DOI: 10.48305/jims.v40.i670.0307

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | سال چهلم/شماره‌ی ۶۷۰/هفته‌ی دوم تیر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۲۷ | تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۴/۱۴

اثر محافظتی عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی کبر بر فاکتورهای التهابی در آرتریت روماتوئید در موش‌های صحرایی

الهام اعتمادی[۱]، محمد فضیلتی[۲]، اکبر کریمی[۳]، حبیب اله ناظم[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: آرتریت روماتوئید، بیماری خود ایمنی با منشاء التهابی است. امروزه خواص ضد التهابی عصاره‌ی گیاهان دارویی به عنوان یک جایگزین مناسب برای داروهای ضد التهابی مورد توجه است. در طب سنتی از قسمت‌های مختلف کبر Capparis Spinosa L. برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثر محافظتی عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی کبر بر فاکتورهای التهابی در آرتریت روماتوئید در موش‌های صحرایی انجام شد.

روش‌ها: موش‌ها به صورت تصادفی در ۵ گروه (n = ۶) تقسیم شدند. آرتریت روماتوئید در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با استفاده از ادجوانت فروند کامل در کف پنجه‌ی عقب پای راست موش‌ها القا شد. متوترکسات و عصاره‌ی ریشه‌ی کبر (۳، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) روزانه به مدت ۱۴ روز به صورت داخل صفاقی تجویز شد. در پایان دوره، حیوانات قربانی شدند. پارامترهای سرولوژی و هماتولوژی بررسی گردیدند.

یافته‌ها: سطوح سرمی عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (TNF-α (Tumor necrosis factor-α)، اینترلوکین-۶ (Interleukine-6)، IL-6، پروتئین واکنشگر-C (C-Reactive protein) CRP، آنتی‌بادی ضد پپتید سیترولینه حلقوی (Anti-cyclin citrullinated peptide) Anti-CCP، فاکتور روماتوئید (Rheumatoid factor) RF و مقادیر سرعت رسوب گلبول قرمز (Erythrocyte sedimentation rate) ESR، نوتروفیل (Neutrophil)، لنفوسیت (Lymphocyte)، گلبول سفید (White blood cell) و پلاکت (Platelets) در گروه آرتریت روماتوئید نسبت به گروه نرمال افزایش معنی‌داری یافتند و در گروه‌های تیمار نسبت به گروه آرتریت روماتوئید به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد (P < ۰/۰۰۱). میانگین گلبول قرمز (Red blood cell)، هموگلوبین (Hemoglobin) و هماتوکریت (Hematocrit) در گروه آرتریت روماتوئید نسبت به گروه نرمال به صورت معنی‌داری کاهش و در گروه‌های تیمار با ریشه‌ی کبر نسبت به گروه آرتریت روماتوئید به صورت معنی‌داری افزایش نشان داد (P < ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: التهاب، نقش مهمی در روند بیماری آرتریت روماتوئید ایفا می‌کند. بر خلاف متوترکسات با عوارض جانبی گسترده، عصاره‌ی ریشه‌ی کبر با اثر ضد التهابی، موجب کاهش عوامل التهابی و بهبود نسبی وضعیت آرتریت و کم خونی در موش‌های صحرایی مبتلا به آرتریت روماتوئید شد.

واژگان کلیدی: آرتریت روماتوئید؛ التهاب؛ سایتوکین؛ عصاره ریشه‌ی کبر

ارجاع: اعتمادی الهام، فضیلتی محمد، کریمی اکبر، ناظم حبیب اله. **اثر محافظتی عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی کبر بر فاکتورهای التهابی در آرتریت روماتوئید در موش‌های صحرایی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۷۰): ۳۱۷-۳۰۷

مقدمه

التهاب، پاسخ فیزیولوژیک سیستم ایمنی به محرک‌های مضر مانند پاتوژن‌ها، سلول‌های آسیب دیده و ترکیبات سمی می‌باشد (۱). التهاب، در سطح بافت با قرمزی، تورم، گرما، درد و از دست دادن عملکرد بافت مشخص می‌گردد (۲). تغییرات مهمی که در طی فرایند التهاب رخ می‌دهد شامل تغییرات نفوذپذیری عروق، جذب و تجمع لکوسیت‌ها و آزادسازی واسطه‌های التهابی است (۳).

آرتریت روماتوئید (Rheumatoid arthritis) بیماری التهابی خودایمن با تظاهرات خارج مفصلی است که مفاصل سینوویال را به صورت متقارن تحت تأثیر قرار داده و با تظاهرات بالینی مانند تورم،

۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور ص.پ.۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

۲- استاد، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور ص.پ.۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور ص.پ.۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: الهام اعتمادی: دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور ص.پ.۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

Email: elham.etmadi@student.pnu.ac.ir

قرمزی، درد و محدودیت حرکتی همراه می‌باشد (٤). عوامل ژنتیکی و محیطی به عنوان عوامل اصلی در پاتوژنز آرتریت روماتوئید پیشنهاد شده‌اند. بیماری RA با التهاب و آسیب مداوم مفاصل ناشی از فیبروبلاست‌های تکثیر شده در بافت سینوویال، انتقال و تجمع نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها به داخل بافت سینوویال مشخص می‌گردد (٥). ماکروفاژها از طریق انتشار ماتریکس متالوپروتئینازهای یک و سه (MMP-1,3, Matrix Metalloproteinase-1,3) مسؤول ایجاد التهاب و تخریب غضروف هستند (٦). نوتروفیل‌ها، اولین و فراوان‌ترین لکوسیت‌هایی هستند که به سینوویال مفاصل ملتهب می‌رسند. نوتروفیل‌های فعال شده، سایتوکین‌های پیش‌التهابی را تحریک و ترشح می‌کنند و منجر به التهاب حاد و مداوم می‌شوند (٧).

گزارش شده است که RA با تولید بیش از حد سایتوکین‌های پیش‌التهابی عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (TNF-α, Tumor necrosis factor-α)، اینترلوکین-٦ (Il-6, Interleukine-6) نیتریک اکسید (No, Nitric oxide) و پروستاگلاندین‌ها (PGE2, Prostaglandins) مرتبط است که نقش مهمی در پیشرفت و پاتوژنز این بیماری دارند (٨). افزایش TNF-α نقش حیاتی در شروع درد، التهاب مفاصل، تغییر شکل استخوان و ناتوانی عملکرد مفصل ایفا می‌کند (٩). عمل سیترولیناسیون به همراه التهاب توسط آنزیم پروتئین آرژینین دایمینیداز (PAD, protein arginine deiminases) آرژینین به سیترولین تبدیل و تولید آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن‌های پپتیدهای سیترولینه حلقوی (Anti-CCP) القا می‌گردد. ایزوآنزیم‌های پروتئین آرژنین دیمیناز-٢ و ٤ (PAD-2,4) بیشتر با آرتریت روماتوئید مرتبط هستند، زیرا در سلول‌های ایمنی بیش از حد بیان می‌شوند (١٠). فاکتور روماتوئید RF (Rheumatoid factor) و آنتی‌بادی ضد پپتید سیترولینه حلقوی Anti-CCP (Anti-cyclin citrullinated peptide) به عنوان شاخص‌هایی در تشخیص زودهنگام آرتریت روماتوئید مطرح شده است و در سرم بیماران RA بسیار مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده‌ی پیشرفت بیماری و التهاب فعال هستند (١١).

