة القدم لمدة 10 أيام. تبين من خلال النتائج أن المعالجة بالجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ من المستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* لم تسجل أي تثبيط معنوي في زيادة سمك الوذمة ما عدا الجرعة الأولى التي تثبتت زيادة سمك الوذمة بشكل معنوي في اليومين 2 و4 بالمقارنة مع مجموعة الشاهد غير المعالجة. يمكن تفسير هذه النتائج على أنه يمكن لجرعات منخفضة من *T. communis* أن تثبط تحرير الوسائط الالتهابية أو تؤثر على مستقبلاتها في هذا النموذج.

التهاب المفاصل المحفز بالمساعد (AIA) عبارة عن نموذج للالتهاب المزمن، يعتبر من بين أفضل النماذج المستعملة في دراسة التهاب المفاصل الرثوي، هذا راجع إلى أنه يتشابه كثيرا في العلامات السريرية والمرضية الملاحظة في التهاب المفاصل الرثوي عند الإنسان (Ouyang وآخرون، 2019). يحتوي CFA على بفايا بكتيريا *Mycobacterium* المقتولة بالحرارة، ينتج عن حقنه في قدم الجرذان تحفيز تفاعل التهابي. تلعب الخلايا البالعة دور جد مهم في هذا النموذج، حيث تفرز بعد تنشيطها العديد من السيتوكينات مثل IL-1، IL-6، IFN $\alpha$  و TNF- $\alpha$ ، هذه الوسائط مسؤولة على الألام وتآكل الغضروف والعظم التي يمكن أن تسبب إعاقة شديدة. تحفز السيتوكينات المعززة للالتهاب مثل IL-1 تخليق الجذور الحرة مثل أكسيد النيتريك والوسائط الالتهابية مثل PGE2. يمكن لأكسيد النيتريك أن يحفز التصاق الخلايا البيضاء على البطانة الداخلية للأوعية الدموية وتنشيط العديد من الإنزيمات (Baroroh وآخرون، 2014).

حرض التهاب المفاصل المحفز بالمساعد الكامل عن طريق حقن 0.1 مل من CFA في باطن القدم اليمنى للجرذان، تم تقدير التأثير المضاد للتهاب المفاصل بإتباع العديد من المعايير مثل وزن الجردان، Arthritic score، قياس سمك المفاصل، مؤشر الكبد والطحال ومعدل ترسيب كريات الدم الحمراء.

يعتبر التغيير في وزن جسم الجردان كمؤشر على تطور التهاب المفاصل ودراسة تأثير مضادات الالتهاب، يمكن أن يرجع فقدان الوزن إلى اضطراب في الوظائف الاستقلابية عند الجردان المصابة بهذا المرض (Shah وآخرون، 2016). تم وزن الجردان في اليوم الأول، 8، 16، 24 واليوم 28، اتضح من خلال تحليل النتائج أنه لم تسجل أي زيادة معنوية في المجموعات المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بجرعات 150، 300 و600 مغ/كغ بالمقارنة مع المجموعة AIA. يعتبر قياس سمك وذمة القدم طريقة بسيطة، حساسة وسريعة لتقدير تطور الالتهاب والتأثير العلاجي للمستخلص المستعمل (Ratheesh وآخرون، 2009)، لذلك تم قياس سمك القدم اليمنى لكل الجردان في اليوم الأول قبل حقن CFA، ثم كل أربعة أيام حتى نهاية الدراسة. تبين من خلال تحليل النتائج أن جميع الجرعات لم تظهر أي تأثير معنوي على سمك الوذمة، ما عدا المجموعة المعالجة بالجرعة 150 مغ/كغ التي أظهرت انخفاضاً معنوياً في اليوم الأخير من الدراسة. كما تم مراقبة أرجل الجردان من أجل تقدير معدل Arthritic score، بعد تحليل النتائج لم يسجل أي انخفاض معنوي في معدل هذا المؤشر في جميع المجموعات المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis*. يعتبر وزن الكبد والطحال مؤشر جد مهم من أجل دراسة تطور التهاب المفاصل. في اليوم الأخير من الدراسة تم قتل الجردان واستئصال العضوين ويتم حساب مؤشر الكبد والطحال. تبين من خلال دراسة النتائج أن المعالجة بمستخلص النبتة لم يظهر أي انخفاض معنوي في مؤشر الكبد والطحال بالمقارنة مع المجموعة AIA. يتم قياس معدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء من أجل الكشف على الأمراض الالتهابية، يرتبط معدل الترسيب بعدد وحجم كريات الدم الحمراء، كما يرتبط كذلك بسرعة تشكل البروتينات البلازمية مثل  $\alpha/\beta$  globulin و fibrinogen (Shah وآخرون، 2016). سمحت المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* بالجرعات

300 و600 مغ/كغ بانخفاض معنوي في معدل الترسيب، في حين لم يسجل أي انخفاض معنوي في المجموعة المعالجة بالجرعة 150 مغ/كغ بالمقارنة مع المجموعة AIA.

بمقارنة النتائج المتحصل عليها في نموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل، لاحظنا أن المعالجة بمستخلص نبتة *T. communis* لم تؤدي إلى أي انخفاض معنوي في وزن الجردان وسمك وذمة القدم ما عدا الجرعة 150 مغ/كغ التي أظهرت انخفاضا معنويا في اليوم الأخير من الدراسة. كما أنه لم يسجل أي انخفاض معنوي في معدل Arthritic score ومؤشر الكبد والطحال. أما بالنسبة لمعدل ترسيب الكريات الدموية الحمراء، سمحت المعالجة بالجرعات 300 و600 مغ/كغ بانخفاض معنوي في معدل الترسيب، في حين لم يسجل أي انخفاض معنوي بالنسبة للجرعة 150 مغ/كغ. يتضح من خلال هذه النتائج أن مستخلص النبتة لا يملك نشاطية مضادة لالتهاب المفاصل في هذا النموذج.