متوترکسات، به عنوان داروی استاندارد طلایی برای مدیریت و کنترل بیماری RA در نظر گرفته می‌شود. اثر ضدالتهابی متوترکسات در آرتریت روماتوئید با مهار آنزیم تیمیدیلات سنتاز (Thymidylate synthetase TS) منجر به ترشح آدنوزین می‌شود. اتصال آدنوزین به گیرنده‌های آدنوزین-١، ٢ (Adenosine-1,٢) باعث مهار تکثیر لنفوسیت‌ها و کاهش سایتوکین‌های پیش‌التهابی و اینترلوکین‌ها می‌گردد (١٢). با وجود اثربخشی در RA، احتمال قطع داروی متوترکسات به دلیل اثرات نامطلوب مثل اختلال در دستگاه گوارش، مغز استخوان، کم خونی، لکوپنی، ترمبوسیتوپنی، سمیت کبد و کلیه وجود دارد (١٣).

با توجه به این که تعداد بیماران مبتلا به RA هر سال افزایش می‌یابد، یافتن راهکارهایی برای درمان‌های جایگزین، ارزان‌تر، مؤثرتر و با عوارض جانبی کمتر در افراد مبتلا به RA ضروری می‌باشد. امروزه گیاهان دارویی به دلیل اثرات درمانی خود برجسته هستند و بسیاری از آن‌ها برای درمان بالینی آرتریت روماتوئید استفاده می‌شوند (١٤). از میان ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در گیاهان، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ساپونین‌ها به دلیل فعالیت ضدالتهابی، بیشترین ارتباط را برای درمان آرتریت روماتوئید دارند و دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تعدیل‌کننده‌ی ایمنی در آرتریت روماتوئید هستند (١٥).

گیاه دارویی کبر Capparis spinosa Linn، گیاهی دو لپه، جدا گلبرگ و چند ساله متعلق به خانواده‌ی کاپاریداسه (Capparidaceae) است. در طب سنتی از کل گیاه کبر به عنوان یک گیاه دارویی به دلیل اثرات مفید برای درمان بیماری‌های مختلف انسانی استفاده شده است (١٦، ١٧). عصاره‌ی آبی و الکلی ریشه‌ی گیاه کبر، غنی از پلی‌فنل‌هاست که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی از خود نشان می‌دهد (١٨). جایگزینی گیاهان دارویی ایمن، فاقد عوارض و ترکیبات زیست فعال مختلف موجود در گیاهان با هدف مهار سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌توانند به عنوان رویکرد درمانی جدید برای درمان آرتریت روماتوئید مورد مطالعه قرار گیرند. لذا هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر محافظتی عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی کبر بر فاکتورهای التهابی در آرتریت روماتوئید در موش‌های صحرایی می‌باشد.

روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی، بر روی ٣٠ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ١٨٠ تا ٢٠٠ گرم (سن ٦-٨ هفته)تهیه شده از لانه‌ی حیوانات جهاد دانشگاهی پژوهشگاه رویان تهران انجام شد. موش‌ها، در لانه‌ی حیوانات دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان و مطابق با شرایط استاندارد (تحت دما و رطوبت کنترل شده و سیکل شبانه‌روزی ١٢ ساعت روشنایی/ تاریکی) نگهداری شدند، همچنین دسترسی آزادانه به آب و غذای کافی برای آن‌ها تأمین گردید. این پژوهش با تصویب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های زیستی، دارای کد اخلاق IR.PNU.REC.1400.195 می‌باشد. موش‌ها طبق اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی، پس از یک هفته سازگاری با شرایط محیط درگروه‌های مختلف به صورت تصادفی در ٥ گروه (n = ٦) (گروه نرمال، گروه آرتریت روماتوئید و سه گروه تیمار) تقسیم شدند. گروه نرمال: شامل ٦ رت که آرتریت روماتوئید در آن‌ها ایجاد نشد. میزان ١ سی‌سی نرمال‌سالین به شیوه‌ی داخل صفاقی دریافت کردند. گروه آرتریت روماتوئید: شامل ٦ رت که آرتریت روماتوئید با استفاده

از ادجوانت فروند کامل (Freund's complete adjuvant) FCA (۰/۲ میلی‌لیتر) به صورت زیر جلدی در کف پنجه‌ی عقب پای راست آن‌ها ایجاد شد. طی دوره‌ی پژوهش، موش‌ها هیچ دارویی به غیر از ۱ سی‌سی نرمال‌سالین به شیوه‌ی داخل صفاقی، دریافت نکردند. گروه آرتریت روماتوئید تیمار با داروی استاندارد: داروی استاندارد متوترکسات را در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن به شیوه داخل صفاقی دریافت کردند (۱۹). گروه‌های آرتریت روماتوئید تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر: عصاره‌ی گیاه ریشه‌ی کبر را در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن به شیوه‌ی داخل صفاقی دریافت کردند (۲۰).

مواد و دستگاه‌های مورد استفاده: مواد مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر عبارتند از: ادجوانت کامل فروند (Freund's complete adjuvant) FCA شرکت Sigma، آمریکا، کیت‌های مخصوص TNF-α و IL-6 شرکت کارمانیا پارس ژن (KPG)، ایران، کیت مخصوص Anti-CCP شرکت سامان تجهیز نور کمپانی AESKU DIAGNOSTICS GmbH &Co.KG، آلمان، کیت مخصوص CRP شرکت پارس آزمون تهران، ایران، کیت مخصوص RF شرکت انیسون، ایران، دستگاه اولتراسونیک مدل SOLTEC-2200-M، ایتالیا، دستگاه روتاری تقطیر در خلاء مدل HS2005SN ساخت کمپانی HAHN SHIN، کره جنوبی و دستگاه سیسمکس Sysmex K-1۰۰۰ Hematology Analyzer، ژاپن.

روش القاء آرتریت روماتوئید و ایجاد التهاب: به منظور بررسی روند تأثیر عصاره‌ی ریشه‌ی کبر بر التهاب مفصل و مدل تجربی بیماری آرتریت روماتوئید، ۲٤ سر موش صحرایی نر به چهار گروه (n = ٦) برای القای بیماری تقسیم شدند. در روز صفر، در همه‌ی گروه‌ها به جزء گروه نرمال با استفاده از ادجوانت فروند کامل (Freund's complete adjuvant) FCA (۰/۲ میلی‌لیتر) به مدت دوازده روز (در سه دوز تقسیم شده، یک دوز هر ٤ روز) در کف پنجه‌ی عقب پای راست موش‌های صحرایی به صورت تزریق زیر جلدی بیماری آرتریت روماتوئید القاء شد (۲۱).

شاخص نمره‌گذاری و ارزیابی آرتریت روماتوئید: ارزیابی و شاخص شدت آرتریت روماتوئید با مقیاس نمره‌گذاری پنج هر ٤ روز یکبار نمره‌گذاری و ارزیابی شد. صفر (عدم تورم و قرمزی)، یک (تورم و قرمزی در مفصل و انگشت پا)، دو (تورم و قرمزی مفصل و انگشتان پا)، سه (تورم و قرمزی شدید از انگشتان پا تا مفاصل مچ پا)، چهار (تورم و قرمزی مفاصل انگشتان و مچ پا کامل). سیستم امتیازدهی برای تعیین شدت آرتریت روماتوئید برای هر موش از صفر تا حداکثر ١٦ بود. تورم و اندازه‌گیری حجم پنجه‌ی عقب پای راست هر ٤ روز یکبار به وسیله‌ی کولیس انجام شد (۱۱). به منظور ارزیابی اثرات درمانی عصاره‌ی ریشه‌ی کبر و داروی استاندارد متوترکسات بر روند بیماری پس از القاء آرتریت روماتوئید، هر سه گروه مبتلا به آرتریت روماتوئید به مدت ١٤ روز تحت درمان قرار گرفتند (۲۱).

روش تهیه‌ی عصاره‌گیری ریشه‌ی گیاه کبر: ریشه‌ی گیاه کبر (Caper root) از فروشگاه معتبر گیاهان دارویی شهر اصفهان تهیه گردید و نمونه در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان شناسایی شد و با کد هرباریومی (ESFAHAN-1۷۸۸) مورد تأیید قرار گرفت. ریشه‌ی گیاه کبر توسط آسیاب برقی، پودر و از الک با مش ٤۰ عبور داده شده تا کاملاً یکنواخت گردد. برای تهیه‌ی عصاره، ابتدا ۵۰ گرم از پودر ریشه‌ی کبر با ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰ درجه مخلوط گردید. نمونه‌ی تهیه شده در دستگاه اولتراسونیک مد SOLTEC-2200-M ساخت کشور ایتالیا در دمای ٤۰ درجه به مدت ٤۰ دقیقه قرار داده شد. در پایان عصاره‌ی استخراج شده با ۷۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ و قسمت بالای مخلوط با سمپلر جدا گردید و از صافی ٤۵ درصد میکرون عبور داده شد. جهت جداسازی حلال و تغلیظ عصاره به وسیله‌ی دستگاه روتاری تقطیر در خلاء (در دمای ٤۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) مدل HS2005SN ساخت کمپانی HAHN SHIN کره جنوبی انجام شد. سپس برای حذف باقی‌مانده‌ی حلال عصاره‌ی تغلیظ شده درون آون خلاء به طور کامل خشک گردید (۱۸). مقدار باقی‌مانده‌ی عصاره در محلول محاسبه و از آن دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تهیه شد (۲۰). از قرص‌های ۲/۵ میلی‌گرمی متوترکسات با توجه به وزن موش‌های صحرایی، دوز لازم در نرمال‌سالین تهیه گردید.

درمان موش‌های صحرایی مبتلا به آرتریت روماتوئید با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر و داروی متوترکسات: ۵ گروه ٦تایی موش صحرایی مورد مطالعه، شامل گروه نرمال، گروه آرتریت روماتوئید و سه گروه مبتلا به آرتریت روماتوئید که تحت تیمار بودند. گروه نرمال و گروه آرتریت روماتوئید هر روز ۱ سی‌سی نرمال‌سالین به شیوه‌ی داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه‌های مبتلا به آرتریت روماتوئید تحت تیمار نیز هر روز متوترکسات و عصاره‌ی ریشه‌ی کبر را به ترتیب در دوزهای ۳، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ١٤ روز دریافت کردند (۱۹، ۲۰).

خون‌گیری و ارزیابی نمونه‌های خونی: در روز بیست و هفتم، موش‌ها بیهوش شده و با استفاده از خون‌گیری مستقیم از قلب آن‌ها نمونه‌ی خون تهیه شد. هر نمونه‌ی خون به دو بخش تقسیم گردید. بخش اول، میزان پارامترهای خونی از جمله (گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، پلاکت، نوتروفیل و لنفوسیت) توسط دستگاه (Sysmex K-1000 Hematology Analyzer, Japan, Advanc) و

سطح سرمی سرعت رسوب گلبول قرمز ESR به روش وسترگرین Westergren تعیین و ارزیابی گردید. بخش دوم، نمونه‌های خون به داخل لوله‌های هپارینه نشده منتقل شد، سپس توسط دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با شتاب ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت، نمونه‌ها توسط سمپلر از لخته جدا شد و به اپندرف منتقل و تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای سنجش میزان سطوح سرمی TNF-α و IL-6 از کیت‌های مخصوص TNF-α و IL-6 شرکت کارمانیا پارس ژن (KPG) ساخت کشور ایران و برای ارزیابی سطوح سرمی Anti-CCP از کیت شرکت سامان تجهیز نور کمپانی AESKU DIAGNOSTICS GmbH &Co.KG ساخت کشور آلمان استفاده شد و هر سه پارامتر به روش (ELISA) Enzyme-linked immunosorbent-assay اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری سطح سرمی CRP به روش ایمونوتوربیدیمتریک توسط کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران انجام گرفت. همچنین سطوح سرمی RF نیز به وسیله‌ی کیت مخصوص RF شرکت انیسون ساخت کشور ایران به روش تست لاتکس اندازه‌گیری شد.

در این مطالعه، نتایج به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار در نظر گرفته شده است. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون ANOVA همراه با آزمون تعقیبی Tukey انجام گرفت. تمام آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) و در سطح معنی‌داری P < ۰/۰۵ انجام شد.

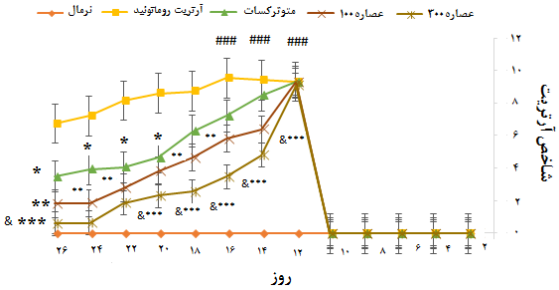
یافته‌ها

نتایج حاصل از عصاره‌ی ریشه‌ی کبر بر شاخص آرتریت روماتوئید:

نتایج حاصل از ارزیابی شاخص نمره‌گذاری آرتریت روماتوئید در شکل ۱ و ۲ آورده شده است. گروه نرمال در طول دوره‌ی پژوهش هیچ علائم آرتریتی نداشتند. پس از تزریق ادجوانت فروند کامل در کف پنجه‌ی عقب پای راست در همه‌ی گروه‌ها به جز گروه نرمال باعث افزایش تورم، قرمزی، تغییر شکل مفصل و افزایش اندازه‌ی حجم پنجه شد و اوج التهاب در روز ۱۲ مشاهده گردید (شکل ۱، ۲). شدت علائم بالینی آرتریت روماتوئید از روز ۱۲ تا ۱۶ در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد (P < ۰/۰۰۱). از روز ۱۷ به بعد، علائم بالینی آرتریت روماتوئید در گروه آرتریت روماتوئید، کاهش نشان داد اما معنی‌دار نبود (P > ۰/۰۵) (شکل ۱). با توجه به نتایج آماری و (شکل ۲)، در روز ۱۴ به بعد، میانگین نمره‌گذاری آرتریت روماتوئید (التهاب، تورم، قرمزی و افزایش اندازه‌ی حجم پنجه) در موش‌های تحت درمان با ۰/۰۵ سی‌سی عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوز ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید، به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد (P < ۰/۰۰۱، P < ۰/۰۱، P < ۰/۰۵) (شکل ۲). تفاوت بین گروه متوترکسات و عصاره‌ی ۳۰۰ ریشه‌ی کبر معنی‌دار بود (P < ۰/۰۵).