تم تقدير النشاطية المسكنة للألام باستعمال نموذج الألام المحفزة بحمض الخل. تحفز الألام في هذا النموذج بحقن الفئران بحمض الخل داخل التجويف البطني ويتم تقدير النشاطية المسكنة للألام بحساب عدد الالتواءات. يستعمل هذا النموذج من أجل دراسة النشاطية المسكنة للألم والنشاطية المضادة للالتهاب. ينتج عن حقن حمض الخل داخل التجويف البطني إصابة نسيجية ينتج عنها إفراز العديد من الوسائط الكيميائية مثل الهيستامين، السيروتونين، bradykinin، acetylcholin و prostaglandins. تحفز هذه الوسائط الخلايا العصبية المحيطية المسببة للألم كما أنها تحفز الزيادة في النفاذية الوعائية (Riahi وآخرون، 2011). أشارت الدراسات على أن حقن حمض الخل داخل التجويف البطني ينشط الخلايا البالعة وخلايا الماستوسيت، مما يؤدي إلى إفراز مجموعة من السيتوكينات مثل TNF- $\alpha$ ، IL-1 $\beta$  و IL-8 (Ribeiro وآخرون، 2000). يترجم الألم عند الفئران في التواء الجسم يشمل تمدد الرجلين الخلفيتين وتقلصات على مستوى عضلات البطن. تبين من خلال تحليل النتائج أن جميع المجموعات المعالجة بالمستخلص الميثانولي لنبتة *T. communis* لم تظهر أي انخفاض معنوي في عدد الالتواءات بالمقارنة مع مجموعة الشاهد غير المعالجة، هذه النتائج تدل على أن المستخلص الميثانولي لهذه النبتة لا يملك أي

تأثير مسكن للألم في نموذج الألام المحفزة بحمض الخل.

أظهرت هذه الدراسة أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* يملك نشاطية مضادة للأكسدة ومضادة للالتهاب مخبرياً، يمكن إرجاع هذه النشاطية إلى عديدات الفينول والفلافونويدات التي تحتويها النبتة. في حين أظهرت نتائج الدراسة على الكائن الحي في مختلف النماذج الحيوانية أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* لا يملك أي تأثير مسكن للألم، كما أنه لا يملك نشاطية مضادة للالتهاب الحاد في مختلف النماذج الحيوانية المستعملة. بالنسبة للنشاطية المضادة لالتهاب المفاصل فلقد تبين من خلال النموذجين المستعملين أن المستخلص الميثانولي لنبته *T. communis* لا يملك نشاطية مضادة لالتهاب المفاصل وبالتالي فإن نتائج هذه الدراسة لا تدعم استعمال هذه النبتة في الطب التقليدي في علاج التهاب المفاصل الرثوي.

## قائمة المراجع

- Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH and Hezmee MNM. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review, *Vet. World.* 11(5); 627-635, 2018.
- Adamczyk B, Salminen JP, Smolander A and Kitunen V. Precipitation of proteins by tannins: effects of concentration, protein/tannin ratio and pH. *Int J Food Sci Technol.* 47(4); 875–878, 2012.
- Agbaje EO and Fageyinbo MS. Evaluating Anti-Inflammatory activity of aqueous root extract of *Strophanthus hispidus* DC. *Apocynaceae.* (4); 7-14, 2012.
- Akindele AJ and Adeyemi OO. Anti-inflammatory activity of the aqueous leaf extract of *Byrsocarpus coccineus*. *Fitoterapia.* 78; 25-28, 2007.
- Akramas L, Leonavičienė L, Vasiliauskas A, Bradūnaitė R, Vaitkienė D, Zabulytė D, Normantienė T, Lukošius A and Jonauskienė I. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of herbal preparation EM 1201 in adjuvant arthritic rats. *Medicina.* 51(6); 368–377, 2015.
- Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J.* 21; 143-152, 2013.
- Aletaha D and Smolen JS. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis. *JAMA.* 320(13); 1360-1372, 2018.
- Alivernini S, Tolusso B, Petricca L, Ferraccioli G and Gremese E. Rheumatoid Arthritis. *Mosaic of Autoimmunity.* 501–526, 2019.
- Al-Khateeb E, Ohan AA and Al-Ani H. Cytotoxicity studies of *Tamus communis* root and berries extracts on human HEP-2 and AMN-3 carcinoma cells. *Hygeia.J.D.Med.* 4 (2);1-5, 2012.
- Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG and Lightfoot DA. Phytochemicals: extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants.* 6(4); 42, 2017.
- Andrade SF, Cardoso LGV, Carvalho JCT and Bastos JK. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. *J. Ethnopharmacol.* 109; 464–471, 2007.
- Aouachria S, Boumerfeg S, Benslama A, Benbacha F, Guemmez T, Khennouf S, Arrar L and Baghiani A. Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of *Reichardia picroide* crude extract. *J. Ethnopharmacol.* 208; 105-116, 2017.
- Aquino R, Behar I, de Simone F, Pizza C, Senatof F. Phenanthrene derivatives from *Tamus communis*. *Biochem. Syst. Ecol.* 13; 251–252, 1985.
- Arunachalam LT. Autoimmune correlation of rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Indian Soc Periodontol.* 18; 666-669, 2014.
- Aubin M. La cueillette et la consommation du tamier dans la région d'Albi, Carmaux, Castres. In: Études rurales, n°87-88. La chasse et la cueillette aujourd'hui. pp. 109-113, 1982. doi: <https://doi.org/10.3406/rural.1982.2875>.
- Aymeric JL and Gérard L. Immunologie humain. 1st Ed, De Boeck Université (Paris). pp. 85-90, 2009.