شکل ۱. تغییرات شدت علائم بالینی در گروه آرتریت روماتوئید. شدت علائم بالینی آرتریت روماتوئید از روز ۱۲ تا ۱۶ در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد ###P < ۰/۰۰۱. از روز ۱۷ به بعد علائم بالینی آرتریت روماتوئید در گروه آرتریت روماتوئید کاهش نشان داد اما معنی‌دار نبود P > ۰/۰۵. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

عصاره‌ی ریشه‌ی کبر وابسته به دوز در مقایسه با گروه متوترکسات با دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند اثربخشی بهتر و به صورت معنی‌داری علایم آرتریت روماتوئید را کاهش دهد.



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین شاخص آرتریت در موش‌های صحرایی مبتلا به آرتریت روماتوئید. در گروه آرتریت روماتوئید تغییرات شدت علایم آرتریت روماتوئید در روز ۱۲ و ۱۶ در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری مشاهده شد ###P < ۰/۰۰۱. در گروه‌های تحت درمان با متوترکسات و عصاره ریشه کبر شدت علایم آرتریت روماتوئید از روز ۱۴ به بعد در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید به صورت معنی‌داری تا پایان دوره‌ی تیمار کاهش نشان داد. *P < ۰/۰۵، **P < ۰/۰۱، ***P < ۰/۰۰۱. تفاوت بین گروه متوترکسات و عصاره ۳۰۰ ریشه کبر معنی‌دار بود &P < ۰/۰۵. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

جدول ۱. بررسی و مقایسه میانگین وضعیت میزان سطوح سرمی TNF-α, IL-۶, CRP, Anti-CCP, RF در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	نرمال	آرتریت روماتوئید	متوترکسات ۳mg/kg	عصاره‌ی کبر ۱۰۰mg/kg	عصاره‌ی کبر ۳۰۰mg/kg	P
TNF-α (pg/ml)	۳/۸۵ ± ۵۲/۸۸	۷/۶۴۹ ± ۴۹/۶۴****	۵/۶۷ ± ۸۵/۷۳***	۵/۷۶ ± ۴۹/۴۳***	۴/۷۶ ± ۵۹/۵۶***	۰/۰۰۱
IL-6 (pg/ml)	۳/۸۳ ± ۵۱/۱۴	۷/۸۷ ± ۵۳/۰۸****	۶/۰۵ ± ۸۰/۱۸**	۵/۸۰ ± ۸۷/۲۷***	۴/۶۶ ± ۵۶/۴۵+***	۰/۰۰۱
CRP (ml/l)	۸/۹۳ ± ۳/۰۳	۱۵/۰۰ ± ۲/۳۶****	۱۰/۵۰ ± ۰/۷۸۴*	۹/۳۵ ± ۱/۱۵**	۷/۹۳ ± ۱/۲۳***	۰/۰۰۱
Anti-CCP (IU/ml)	۳/۵۸ ± ۳/۹۵	۶۰/۰۰ ± ۱۰/۵۸****	۴۰/۸۳ ± ۶/۲۴***	۴۱/۵۰ ± ۵/۹۵**	۳۷/۵۰ ± ۵/۱۶***	۰/۰۰۱
RF (IU/ml)	۲/۲۵ ± ۱/۸۳	۴۰/۵۰ ± ۱۳/۰۸****	۲۹/۸۳ ± ۶/۲۱*	۲۲/۶۶ ± ۲/۵۸**	۱۸***+۳/۸۸ ± /۳۳	۰/۰۰۱

جدول ۱ نشان می‌دهد، غلظت سطوح سرمی TNF-α در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). سطوح سرمی TNF-α در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). اختلاف معنی‌داری بین دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ عصاره‌ی ریشه‌ی کبر و متوترکسات مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). همچنین غلظت سطوح سرمی IL-6 در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). سطوح سرمی IL-6 در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$، $P < ۰/۰۱$).

سطوح سرمی IL-6 کاهش معنی‌داری در دوز ۳۰۰ عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در مقایسه با متوترکسات مشاهده شد ($P > ۰/۰۵$). میانگین میزان CRP در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). میانگین میزان CRP در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$، $P < ۰/۰۱$، $P < ۰/۰۵$). میزان CRP بین گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر و متوترکسات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). غلظت سطوح سرمی Anti-CCP در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). سطوح سرمی Anti-CCP در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$، $P < ۰/۰۱$). میزان Anti-CCP در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر و متوترکسات اختلاف معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$).

میانگین میزان RF در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). میانگین میزان RF در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$، $P < ۰/۰۱$، $P < ۰/۰۵$). سطوح سرمی RF در دوز ۳۰۰ عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در مقایسه با متوترکسات کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$).

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد، میزان ESR در گروه آرتریت روماتوئید نسبت به گروه نرمال، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). میزان ESR در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۱$، $P < ۰/۰۵$). میزان ESR در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر و متوترکسات، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). میانگین میزان نوتروفیل در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید نسبت به گروه نرمال، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). میانگین میزان نوتروفیل در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$) ($P < ۰/۰۵$). میزان نوتروفیل در دوز ۳۰۰ عصاره‌ی ریشه‌ی کبر نسبت به متوترکسات، کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۱$).

مقایسه‌ی میانگین لنفوسیت در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). مقایسه‌ی میانگین لنفوسیت در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری یافت ($P < ۰/۰۰۱$، $P < ۰/۰۱$)، اما میزان لنفوسیت در گروه متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P > ۰/۰۵$).