- Badghaish OMM, Qorban GNM, Albaqami AS, Nemer AA, Alali AJ, Al Yaqoub RFH, Alshamrani HA, Badahman OH, Ansaif RA, Alasmari MA, Alghamdi AY, Alshareef HAS, Aljadeed AM, Almohammed AA, Filmban DM and Alaql AS. Rheumatoid Arthritis, Pathophysiology and Management. *Egypt. J. Hosp.* 70 (11); 1898-1903, 2018.
- Bagad AS, Joseph JA, Bhaskaran N and Agarwal A. Comparative Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of *Curcuminoids*, *Turmerones*, and Aqueous Extract of *Curcuma longa*. *Adv Pharmacol Sci.* 1-7, 2013.
- Banerjee S, Chanda A, Adhikari A, Das AK and Biswas S. Evaluation of Phytochemical Screening and Anti Inflammatory Activity of Leaves and Stem of *Mikania scandens* (L.) Wild. *Ann Medical Health Sci Res.* 4; 532-536, 2014.
- Barla A, Öztürk M, Kültür S and Öksüz S. Screening of antioxidant activity of three euphorbia species from turkey. *Fitoterapia.* 78; 423-425, 2007.
- Baroroh HN, Sobri I, Rachmani EPN, Hertiani T and Ikawati Z. *Jatropha curcas* leaves exert anti-arthritis activity on adjuvant-induced arthritis in rats. *Univ Med.* 33 (1); 10, 2015.
- Barros L, Duenas M, Ferreira ICFR, Carvalho AM, Santos-Buelga C. Use of HPLC-DAD-ESI/MS to profile phenolic compounds in edible wild greens from Portugal. *Food Chem.* 127; 169–173, 2011.
- Ben IO, Etim OE and Udo NM. Anti-inflammatory effects of *Napoleona imperialis* P. Beauv. (Lecythidaceae) on rat model of inflammation. *Chemistry.* 9(1); 89-95, 2016.
- Bendele AM. Animal models of rheumatoid arthritis. *J Musculoskel Neuron Interact* 1(4); 377-385, 2001.
- Benly P. Role of Histamine in Acute Inflammation. *J. Pharm. Sci. & Res.* 7(6); 373-376, 2015.
- Bihani GV, Rojatkhar SR and Bodhankar SL. Anti-arthritis activity of methanol extract of *Cyathocline purpurea* (whole plant) in Freund's complete adjuvant-induced arthritis in rats. *Biomed. Aging Pathol.* 4(3); 197–206, 2014.
- Botineau M. Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. *Lavoisier.* p. 98, 2015.
- Bouaziz A, Khennouf S, Abdalla S, Djidel S, Abu Zarga M, Bentahar A, Dahamna S, Baghiani A and Amira S. Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity And Hypotensive Effect Of Algerian Azarole (*Crataegus azarolus* L.) Leaves Extracts. *RES J PHARM BIOL CHEM SCI.* 5(2); 286-305, 2014.
- Boumerfeg S, Baghiani A, Messaoudi D, Khennouf S and Arrar L. Antioxidant properties and xanthine oxidase inhibitory effects of *Tamus communis* L. root extracts. *Phytother Res.* 23; 283-288, 2009.
- Bouriche H, Kherbache A, Kada S, Senator A and Demirtas I. Phenolic content, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Anacyclus clavatus* extracts. *Environ Exp Biol.* 14; 127–135, 2016.
- Boussoualim N, Baghiani A, Krache I, Trabsa H, Khennouf S and Arrar L. Inhibitory effects of *Anchusa azurea* extracts on xanthine oxidase activity and its hypouricemic effects on mice. *Int J Pharm Pharm Sci.* 7(8);195-199, 2015.
- Brooker C. Le corps humain: étude, structure et fonction (le rôle infirmier dans la pratique clinique). 2nd Ed, De Boeck Université (Bruxelles). pp. 187-188, 2001.
- Buodonpri W, Wichitnithad W, Rojsitthisak P and Towiwat P. Synthetic curcumin inhibits carrageenan-induced paw edema in rats. *J Health Res.* 23; 11-6, 2009.

- Byram K , Chinratanalab S and Sergent J. Rheumatoid Arthritis. In Essentials of Physical Medicine and Rehabilitation Musculoskeletal Disorders, Pain, and Rehabilitation. 4 th Ed, ed ELSIEVER. pp. 876-881, 2020.
- Cabrini DA, Moresco HH, Imazu P, da Silva CD, Pietrovski EF, Mendes DA, da Silveira Prudente A, Pizzolatti MG, Brighente IM and Otuki MF. Analysis of the Potential Topical Anti-Inflammatory Activity of *Averrhoa carambola* L. in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 7, 2011.
- Caddick LR, Wilkin P, Rudall PJ, Hedderson TAJ and Chase MW. Yams reclassified: a recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. *Taxon.* 51(1); 103–114, 2002.
- Cai W, Gu X and Tang J. Extraction, Purification, and Characterisation of the Flavonoids from *Opuntia milpa alta* Skin. *Czech J Food Sci.* 28(2); 108–116, 2010.
- Cai X, Wong YF, Zhou H, Xie Y, Liu ZQ, Jiang ZH, Bian ZX, Xu HX and Liu L. The comparative study of Sprague–Dawley and Lewis rats in adjuvant-induced arthritis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 373; 140–147, 2006.
- Calabresi E, Petrelli F, Bonifacio AF, Puxeddu I and Alunno A. One year in review 2018: pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 36; 175-184, 2018.
- Capasso F, Mascolo N, Autore G, De Simone F and Senatore F. Biological and chemical investigation on *Tamus communis* L. Rendiconti Atti Accademiui Scienze Mediche Chirurgiche Napoli. 136;176-190, 1982.
- Carr A, McCall MR and Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 20; 1716-1723, 2000.
- Chandra S, Chatterjee P, Dey P and Bhattacharya S. Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2(1); 178-180, 2012.
- Chatenoud L and Bach JF. Immunité inné et immunité adaptative. In : *Immunologie.* 6th Ed, MédecineSciences Lavoisier (France). pp. 19-22, 2012.
- Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X and Zhao L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 9(6); 7204-7218, 2017.
- Choudhary M, Kumar V, Malhotra H and Singh S. Medicinal plants with potential anti-arthritis activity. *J Intercult Ethnopharmacol.* 4(2); 147–179, 2015.
- Choy EHS and Panayi GS. Cytokine Pathways and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *N. Engl. J. Med.* 344(12); 907–916, 2001.
- Cope AP. Rheumatoid Arthritis. In: Clinical Immunology Principles and Practice. 5th Ed Elsevier Ltd. pp. 705-721, 2019.
- De Carvalho AMR, Rocha NFM, Vasconcelos LF, Rios ERV, Dias ML, Silva MIG, Fonteles MMD, Filho JMB, Gutierrez SJC and de Sousa, FC F. Evaluation of the anti-inflammatory activity of riparin II (O-methyl-N-2-hidroxi-benzoyl tyramine) in animal models. *Chem.-Biol. Interact.* 205(3); 165–172, 2013.
- Delong L and Burkert NW. General and Oral Pathology for Dental Hygienists. 1st Ed Paperback. Lippincott Williams & Wilkins. pp. 44, 2008.
- Derksen VFAM, Huizinga TWJ and van der Woude D. The role of autoantibodies in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol.* 39; 437–446, 2017.