جدول۲. بررسی و مقایسه میانگین وضعیت میزان سطوح سرمی ESR, Neut, Lymph, WBC, RBC, HB, HCT, PLT در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	نرمال	آرتریت روماتوئید	متوترکسات ۳mg/kg	عصاره‌ی کبر ۱۰۰mg/kg	عصاره‌ی کبر ۳۰۰mg/kg	P
ESR (mm/hr)	۹/۸۳ ± ۲/۷۸	۱۶/۰۰ ± ۱/۴۱****	۱۰/۵۰ ± ۲/۰۷*	۹/۸۰ ± ۱/۷۸**	۸/۱۶ ± ۳/۱۸**	۰/۰۱
Neut (pg/ml)	۲۸/۳۳ ± ۵/۸۸	۶۵/۸۳ ± ۱۴/۷۱****	۴۹/۱۶ ± ۱۰/۴۹*	۳۴/۸۵ ± ۱۰/۲۸***	۲۶/۲۰ ± ۵/۰۶$^{++****}$	۰/۰۰۱
Lymph (pg/ml)	۵۵/۸۳ ± ۹/۶۰	۷۲/۸۳ ± ۶/۲۷****	۶۱/۵۰ ± ۵/۸۹	۵۴/۱۴ ± ۹/۲۹**	۴۳/۰۰ ± ۱۰/۴۱$^{+***}$	۰/۰۰۱
WBC (10^3/µl)	۴/۷۰ ± ۱۷۵۰/۴۲	۹/۷۶ ± ۱۱۷۲/۴۶****	۶/۴۱ ± ۹۷۸/۶۰**	۴/۸۱ ± ۱۳۳۳/۴۵***	۴/۴۰ ± ۱۳۹۲/۸۳***	۰/۰۰۱
RBC (10^6/µl)	۶/۵۸ ± ۰/۲۶۷	۴/۵۸ ± ۰/۷۲۳****	۴/۹۲±۰/۷۵۰	۶/۰۹ ± ۰/۳۸۹$^{++***}$	۶/۷۶ ± ۰/۲۵۲$^{+++***}$	۰/۰۰۱
HB (g/dl)	۱۲/۳۶ ± ۰/۸۵۴	۹/۱۳ ± ۱/۴۳****	۱۰/۰۳ ± ۱/۴۴	۱۳/۰۱ ± ۰/۷۳۱$^{+++***}$	۱۳/۴۲ ± ۰/۴۱۴$^{+++***}$	۰/۰۰۱
HCT (%)	۳۶/۵۰ ± ۲/۲۳	۲۹/۰۶ ± ۵/۷۹****	۳۱/۸۰ ± ۲/۹۰	۳۵/۷۵ ± ۱/۰۷**	۳۶/۸۲ ± ۱/۳۳$^{+**}$	۰/۰۱
PLT (10^3/µl)	۳/۷۷ ± ۵۴/۷۵	۷/۹۳ ± ۱۰۵/۸۹****	۳/۶۵ ± ۲۲۲/۷۸***	۵/۱۳ ± ۸۱/۸۹**	۵/۵۳ ± ۷۵/۰۱$^{+*}$	۰/۰۰۱

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. $^{****}P < ۰/۰۰۱$ اختلاف معنی‌دار گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال، $^{***}P < ۰/۰۰۱$، $^{**}P < ۰/۰۱$، $^{*}P < ۰/۰۵$ اختلاف معنی‌دار گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید، $^{+++}P < ۰/۰۰۱$، $^{++}P < ۰/۰۱$، $^{+}P < ۰/۰۵$ اختلاف معنی‌دار گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در مقایسه با متوترکسات

ESR: Erythrocyte sedimentation rate; Neut: Neutrophil; Lymph: Lymphocyte; WBC: White blood cell; RBC: Red blood cell; HB: Hemoglobin; HCT: Hematocrit; PLT: Platelets.

همچنین میزان لنفوسیت در دوز ۳۰۰ عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در مقایسه با گروه متوترکسات کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$). مقایسه‌ی میانگین گلبول سفید در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال افزایش معنی‌داری یافت ($P < ۰/۰۰۱$). مقایسه‌ی میانگین گلبول سفید در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$، $P < ۰/۰۱$). میزان گلبول سفید در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر و گروه متوترکسات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$).

جدول ۲ نیز نشان می‌دهد، مقایسه‌ی میانگین گلبول قرمز و هموگلوبین در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). مقایسه‌ی میانگین گلبول قرمز و هموگلوبین در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$، $P < ۰/۰۱$). میانگین گلبول قرمز و هموگلوبین در گروه متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). میانگین گلبول قرمز و هموگلوبین در گروه‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در مقایسه با گروه متوترکسات، افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$). میانگین حجم هماتوکریت در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). میانگین حجم هماتوکریت در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۱$). میزان هماتوکریت در گروه متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P > ۰/۰۵$). میزان حجم هماتوکریت در دوز ۳۰۰ عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در مقایسه با گروه متوترکسات افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). میانگین حجم پلاکت در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). میانگین حجم پلاکت در گروه‌های تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید، کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۱$، $P < ۰/۰۵$). میزان پلاکت در گروه متوترکسات در دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). میزان حجم پلاکت در گروه متوترکسات در مقایسه با عصاره‌ی ۳۰۰ ریشه‌ی کبر، کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$).

بحث

تعدیل سیستم ایمنی با استفاده از گیاهان دارویی و یا ترکیبات آن‌ها می‌توانند به عنوان جایگزین برای درمان انواع بیماری‌های خودایمنی و التهابی، مورد استفاده قرار گیرند (۲۲). گیاهان حاوی پلی‌فنل‌ها، خاصیت ضدالتهابی و ضد روماتیسمی از خود نشان می‌دهند. با مهار التهاب از طریق تعدیل مسیر سیگنالینگ پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن (Mitogen activated protein kinases, MAPK)، مهار فاکتور هسته‌ای کاپابتا (Nuclear factor Kappa-Beta) NF-Kβ و فاکتورهای رونویسی فعال‌کننده‌ی پروتئین-۱ (Activator protein-1) AP-1 تولید سایتوکین‌ها و کموکین‌ها را سرکوب می‌کنند (۲۳).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند، بسیاری از ترکیبات مؤثره‌ی گیاهی با اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود علائم آرتریت روماتوئید و مهار التهاب می‌شوند (۲٤) که می‌توان به گیاه بادام هندی (۲۵) و آلوئه تراسکی (۲٦) اشاره نمود. مطالعات آزمایشگاهی اثرات کبر و ترکیبات فعال آن را به عنوان عامل ضد التهابی و مهارکننده‌ی تولید واسطه‌های التهابی نشان دادند (۲۷). عصاره‌ی آبی برگ کبر افزایش سطوح سرمی سایتوکین‌های التهابی در موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی را بهبود بخشید (۲۸).

در مطالعه‌ای گزارش شده است ترکیبات مؤثره‌ی عصاره‌ی برگ کبر در شرایط التهابی، می‌تواند افزایش بیان ژن‌های IL-4 و IL-17 را سرکوب کند (۲۲). مدل موشی آرتریت روماتوئید ناشی از ادجوانت فروند کامل (Freund's complete adjuvant) FCA پرکاربردترین مدل برای ارزیابی و اثربخشی داروها و گیاهان ضد التهابی است (۱۹). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مدل آرتریت روماتوئید ناشی از FCA در موش‌ها، سبب افزایش معنی‌داری در تورم و حجم پنجه گردید. اوج علائم التهاب، تورم، قرمزی و افزایش حجم پنجه در روز ۱۲ مشاهده شد. این نتایج با مطالعات قبل، مطابقت داشت (۲۹).

تجویز درمانی عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در هر دو دوز و داروی متوترکسات بر موش‌های صحرایی نر مبتلا به آرتریت روماتوئید علایم التهاب و آرتریت روماتوئید ایجاد شده (التهاب، تورم، قرمزی و افزایش حجم پنجه) توسط FCA را کاهش می‌دهند، اما اثر ضد التهابی عصاره‌ی ریشه‌ی کبر به ویژه در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با متوترکسات باعث کاهش بیشتر التهاب و عملکرد بهتری در بهبود شدت علایم آرتریت روماتوئید گردید که با نتایج مطالعات قبل هم‌خوانی داشت (۱۱، ۱۹).

در مطالعه‌ای نشان داده شد، عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی کبر در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با داروی دیکلوفناک، سبب کاهش التهاب و تورم حجم پنجه، افزایش وزن بدن و بهبود وضعیت پارامترهای خونی ناشی از تغییرات FCA می‌گردد (۳۰).