- Dharsana JN and Mathew SM. Preliminary screening of Anti-inflammatory and Antioxidant activity of Morinda umbellata. *Int. J. Pharm. Life Sci.* 5(8); 3774-3779, 2014.
- Dontha S. A review on antioxidant methods. *Asian J Pharm Clin Res.* 9(2); 14-32, 2016.
- Droge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 82; 47-95, 2002.
- Duke JA. CRC Handbook of Medicinal Herbs, 2nd edn. CRC Press: Boca Raton FL. 2002.
- Dzoyem JP, McGaw LJ, Kuete V and Bakowsky U. Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa.* 239–270, 2017.
- Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM and Eslami B. Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. *Cent. Eur. J. Biol.* 5(3); 338-345, 2010.
- Elisha IL, Dzoyem JP, Mc Gaw LJ, Botha FS and Eloff JN. The anti-arthritis, anti-inflammatory, antioxidant activity and relationships with total phenolics and total flavonoids of nine South African plants used traditionally to treat arthritis. *BMC Compl Alternative Med.* 16(1); 307, 2016.
- Espinosa EC and hillet P. La réponse inflammatoire. In : *Immunologie.* 1st Ed, Elliposes Edition Marketing (Paris). pp. 123-153, 2010.
- Fathi H and Ebrahimzadeh MA. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Hypericum perforatum* L. (st. John's wort). *Int. j. for. soil eros.* 3(2); 68-72, 2013.
- Favier A. le stress oxydant. intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *mécanisme biochimique.* 108-115, 2003.
- Firestein GS and McInnes IB. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity.* 46(2); 183–196, 2017.
- Fortin T, Deseroix V and Fricain JC. Analyses biologiques d'intérêt en odontologie. 1st Ed, Edition CDP (Paris). pp. 6-10, 2014.
- Fürst R and Zündorf I. Evidence-Based Phytotherapy in Europe: Where Do We Stand? *Planta Medica.* 81(12/13); 962–967, 2015.
- Gharzouli K, Khennouf S, Amira S, Gharzouli, A. Effects of aqueous extracts from *Quercus ilex* L. root bark, *Punica granatum* L. fruit peel and *Artemisia herba-alba* Asso leaves on ethanol-induced gastric damage in rats. *Phytother Res.* 13; 42-45, 1999.
- Ghozlan I, Achemlal L, Rezqi A, Mounach A, Bezza A and El Maghraoui A. Pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Rev Mar Rhum.* 19; 6-9, 2012.
- Gnat I, Volf I and Popa IV. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* 126; 1821-1835, 2011.
- Greenwald RA. Animal models for evaluation of arthritic drugs. Methods find. *Exp Clin Pharmacol.* 13; 75-83, 1991.
- Guarrera PM and Lucia LM. Ethnobotanical remarks on central and southern Italy. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 3; 23, 2007.
- Gulcin I, Huyut Z, Elmastas M and Aboul-Enein HY. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid.

*Arab. J. Chem.* 3; 43-53, 2010.

Guo Q, Wang Y, Xu D, Nossent J, Pavlos NJ and Xu J. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Res.* 6; 1-14, 2018.

Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK and Pakuwal U. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 15; 4405–9, 2014.

Gutiérrez-Rebolledo GA, Garduño-Siciliano L, Chávez-Rueda AK, Siordia-Reyes AG, Zamilpa A and Jiménez-Arellanes MA. *In vivo* anti-arthritic and antioxidant effects from the standardized ethanolic extract of *Moussonia deppeana*. *Rev Bras Farmacogn.* 28(2); 198–206, 2018.

Halliwell B and Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* 5th Ed, oxford university press, pp. 20- 48, 2015.

Handy DE and Loscalzo J. Redox regulation of mitochondrial function. *Antioxid Redox Signal.* 16(11); 1323-67, 2012.

Hashemi R, Majidi A, Motamed H, Amini A, Najari F and Tabatabaey A. Erythrocyte Sedimentation Rate Measurement Using as a Rapid Alternative to the Westergren Method. *Emergency.* 3(2); 50-53, 2015.

Hina M and Rose JC. *In Vitro* Anti-Inflammatory and Antiarthritic Activity of *Pergularia daemia* Leaves and Roots Iffath. *Int J Drug Dev & Res* 10; 10-13, 2018.

Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MCB and Rahu N. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *OXID MED CELL LONGEV.* 1–9, 2016.

Ifrah N and cahu J-Y. *Hématologie : réussir les ECNi.* 2nd Ed, Elsevier Masson SAS (Paris). pp. 19-20, 2015.

Igbe I, Ching FP and Eromon A. Anti-inflammatory activity of aqueous fruit pulp extract of *Hunteria umbellata* K. Schum in acute and chronic inflammation. *Acta Pol Pharm.* 67(1); 81-5, 2010.

Illuri R, Bethapudi B, Anandakumar S, Murugan S, Joseph J, Mundkinajeddu D, Agarwal A and Chandrasekaran CV. Anti-Inflammatory Activity of Polysaccharide Fraction of *Curcuma longa* Extract (NR-INF-02). *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 14(1); 53–62, 2015.

Iqbal S, Rattu MA and Shah N. Review of Rheumatoid Arthritis. *U S Pharm.* 44 (1); 8-11, 2019.

Jannette JC and falk RJ. immunologic mechanism of vasculitis. In Seldin and Giebisch's *The Kidney: Physiology & Pathophysiology* 1-2. pp. 2319, 2008.

Jeengar MK, Shrivastava S, Mouli Veeravalli SC, Naidu VG and Sistla R. Amelioration of FCA induced arthritis on topical application of curcumin in combination with emu oil. *Nutrition.* 32(9); 955-64, 2016.

Junior OD, Andreucci VC, Cunha IBdS, AraujoCEP, de Oliveira F and Marcucci MC. Investigation of the Anti-inflammatory and Analgesic Activities of a Sample of Brazilian Propolis. *Acta Farm. Bonaerense.* 23(3); 285-91, 2004.

Kamath V and Rajini PS. The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. *Food Chem.* 103; 428-33, 2007.

- Kartal N, Sokmen M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M and Sokmen A. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food chem.* 100; 584-589, 2007.
- Kedare SB and Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol.* 48(4); 412-422, 2011.
- Kobayashi S, Momohara S, Kamatani N and Okamoto H. Molecular aspects of rheumatoid arthritis: role of environmental factors. *FEBS Journal.* 275; 4456-4462, 2008.
- Koster R, Anderson M and DeBeer EJ. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* 18; 412-417, 1959.
- Kovacs A, Forgo P, Zupko I, Réthy B, Falkay G, Szabo P and Hohmann J. Phenanthrenes and a dihydrophenanthrene from *Tamus communis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry.* 68; 687-691, 2007.
- Küçükboyacı N, Dural NNT, Köroğlu A, İşcan G, Aydın A. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Tamus communis* L. ssp. *cretica* (L.) Kit Tan and Its Mineral Composition. *Turk J Pharm Sci.* 12(2); 113-122, 2015.
- Kumari CS, Yasmin N, Hussain MR and Babuselvam M. *In vitro* Anti-inflammatory and anti-arthritic property *Rhizopora mucronata* leaves. *IJPSR.* 6 (3); 482-485, 2015.
- Kupeli E, Orhan I and Yesilada E. Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine for their anti-inflammatory and antinociceptive activities. *Pharm Biol.* 45; 547-555, 2007.
- Kyei S. Anti-inflammatory, anti-pyretic and safety assessment of aqueous and methanolic leaf extracts of *Pistia stratiotes* Linn (Araceae). MSc Thesis, Kwame Nkrumah University of Science and Technology. 2012.
- Leelaprakash G and Dass SM. *In vitro* Anti-Inflammatory activity of Methanol extract of *Enicostemma Axillare*. *Int. J. Drug Dev. & Res.* 3(3); 189-196, 2011.
- Lin B, Zhao Y, Han P, Yue W, Ma XQ, Rahman K, Zheng CJ, Qin LP and Han T. Anti-arthritic activity of *Xanthium strumarium* L. extract on complete Freund s adjuvant induced arthritis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 155(1); 248-255, 2014 .
- Littlejohn EA and Monrad SU. Early Diagnosis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Prim. Care.* 45(2); 237-255, 2018.
- Liu XY, Xu L, Wang Y, Li JX, Zhang Y, Zhang C Wang SS and Zhang XM. Protective effects of total flavonoids of *Astragalus* against adjuvant-induced arthritis in rats by regulating OPG/RANKL/NF- $\kappa$ B pathway. *Int. Immunopharmacol.* 44; 105-114, 2017.
- Lüllmann-Rauch R. HISTOLOGIE. Edition de boek universite. Bruxelles. pp. 287, 2008.
- Ma Y, Li Y, Li X, and Wu Y. Anti-Inflammatory Effects of 4-Methylcyclopentadecanone on Edema Models in Mice. *Int. J. Mol. Sci.* 14(12); 23980-23992, 2013.
- Mahmoudi M, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Hafezi S, Nabavi SM and Eslami SH. Antiinflammatory and

- antioxidant activities of gum mastic. *EUR REV MED PHARMACO*. 14; 765-769, 2010.
- Male D. Immunologie : aide mémoire illustré. 4th Ed, De Boek Université (Paris). pp. 15-80, 2005.
- Mariab E and Hoehn K. Anatomie et physiologie humaines. 9th Ed. Pearson education, (canada). pp. 900-903, 2014.
- Marie I, Njila N, Mahdi E, Lemb DM, Nde Z and Nyonseu D. Review on Extraction and Isolation of Plant Secondary Metabolites. *7th Int'l Conference on Agricultural, Chemical, Biological and Environmental Sciences (ACBES-2017) Kuala Lumpur (Malaysia)*. 22-24, 2017.
- Mary SJ, Chithra B and Sivajiganesan S. *IN VITRO ANTI – INFLAMMATORY ACTIVITY OF THE FLOWERS OF NERIUM OLEANDER (WHITE)*. *Int. j. res. - granthaalayah*. 5; 123-128, 2017.
- McInnes I B and Schett G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*. 365; 2205-19, 2011.
- Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *NATURE*. 454; 428-435, 2008.
- Mehta A, Sethiya NK, Mehta C and Shah GB. Anti-arthritis activity of roots of *Hemidesmus indicus* R.Br. (Anantmul) in rats. *Asian Pac J Trop Med*. 412-420, 2011.
- Mérien D. Le Jeune Hygiéniste par paliers. Edition Lanore (Paris). p. 202, 2016.
- Mythilypriya R, Shanthi P and Sachdanandam P. Therapeutic effect of *Kalpaamruthaa*, a herbal preparation on adjuvant induced arthritis in wistar rats. *Inflammopharmacology*. 16; 21–35, 2008.
- Naidu MM, Shyamala BN, Naik JP, Sulochanamma G and Srinivas P. Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *Lebensm Wiss Technology*. 44; 451- 456, 2011.
- Nakken B, Papp G , Bosnes V, ZeherM, Nagy G and Szodoray P. Biomarkers for rheumatoid arthritis: From molecular processes to diagnostic applications-current concepts and future perspectives. *Immunol. Lett* .189; 13–18, 2017.
- Namoune I, Khettal B, Assaf AM, Elhayek S and Arrar L. Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Organic and Aqueous Extracts of Northeast Algerian *Marrubium vulgare*. *Phytothérapie*. 16; S119–S129, 2018.
- Ngoua-Meye-Misso RL, Cédric SO, De La Croix NJ, Privat OJ, Felix OA and Louis-Clément OE. Phytochemical screening, antioxidant, anti-inflammatory and antiangiogenic activities of *Lophira procera* A. Chev. (Ochnaceae) medicinal plant from Gabon. *Egypt. j. basic appl. sci*. 5; 80–86, 2018.
- Noack M and Kolopp-Sarda MN. Cytokines et inflammation : physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Rev. Francoph. des Lab*. 499; 28–37, 2018.
- Noris M and Remuzzi G. Overview of Complement Activation and Regulation. *Semin. Nephrol*. 33(6); 479–492, 2013 .
- Nourshargh S and AloN R. Leukocyte Migration into Inflamed Tissues. *Immunity*. 41; 694-707, 2014.
- OECD [Organisation for Economic Co-operation and Development]. Guideling for testing of chemicals. *Acute*

*Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method*, No. 423, Paris 2001.

Oliver JE and Silman AJ. Risk factors for the development of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 35; 169–174, 2006.

O'Shea JJ, Gadina M and Siegel RM. Cytokines and Cytokine Receptors. In: Robert RR, Thomas AF, William TS, Harry WS, Anthony JF and Cornelia MW. *Clinical Immunology Principles and Practice*. Elsevier Ltd. P. 127-155, 2019.

Ouyang L, Dan Y, Shao Z, Yang S, Yang C, Liu G, Zhou W and Duan D. Effect of umbelliferone on adjuvant-induced arthritis in rats by MAPK/NF- $\kappa$ B pathway. *Drug Des Devel Ther.* 13; 1163-1170. 2019.

Pahwa R and Jialal I. Chronic Inflammation. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2018.

Pan K, Xia X, Guo W and Kong L. Suppressive effects of total alkaloids of *Lycopodium casuarinoides* on adjuvant-induced arthritis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 159; 17-22, 2015.

Peltier A. Système d'activation plasmatique. in: Russo-Marie F. L'inflammation. Paris: Ed. John Libbey Eurotext, paris. pp. 254. 1998.

Peter AW. Acute and chronic inflammation. In: Charles NS, Peter AW and Derek WG. *Fundamentals of inflammation*. 1st Ed, Cambridge University Press (Cambridge). pp. 1-2, 2010.

Porth MC. Essentials of pathophysiology : concepts of altered health states. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. pp. 60, 2009.

Postiaux G. Mucus et obstruction multifactorielle. In : *Kinésithérapie et bruits respiratoires: nouveau paradigme*. 1st Ed, De Boeck Supérieur (Paris). pp. 48-50, 2016.

Prell RA and Tarrant JM. Cytokines: Role in Homeostasis and Disease States. *Comprehensive Toxicology.* 428–466, 2018.