در مطالعه‌ی حاضر، غلظت سطوح سرمی TNF-α و IL-6 در گروه آرتریت روماتوئید افزایش یافت و موش‌های تحت تیمار با متوترکسات و عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش قابل توجهی در سطوح سرمی IL-6, TNF-α نشان داد. کاهش روند التهاب با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر به دلیل وجود ترکیبات مؤثره و ظرفیت بالقوه‌ی این گیاه است که اثرات ضد التهابی و تعدیل‌کننده‌ی ایمنی این ترکیبات شناخته شده است (۱۵، ۱۸، ۲۲). فلاونوئیدها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و تعدیل‌کننده‌ی ایمنی هستند. آلکالوئیدها و ساپونین‌ها نیز اثر تعدیل‌کننده بر ایمنی دارند و در بیماری RA فعالیت سایتوکین‌های پیش‌التهابی IL-12, IL-10, IL-6, IL-1B, TNF-α را تعدیل و تنظیم می‌کنند (۱۵).کروسین در دوز ٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با کاهش علائم آرتریت روماتوئید و مهار بیان سایتوکین‌های پیش‌التهابی از پیشرفت بیماری AR جلوگیری می‌کند (۳۱).

CRP یک نشانگر التهابی است و با افزایش بیان TNF-α و IL-6 تشدید می‌شود (۳۲). سطوح بالای CRP، RF و Anti-CCP نشان‌دهنده‌ی التهاب سیستمیک فعال و سبب پیشرفت بیماری آرتریت روماتوئید هستند (۱۹). در گروه‌های تحت تیمار در این مطالعه، سطوح افزایش یافته‌ی CRP، Anti-CCP و RF ناشی از FAC به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش نشان داد و مقایسه‌ی گروه‌های تیمار نشان داد، تیمار با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر به ویژه در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ظرفیت بالاتر و بهتری در کاهش سطوح سرمی Anti-CCP و RF نسبت به متوترکسات دارد. نتایج مطالعات قبل هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر می‌باشد (۱۱، ۱۹، ۲٦).

التهاب مزمن، منجر به تغییراتی در وضعیت پارامترهای خون مانند افزایش گلبول‌های سفید و کاهش گلبول‌های قرمز می‌شود (۳۳). شاخص‌های خونی در بیماران آرتریت روماتوئید تغییر می‌کنند که نشانه‌ی التهاب و وضعیت بیماری می‌باشد (۳٤). ESR هنگام التهاب، استرس و نکروز سلولی افزایش می‌یابد (۳۰). افزایش تعداد گلبول‌های سفید در گروه آرتریت نشان‌دهنده‌ی لکوسیتوز در ناحیه‌ی مفصل با افزایش و نفوذ سلول‌های نوتروفیل و لنفوسیت می‌باشد (۳٤). نوتروفیل، آنزیم پروتئین آرژنین دایمینیداز-٤ (PAD4) را که مسؤول سیترولیناسیون آرژنین است، بیان می‌کند، حذف این آنزیم منجر به کاهش شدت بیماری، کاهش اتوآنتی‌بادی‌ها و سایتوکین‌های التهابی در مدل موش آرتریت روماتوئیدی می‌گردد (۳۵).

همچنین نشان داده شده است تعداد پلاکت‌ها در مایع سینوویال برخی از بیماران آرتریت روماتوئید به همراه مارکرهای التهابی افزایش پیدا می‌کند که نقش مهمی در تخریب مفصل و عوارض بیماری دارد (۳٦). در مطالعه‌ی حاضر سرعت رسوب گلبول قرمز، نوتروفیل، لنفوسیت، گلبول سفید و پلاکت در گروه آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه نرمال به صورت معنی‌داری افزایش نشان داد، زیرا نشان‌دهنده‌ی التهاب در ناحیه‌ی مفصلی توسط FCA است. تجویز عصاره‌ی ریشه‌ی کبر وابسته به دوز در مقایسه با متوترکسات به صورت معنی‌داری باعث افزایش سرعت رسوب گلبول قرمز، تعداد گلبول سفید، نوتروفیل و لنفوسیت و کاهش پلاکت شد، که به دلیل وجود ترکیبات مختلف پلی‌فنلی و فلاونوئیدی ریشه‌ی کبر است که دارای اثرات ضد التهابی و تعدیل‌کننده‌ی ایمنی می‌باشد. به عنوان مثال ساپونین، تانن و آلکالوئیدها از ترکیبات اصلی ریشه‌ی کبر هستند و از

ظرفیت بالایی در کنترل تکثیر لنفوسیت‌ها و تعدیل‌کننده‌ی ایمنی برخوردار می‌باشند (۱۵، ۱۸، ۲۲) و در مقایسه با متوترکسات، می‌توانند با فعالیت ضد التهابی و ضدآرتریتی عملکرد مفیدتری در بهبود علائم آرتریت روماتوئید ایفا کنند. این نتایج با مطالعات قبل هم‌راستا می‌باشد (۹، ۱۱، ۲۱، ۲۵، ۳۰). در پژوهش حاضر، میزان پلاکت در گروه متوترکسات در مقایسه با دیگر گروه‌های تیمار به صورت معنی‌داری کاهش یافت که با نتایج مطالعات قبل مطابقت نداشت (۱۹، ۲۶) و احتمالاً متوترکسات با اختلال در مغز استخوان، منجر به بروز کاهش شدید پلاکت گردیده است (۱۳).

هم‌راستا با مطالعات قبل، میانگین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در گروه آرتریت روماتوئید ناشی از FCA کاهش معنی‌داری نشان داد که نشان می‌دهد، وضعیت کم خونی، از ویژگی‌های بالینی برجسته در آرتریت روماتوئید است (۲۱، ۳۰). این وضعیت ممکن است به دلایل مختلفی از قبیل عدم ذخیره‌ی آهن، تخریب ناگهانی گلبول‌های قرمز در مغز استخوان و یا عدم تولید سلول‌های کافی در مغز استخوان باشد (۲۵). تیمار با دوزهای عصاره‌ی ریشه‌ی کبر تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت را افزایش داد که نشان از ترکیبات مؤثره و مفید ریشه‌ی کبر است. اما در گروه تیمار با متوترکسات، به دلیل اختلال در مغز استخوان و ایجاد کم خونی (۱۳) اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده نشد. ریشه‌ی گیاه کبر همانند سایر گیاهان دارویی به عنوان منبع غنی از ترکیبات زیست فعال دارای فعالیت ضد التهابی، ضدآرتریتی و آنتی‌اکسیدانی با کاهش پیشرفت بیماری و با جلوگیری از علائم درد، تورم و التهاب توانسته‌اند مارکرهای التهابی را بهبود بخشیده و رویکرد درمانی مؤثری برای آرتریت روماتوئید داشته باشند (۲۴). نتایج مطالعات قبل، نتایج مطالعه‌ی حاضر را تأیید می‌نمایند.