Rahman H, Eswarajah MC and Dutta AM. *In vitro* Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 15 (1); 115-121, 2015.

Rakotoarivelo NH, Rakotoarivony F, Ramarosandratana AV, Jeannoda VH, Kuhlman AR, Randrianasolo A and Bussmann RW. Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar. *J Ethnobiol Ethnomed.* 11, 68, (2015).

Rameau J, Mansion D and Dumé G. Flore forestière française: guide écologique illustré. Région méditerranéenne. 3<sup>ème</sup> Ed, Ed Forêt privée française. P. 2141, 2008.

Ratheesh M, Shyni GL and Helen A. Methanolic extract of *Ruta graveolens* L. inhibits inflammation and oxidative stress in adjuvant induced model of arthritis in rats. *Inflammopharmacology.* 17; 100–105, 2009.

Rathisre PR, Mohan R and Murugesan K. *In-vitro* Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Root Extract of *Erythrina Indica* Lam. *Int. J. Res. Chem. Environ.* 43; 48 -51, 2013.

Reisch J, Ba'thory M, Szendrei K, Minker E, Nova'k I. Stickstoff-freie Phenanthren-Derivate aus dem Rhizom von *Tamus communis*. *Tetrahedron Lett.* 10; 67–68, 1969.

- Riahi CR, Tarhouni S and Kharrat R. Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgesique des algues marines de la Mer Mediterranee. *Archs. Inst. Pasteur Tunis.* 88;1-4, 2011.
- Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM, Paschoalato AB, Poole S, Ferreira SH and Cunha FQ. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol.* 387; 111–118, 2000.
- Rindfleisch JA and Muller D. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis. *Am. Fam. Physician.* 72; 1037-1047, 2005.
- Roda MJ and Eubank DT. the cellular component of chronic inflammation. In: Roy S, Bagchi D, Raychaudhuri SP. *Chronic Inflammation: Molecular Pathophysiology, Nutritional and Therapeutic.* Nutritional and therapeutic. 1<sup>st</sup> Ed. CRC Press (Boca Roton). pp.21, 2013.
- Saikat S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR and De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines : current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 3(1); 91-100, 2010.
- Saleem A Saleem M Akhtar MF. Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. *S. Afr. J. Bot.* 128; 246-256, 2020.
- Saluja PK, Shukla K and Yadav H. Anti-Arthritic Activity Of Ethano-Medicinal Herbal Plants. *IOSR-JESTFT.* 1(5); 12-23, 2015.
- Schmidt RJ and Moulton SP. The dermatitic properties of black bryony (*Tamus communis* L.). *Contact Dermatitis.* 9; 390-396, 1983.
- Serhan CN, Ward PA and Gilroy DW. *Fundamentals of Inflammation.* Cambridge ; New York : Cambridge University Press. pp. 288, 2010.
- Shah SK, Rao NJ, Patel TH and Patel BV. Antiarthritic Activity of Whole Plant Extract of *Pentatropis capensis* on Wistar Rats. *Austin J Pharmacol Ther.* 4(2) ; 1084, 2016.
- Shaheen F, Ali L, Ali S, Erdemoglu N, Şener B, Antioxidant Flavonoids from *Tamus communis* ssp. *cretica*, *Chem Nat Comp.* 45(3); 346-349, 2009.
- Sherrod L. *Physiologie humaine.* 3rd Ed, De Boeck Supérieur (Paris).pp. 310-312, 2015.
- Sighn-cundy A and Shine G. *Découvrir la biologie.* 2<sup>ème</sup> Ed. De book supérieur (Paris). pp. 725-727, 2017.
- Slavich GM and Irwin MR. From Stress to Inflammation and Major Depressive Disorder: A Social Signal Transduction Theory of Depression. *Psychol Bull.* 140(3); 774–815, 2014.
- Slimani S, Abbas A, Ben Ammar A, Kebaili D, Ali EH, Rahal F, Khamari MC, Baltache A, Khider I, Chiheub R, Khelif K, Akbi S, Rahmani S, Dahou-Makhloufi C, Brahimi-Mazouni N, Abtroun-Benmadi S and Ladjouze-Rezig A. Characteristics of rheumatoid arthritis in Algeria: a multicenter study. *Rheumatol Int.* 34(9); 1235–1239, 2014.
- Smeltzer SC and Bare BG. Affections hématologiques. In : *Soins infirmiers en médecine et chirurgie : fonction rénale et reproductrice.* 5th Ed, De Boeck Supérieur, (Canada, Québec). p. 1180-1184, 2011.
- Smolen JS, Aletaha D and McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet.* 388; 2023–38, 2016.
- Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein G S, Kavanaugh A, McInnes IB, Solomon DH, Strand V and Yamamoto K.. Rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 4; 18001, 2018.

- Sullivan KE. Pathogenesis of Pediatric Rheumatologic Diseases. *Pediatr Clin N Am.* 65; 639–655, 2018.
- Sultani M, Stringer AM, Bowen JM and Gibson RJ. Anti-Inflammatory Cytokines: Important Immunoregulatory Factors Contributing to Chemotherapy-Induced Gastrointestinal Mucositis. *Chemother Res Pract.* 1-11, 2012.
- Suresh P, Kavitha ChN, Babu SM, Reddy VP and Latha AK. Effect of Ethanol Extract of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) Seeds on Freund's Adjuvant-Induced Arthritis in Albino Rats. *Inflammation.* 35; 1314-1321, 2012.
- Sy GY, Barbosa FS, Wele A, Gueye PM, Gueye CD, Cissé A, Dieye AM, Bassène E and B Faye. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'annora *rticulata* (annoaceae) sur l'oedème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines.* 15; 23 – 25, 2008.
- Tampa M, Mitran MI, Mitran CI, Sarbu MI, Matei C, Nicolae I, Caruntu A, Tocut SM, Popa MI, Caruntu C and Georgescu SR. Mediators of Inflammation – A Potential Source of Biomarkers in Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Immunol Res.* 1-12, 2018.
- Tang LQ, Wei W and Wang XY. Effects and mechanisms of catechin for adjuvant arthritis in rats. *Adv Ther.* 24; 679-90, 2007.
- Taylor PC and Narayan N. Aetiopathology of rheumatoid arthritis. *Medicine.* 46(4); 207–210, 2018.
- Tsai HY, Lin YT, Tsai CH and Chen YF. Effects of paeoniflorin on the formalin-induced nociceptive behaviour in mice. *J. Ethnopharmacol.* 75(2-3); 267–271, 2001.
- Turner MD, Nedjai B, Hurst T, and Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta.* 1843(11); 2563–2582, 2014.
- Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moor DM, Valentine DH, Walters SM and Webb DA. *Dioscorea*. Flora Europeae. Cambridge University Press. Pp. 84- 85, 1972.
- Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M and Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Review. *Int J Biochem Cell B.* 39; 44–84, 2007.
- Veras HNH, Araruna MKA, Costa JGM, Coutinho HDM, Kerntopf MR, Botelho MA and Menezes IRA. Topical Antiinflammatory Activity of Essential Oil of *Lippia sidoides* Cham: Possible Mechanism of Action. *Phytother. Res.* 27(2);179-85, 2013.
- Wang SY, Lan XY, Xiao JH, Yang JC, Kao YT and Chang ST. Antiinflammatory activity of *Lindera erythrocarpa* fruits. *Phytother Res.* 22(2); 213-6, 2008.
- Weill B, Batteux F and Dhainault J. Réaction inflammatoire, Conduite à tenir: aspects biologiques et cliniques. In Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds De Boeck (Université Paris). Pp. 12-23, 2003.
- Wheater PR, Young B, Dowd GO and Woodford P. Atlas d'histologie fonctionnelle de weather. 1st Ed, De Boeck Supérieur (Paris). pp. 56-6, 2015.
- Whiteley PE and Dalrymple SA. Models of Inflammation: Adjuvant-Induced Arthritis in the Rat. *Curr Protoc Pharmacol.* doi:10.1002/0471141755.ph0505s13, 2001.
- Wolfe F. Comparative usefulness of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in patients with

rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 24(8); 1477-85, 1997.

[www.gastronomiac.com/glossaire\\_des\\_produits/tamier/](http://www.gastronomiac.com/glossaire_des_produits/tamier/)

Xiao-Li W, Chu-Wen L, Hai-Ming C, Zu-Qing S, Xiao-Ning Z, Jian-Nan C, Xiao-Ping L, Xiao-Jun Z and Zi-Ren S. Anti-Inflammatory Effect of Supercritical-Carbon Dioxide Fluid Extract from Flowers and Buds of *Chrysanthemum indicum* Linné. *Evid Based Complement Alternat Med.* 1-13, 2013.

Xu M, Chen Q, Fan R, Wang J and Li Y. Anti-Inflammation Effect of Small Molecule Oligopeptides Prepared from *Panax ginseng* C. A. Meyer in Rats. *Molecules.* 24(5); 858, 2019.

Yagci ZB, Esvap E, Ozkara HA, Ulgen KO and Ozkirimli E. Inflammatory response and its relation to sphingolipid metabolism proteins: Chaperones as potential indirect anti-inflammatory agents. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 1-67, 2018.

Zerargui F, Baghiani A, Khenouf S and Arrar L. Antioxidant activity assessment of *Tamus communis* L. roots. *Int J Pharm Pharm Sci.* 12 (8); 64-71, 2016.

Zhang C, Jiang M, Guoh Zheng G, Yang J and Lu A. Chinese Herbal Medicines for Rheumatoid Arthritis. *Adv Bot Res.* 62; 274-312, 2012.

Zhang CF, Zhang SL, He X, Yang XL, Wu HT, Lin BQ., Jiang CP, Wang J, Yu CH, Yang ZL, Wang CZ, Li P and Yuan CS. Antioxidant effects of Genkwa flos flavonoids on Freund's adjuvant-induced rheumatoid arthritis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 153(3); 793–800, 2014.

Zhang LL, Wei W, Yan SX, Hu XY and Sun WY. Therapeutic effects of glucosides of *Cheanomeles speciosa* on collagen-induced arthritis in mice. *Acta Pharmacol Sin.* 25(11); 1495-501, 2004.

Zhang Q, Lin L and Ye W. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med.* 13; 20, 2018.

Zhang TT Hu T, Jiang JG, Zhao JW and Zhu W. Antioxidant and anti-inflammatory effects of polyphenols extracted from *Ilex latifolia* Thunb. *RSC Advances.* 8(13); 7134–7141, .2018.

Zhao HX, Zhang HS and Yang SF. Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food Sci. Human Wellness.* 3; 183-190, 2014.

## ملخص

تستخدم نبتة الكرمة السوداء (*Tamus communis* L.) في الطب التقليدي من أجل التخفيف من الآلام الالتهابية وعلاج الروماتيزم. تهدف هذه الدراسة إلى تقدير النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب وبالخصوص التهاب المفاصل للمستخلص الميثانولي لهذه النبتة. بينت نتائج التقدير الكمي أن المستخلص الميثانولي يحتوي على كمية من عديدات الفينول، الفلافونيدات والديباغ قدرت بـ  $55.2 \pm 0.036$  مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف للمستخلص،  $1.191 \pm 0.002$  مغ مكافئ للقرعوتين/غ من الوزن الجاف للمستخلص، و  $173.37 \pm 2.65$  مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص على الترتيب. تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة باستعمال اختبار إزاحة الجذور الحرة DPPH بالإضافة إلى اختبار تثبيط فوق أكسدة الليبيدات باستعمال اختبار بيتا-كاروتين /حمض اللينولييك. بينت النتائج أن المستخلص الميثانولي لنبتة الكرمة السوداء يملك قدرة إزاحية معتبرة حيث قدرت  $IC_{50}$  بـ  $0.128 \pm 0.011$  مغ/مل، كما يملك قدرة مرتفعة على تثبيط فوق أكسدة الليبيدات حيث قدرت نسبة التثبيط بـ  $88.13 \pm 4.03\%$ . قدرت النشاط المضاد للالتهاب مخبريا عن طريق اختبار تثبيط تخريب بروتينات الألبومين المصلية والبيومين البيض حيث بينت النتائج أن مستخلص النبتة يملك نسب تثبيط معتبرة. من أجل الدراسة على الكائن الحي تم اختيار ثلاث جرعات (150، 300 و 600 مغ/كغ) من مستخلص النبتة لكون المستخلص لم يظهر أي تأثير سمي على الحيوانات المختبرة. دلت النتائج على أن مستخلص هذه النبتة لا يملك تأثيرا مضادا للالتهاب في نموذجي وذمة الأذن المحفزة بالكزبان ووذمة الأذن المحفزة بزيت Croton، كما أن معالجة الجرذان بمختلف جرعات مستخلص الكرمة السوداء لم تظهر أي تأثير مضاد للالتهاب في نموذج وذمة القدم المحفزة بـ Carrageenan. أما في نموذج وذمة القدم المحرصة بالدكستران فأدت معالجة الجرذان بالجرعات 300 و 600 مغ/كغ إلى انخفاض معنوي في سمك الوذمة في الساعة الثالثة، في حين لم تظهر المجموعة المعالجة بالجرعة 150 مغ/كغ أي تأثير معنوي. سمحت معالجة الجرذان بالجرعة 150 مغ/كغ في نموذج التهاب المفاصل المحفز بالفورمالين بانخفاض سمك الوذمة في اليومين الثاني والرابع من الدراسة، في حين لم يسجل أي انخفاض في المجموعتين المعالجتين بالجرعات 300 و 600 مغ/كغ. أما بالنسبة لنموذج التهاب المفاصل المحفز بمساعد فروند الكامل فإن معالجة الجرذان بمختلف جرعات المستخلص الميثانولي للكرمة السوداء لم تظهر أي تأثير يذكر على مختلف المعايير التي اختيرت من أجل تقدير تأثير مستخلص النبتة. وأخيرا تم تقدير النشاط المسكن للألم بدراسة نموذج الآلام المحفزة بحمض الخل فأظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي لهذه النبتة لا يملك أي تأثير مسكن للألم في هذا النموذج. من خلال النتائج المتحصل عليها فإن هذه الدراسة لا تدعم بشكل كبير استعمال هذه النبتة في الطب التقليدي لعلاج الالتهابات وخاصة المفصلية منها.