طی مطالعه‌ای نشان داده شد، ترکیبات مؤثره‌ی عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دلیل خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی، درد و التهاب ناشی از FCA در موش‌های مبتلا به آرتریت روماتوئیدی و استئوآرتیت را تسکین داد (۲۰). در این مطالعه می‌توان بیان نمود که اثرات محافظتی عصاره‌ی ریشه‌ی کبر بر روی موش‌های صحرایی مبتلا به آرتریت روماتوئید ناشی از FCA، علائم بیماری، مارکرهای تشخیصی التهاب و آرتریت روماتوئید همچنین شاخص‌های خونی در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ی ریشه‌ی کبر در مقایسه با گروه آرتریت روماتوئید کاهش داده است که می‌تواند به علت نقش ضد التهابی، ضدآرتریتی و خواص آنتی‌اکسیدانی ریشه‌ی کبر باشد (۱۶–۱۸) و با مهار و تعدیل نمودن سایتوکین‌های التهابی و آرتریتی، شدت التهاب و روند بیماری را کنترل و مدیریت نماید. همچنین گروه‌های عصاره‌ی ریشه‌ی کبر بدون عوارض نامطلوب، با فعالیت ضد التهابی و ضدآرتریتی عملکرد مفیدتری در مقایسه با متوترکسات، در بهبود علائم آرتریت روماتوئید ایفا کند. بر خلاف متوترکسات با عوارض جانبی گسترده، عصاره‌ی ریشه‌ی کبر با اثر ضد التهابی، موجب کاهش عوامل التهابی و بهبود نسبی وضعیت آرتریت و کم خونی در موش‌های صحرایی مبتلا به آرتریت روماتوئید می‌گردد.

نتیجه‌گیری

التهاب نقش مهمی در روند بیماری آرتریت روماتوئید ایفا می‌کند. بر خلاف متوترکسات با عوارض جانبی گسترده، عصاره ریشه کبر با اثر ضد التهابی موجب کاهش عوامل التهابی و بهبود نسبی وضعیت آرتریت و کم خونی در موش‌های صحرایی مبتلا به آرتریت روماتوئید می‌گردد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری تخصصی رشته‌ی بیوشیمی به شماره‌ی ۷۱۵۸۳، مصوب دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان می‌باشد و تحت حمایت مالی نویسنده‌ی اول به انجام رسید. بدین‌وسیله از زحمات، همکاری و پشتیبانی استادان و مدیریت دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان و عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، کمال سپاس و قدردانی به عمل می‌آید.

References

۱. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget 2018; 9(6): 7204-18.
۲. Muzaffar A, Shafiqur R. Effects of alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor positive allosteric modulator on lipopolysaccharideinduced neuro inflammatory pain in mice. Eur J Pharmacol 2016; 783: 85-95.
۳. Chertov O, Yang D, Howard OM, Oppenheim JJ. Leukocyte granule proteins mobilize innate host defenses and adaptive immune responses. Immunol Rev 2000; 177: 68-78.
٤. Sun S, Du Y, Li S, Gao B, Xia R, Cao W, et al. Anti-inflammatory activity of different isolated sites of Chloranthus serratus in complete Freund's adjuvant-induced arthritic rats. Exp Ther Med 2021; 22(2): 848.
٥. Edilova MI, Akram A, Abdul-Satar AA. Innate immunity drives pathogenesis of rheumatoid arthritis. Biomed J 2021; 44(2): 172-82.
٦. Abdelrahman MA, Sakr HM, Shaaban MAA, Afifi N. Serum and synovial matrix metalloproteinases 1 and 3 in patients with early rheumatoid arthritis:

potentially prospective biomarkers of ultrasonographic joint damage and disease activity. Egypt J Intern Med 2019; 31: 965-71.
۷. Cecchi I, de la Rosa IA, Menegatti E, Roccatello D, Collantes-Estevez E, Lopez-Pedrera C, et al. Neutrophils: novel key players in Rheumatoid Arthritis. Current and future therapeutic targets. Autoimmun Rev 2018; 17(11): 1138-49.
۸. Croia C, Bursi R, Sutera D, Petrelli F, Alunno A, Puxeddu I. One year in review 2019: pathogenesis of rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 2019; 37(3): 347-57.
۹. Zhang G, Kandhare AD, Mukherjee AA, Bodhankar SL, Yin H. Ameliorative Effect of Morin, a Plant Flavonoid against Freund's Complete Adjuvant-Induced Polyarthritis in Rats. Pharmacognosy Magazine 2019; 15(60): 43-51.
۱۰. Mondal S, Thompson PR. Protein Arginine Deiminases (PADs): Biochemistry and chemical biology of protein citrullination. Acc Chem Res 2019; 52: 818-32.
۱۱. EL-Shiekh RA, EL-Mekkawy S, Mouneir SM, Hassan A, Abdel-Sattar E. Therapeutic potential of russelioside B as anti-arthritic agent in Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. J Ethnopharmacol 2021; 270: 113779.
۱۲. Sadarani B, Majumdar A, Paradkar SH, Mathur A, Sachdev S, Mohanty B, et al. Enhanced skin permeation of Methotrexate from penetration enhancer containing vesicles: In vitro optimization and in vivo evaluation. Biomed Pharmacother 2019; (114): 108770.
۱۳. Shetty A, Cho W, Alazawi W, Syn WK. Methotrexate hepatotoxicity and the impact of nonalcoholic fatty liver disease. Am J Med Sci 2017; 354(2): 172-81.
۱۴. Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review. JAMA 2018; 320(13): 1360-72.
۱۵. Santiago LAM, Neto RNM, Santos Ataíde AC, Carvalho Fonseca DCS, Aragão Soares EF, de Sá Sousa JC, et al. Flavonoids, alkaloids and saponins: are these plant-derived compounds an alternative to the treatment of rheumatoid arthritis? A literature review. Clin Phytosci 2021; 58(2021): 1-10.
۱۶. Mirzakhani N, Farshid AA, Tamaddonfard E, Tehrani AA, Imani M. Comparison of the effects of hydroalcoholic extract of Capparis spinosa fruit, quercetin and vitamin E on monosodium glutamate-induced toxicity in rats. Vet Res Forum 2020; 11(2): 127-34.
۱۷. Yu L, Yang J, Wang X, Jiang B, Sun Y, Ji Y. Antioxidant and antitumor activities of Capparis spinosa L. and the related mechanisms. Oncol Rep 2017; 37(1): 357-67.
۱۸. Safarzaei A, Sarhadi H, Haddad Khodaparast MH, Shahdadi F, Dashipour AR. Optimization of aqueous and alcoholic extraction of phenolic and antioxidant compounds from Caper (Capparis spinosa L.) Roots assisted by ultrasound waves. Zahedan J Res Med Sci 2020; 22(4): e100747.
۱۹. Hussain A, Aslam B, Muhammad F, Faisal MN, Kousar SH, Mushtaq A, et al. Anti-arthritic activity of Ricinus communis L. and Withania somnifera L. extracts in adjuvant-induced arthritic rats via modulating inflammatory mediators and subsiding oxidative stress. Iran J Basic Med Sci 2021; 24(7): 951-61.
۲۰. Maresca M, Micheli L, Mannelli LD, Tenci B, Innocenti M, Khatib M, et al. Acute effect of Capparis spinosa root extracts on rat articular pain. J Ethnopharmacol 2016; 193: 456-65.
۲۱. Abdel El- Gaphar OAM, Abo-Youssef AM, Abo-Saif AA. Effect of losartan in complete freund's adjuvant induced arthritis in rats. Iran J Pharm Res 2018; 17(4): 1420-30.
۲۲. 22.Moutia M, EL-Azhary KH, Elouaddari A, Jamal Eddine J, Seghrouchni F, et al. Capparis Spinosa L. promotes antiinflammatory response in vitro through the control of cytokine gene expression in human peripheral blood mononuclear cells. BMC Immunol 2016; 17(1): 26.
۲۳. Yassine EZ, Dalila B, El MansouriLatifa BS, Lebtar S, Sanae A, Abdellah F. Phytochemical Screening, Anti-inflammatory Activity and Acute Toxicity of Hydro-ethanolic, Flavonoid, Tannin and Mucilage Extracts of Lavandula stoechas L. from Morocco. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2016; 8(1): 31-7.
۲۴. Singh SH, Singh TG, Mahajan K, Dhiman S. Medicinal plants used against various inflammatory biomarkers for the management of rheumatoid arthritis. J Pharm Pharmacol 2020; 72: 1306-27.
۲۵. Naz R, Ahmed Z, Shahzad M, Shabbir A, Kamal F. Amelioration of Rheumatoid Arthritis by Anacardium occidentale via Inhibition of Collagenase and Lysosomal Enzymes. Evid Based Complement Alternat Med 2020; 2020: 8869484.
۲۶. Kamal RM, Sabry MM, Aly ZY, Hifnawy MS. Phytochemical and in-vivo anti-arthritic significance of aloe thraskii baker in combined therapy with methotrexate in adjuvant-induced arthritis in rats. Molecules 2021; 26(12): 3660.
۲۷. Gazioglu I, Semen S, Acar OO, Kolak U, Sen A, Topcu G. Triterpenoids and steroids isolated from Anatolian Capparis ovata and their activity on the expression of inflammatory cytokines. Pharm Biol 2020; 58(1): 925-31.
۲۸. Ozgun-Acar O, Celik-Turgut G, Gazioglu I, Kolak U, Ozbal S, Ergur BU, et al. Capparis ovata treatment suppresses inflammatory cytokine expression and ameliorates experimental allergic encephalomyelitis model of multiple sclerosis in C57BL/6 mice. J Neuroimmunol 2016; 298: 106-16.
۲۹. Aloke C, Ibiam, UA, Orji OU, Ugwuja EI, Ezeani NN, Aja PM, et al. Anti-arthritic potentials of ethanol and aqueous extracts of stem bark of Cleistopholis patens on complete Freund's adjuvant-induced rheumatoid arthritis in rats. J Ayurveda Integr Med 2021; 12(1): 28-34.
۳۰. Dhakad P, Sharma P, Kumar S. Evaluation of anti-arthritic activity of hydroalcoholic extract of Capparis decidua (Forssk.) Edgew. on Freund's complete adjuvant-induced arthritis in rats. Immunology and Infectious Diseases 2018; 6(1): 6-15.
۳۱. Liu W, Sun Y, Cheng Z, Guo Y, Liu P, Wen Y. Crocin exerts anti-inflammatory and anti-arthritic