**الكلمات الدالة:** *Tamus communis*، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، التهاب المفاصل المحرض، النشاط المسكن للألم.

## Abstract

*Tamus communis* L. called *El-Karma Saouda*, is used in traditional medicine to reduce inflammatory pain and to treat rheumatism. The aim of this study is to evaluate the antioxidant, antiinflammatory, and antiarthritic activities of methanolic extract. The results of the quantitative evaluation showed that the methanol extract contains amounts of polyphenols, flavonoids and tannins of  $55.2 \pm 0.036$  mg gallic acid equivalent /g of extract,  $1.191 \pm 0.002$  mg quercetin equivalent /g of extract and  $173.37 \pm 2.65$  mg Tannic acid equivalent/g of extract, respectively. The DPPH and beta-carotene/linoleic acid tests were used to evaluate the antioxidant activity *in vitro*. Results demonstrated that *T. communis* had a very important scavenging activity ( $IC_{50} = 0.128 \pm 0.011$  mg/mL) and showed a great activity for inhibition of lipide peroxidation ( $88.13 \pm 4.03\%$ ). The antiinflammatory activity of methanolic extract was evaluated *in vitro* by bovine serum albumin and egg albumin denaturation methods. Results revealed that the methanolic extract had acceptable inhibition of protein denaturation. Three doses (150, 300 and 600 mg/kg body weight) were selected for *in vivo* studies after being sure of the non toxicity of the extract at these doses. The results showed that the methanolic extract of *T. communis* has no antiinflammatory effect in xylene-induced ear edema and croton oil-induced edema models. Equally, in carrageenan-induced paw edema, all doses of *T. communis* did not show any significant inhibition of edema. However, treatment with 300 and 600 mg/kg of extract decreased paw edema in the third hour in Dextran model. In contrast, formaldehyde-induced paw edema decreased at the dose of 150 mg/kg days 2 and 4. However, doses of 300 and 600 mg/kg did not show any activity. In adjuvant-induced arthritis, all used doses did not show changes in chosen parameters to evaluate antiarthritic activity. Finally, the results acetic acid-induced writhing showed that all doses of methanolic extract of *T. communis* did not have any analgesic effects in this model. Unfortunately, these results did not support the use of *Tamus communis* in folk medicine in the treatment of inflammation and arthritis.

**Key words :** *Tamus communis*, Antioxidant activity, antiinflammatory activity, rheumatoid arthritis, analgesic effect.

## Résumé

*Tamus communis* L. connu par *El-Karma Saouda*, est utilisée traditionnellement pour réduire les douleurs inflammatoires et traiter le rhumatisme. L'objectif de la présente étude est d'estimer l'activité antioxydante, antiinflammatoire et antiarthritique de l'extrait méthanolique de *T. communis*. Les résultats de l'évaluation quantitative ont montré que l'extrait méthanolique contient une teneur en polyphénols, flavonoïdes et en tanins de  $55.2 \pm 0.036$  mg d'équivalent acide gallique/g de l'extrait,  $1.191 \pm 0.002$  mg d'équivalent quercetin/g de l'extrait et  $173.37 \pm 2.65$  mg d'équivalent acide tannique /g de l'extrait, respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* par l'utilisation des tests de DPPH et de beta-carotène/acide linoléique. Les résultats ont révélé que *T. communis* présente une activité de piégeage très importante ( $IC_{50}$  de  $0,128 \pm 0,011$  mg/mL) et possède une grande activité d'inhibition de la peroxydation lipidique ( $88.13 \pm 4.03\%$ ). L'activité antiinflammatoire a été évaluée *in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine et de l'albumine du blanc d'œuf. Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique possède des capacités acceptables d'inhibition de la dénaturation des protéines. D'autre part, trois doses de *T. communis* (150, 300 and 600 mg/kg de poids corporel) ont été choisies pour les études *in vivo* après qu'un test de toxicité montrant la non toxicité de l'extrait. Les résultats obtenus ont démontré que l'extrait méthanolique ne présente aucun effet anti-inflammatoire dans les modèles de l'œdème de l'oreille induit par le xylène et celui induit par l'huile de croton. Dans les modèles de l'œdème de la patte induit chez le rat par la Carragénine, aucune inhibition remarquable de l'œdème n'a été montrée pour toutes les doses de *T. communis*. Cependant, le traitement par 300 et 600 mg/kg de l'extrait méthanolique a significativement diminué l'épaisseur de l'œdème à la troisième heure dans le modèle de Dextran. L'administration par voie orale de 150 mg/kg de l'extrait, montre une diminution de l'œdème de la patte dans les 2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> jours dans le modèle de l'arthrite induite par le formaldéhyde. Cependant, les doses 300 et 600 mg / kg n'ont montré aucune activité. Dans l'arthrite induite par l'adjuvant complet de Freund, toutes les doses utilisées n'ont pas montré de changement dans les paramètres choisis pour l'évaluation de l'activité antiarthritique. Enfin, dans le modèle de contorsions induit par l'acide acétique, les résultats ont montré que toutes les doses de l'extrait méthanolique de *T. communis* ne démontrent aucun effet analgésique. Ces résultats ne supportent pas l'utilisation de *T. communis* en médecine traditionnelle dans le traitement de l'inflammation et de l'arthrite.

**Mots clés :** *Tamus communis*, Activité antioxydante, activité antiinflammatoire, arthrite induite, effet analgésique.