effects on type II collagen-induced arthritis in rats. Pharm Biol 2018; 56(1): 209-16.
۳۲. Kalaiselvan S, Rasool MK. Triphala herbal extract suppresses inflammatory responses in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and adjuvant-induced arthritic rats via inhibition of NF-κB pathway. J Immunotoxicol 2016; 13(4): 509-25.
۳۳. Choudhary M, Kumar V, Pankaj Gupta P, Singh S. Investigation of antiarthritic potential of Plumeria alba L. leaves in acute and chronic models of arthritis. Biomed Res Int 2014; 2014: 474616.
۳٤. Klein A, Molad Y. Hematological Manifestations among Patients with Rheumatic Diseases. Acta Haematol 2021; 144(4): 403-12.
۳٥. Suzuki A, Kochi Y, Shoda H, Seri Y, Fujio K, Sawada T, et al. Decreased severity of experimental autoimmune arthritis in peptidylarginine deiminase type 4 knockout mice. BMC Musculoskelet Disord 2016; 17: 200-5.
۳٦. Mykola V, Ganna S, Gennadiy T. Hematological Abnormalities in Ukrainian Patients with Rheumatoid Arthritis. J Arthritis 2015; 4: 1-3.

DOI: *10.48305/jims.v40.i670.0307*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 670, 2nd Week, July 2022**

Received: 21.02.2022 Accepted: 17.06.2022 Published: 05.07.2022

Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Capparis Spinosa L. Root on Inflammatory Factors of Rheumatoid Arthritis in Rats

Elham Etemadi[1], Mohammad Fazilati[2], Akbar Karimi[3], Habib-Allah Nazem[2]

Original Article

Abstract

Background: Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease of inflammatory origin. Nowadays, anti-inflammatory effects of medicinal plants are considered as an appropriate alternative to anti-inflammatories drugs. In traditional medicine, different elements of Capparis Spinosa L have been frequently used for treating various diseases. This study was performed to assess the protective effect of hydroalcoholic extract of capparis spinosa root on inflammatory factors of rheumatoid arthritis in rats.

Methods: Rats were randomly divided in to 5 groups (n = 6). Rheumatoid arthritis was induced in male wistar rats using Freund's complete adjuvant (FCA) in the paw planter surface of the rats right hind foot. Methotrexate and Caper root extracts (3, 100 and 300 mg/kg) were administered intraperitoneal daily for 14 days. At the end of period, animals were sacrificed and then serological and hematologic parameters were evaluated.

Findings: Serum levels of Tumor necrosis factor α (TNF-α), Interleukine-6 (IL-ع), C-Reactive protein (CRP), Anti-Cyclin Citrullinated (Anti-CCP), Rheumatoid factor (RF), and levels of erythrocyte sedimentation rate (ESR), Neutrophil, Lymphocyte, white blood cell and platelets, was significantly elevated in the rheumatoid arthritis group compared to the normal group while significantly decreased in treatment groups compared to the rheumatoid arthritis group ($P < 0.001$). The mean of red blood cell, hemoglobin, and hematocrit were significantly decreased in rheumatoid arthritis group compared to the normal group and were significantly higher in the treatment groups with caper root compared to the rheumatoid arthritis group ($P < 0.001$).

Conclusion: Inflammation plays an important role in the process of rheumatoid arthritis. Unlike methotrexate, with extensive side effects, extract of caper root with anti-inflammatory effect, reduces inflammatory factors and provides relative improvement of arthritis status and anemia in rats with rheumatoid arthritis.

Keywords: Rheumatoid arthritis; Inflammation; Cytokines; Extract; Capparis Spinosa root

Citation: Etemadi E, Fazilati M, Karimi A, Nazem H. **Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Capparis Spinosa L. Root on Inflammatory Factors of Rheumatoid Arthritis in Rats.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(670): 307-17.

١- *PhD Student, Department of Biochemistry, Payame Noor University (PNU), P. O. Box 19395-4697, Tehran, Iran*

2- *Professor, Department of Biochemistry, Payame Noor University (PNU), P. O. Box 19395-4697, Tehran, Iran*

3- Assistant *Professor,* Department of Biology, *Payame Noor University (PNU), P. O. Box 19395-4697, Tehran, Iran*

Corresponding Author: Elham Etemadi, PhD Student, Department of Biochemistry, Payame Noor University (PNU), P. O. Box 19395-4697, Tehran, Iran, Email: elham.etmadi@student.pnu.ac.ir