Effect of hydroalcoholic extract of *Ferula assa-foetida L.* resin on rheumatoid arthritis symptoms in the collagen-induced animal model

Maryam Mohammadi [1], Gholamreza Anani Sarab[2], Hosein Ghaini Mohammad [3], Roya Yaraee [4]

[1] *Master student of Immunology, Faculty of Medicine,Shahed university,Tehran,Iran*
[2] *Department of Immunology, School of Medicine,Birjand University of Medical Sciences,Birjand,Iran.*
[3] *Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.*
[4] ***Corresponding auuthor;*** *Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.*
Email:ryaraee@yahoo.com

Citation Mohammadi M, Anani Sarab Gh, Ghaini Mohammad H,Yaraee R. [Effect of hydroalcoholic extract of Ferula assa-foetida L. resin on rheumatoid arthritis symptoms in collagen-induced animal model]. J Birjand Univ Med Sci. 2020; 27(1): 33-43. [Persian]

DOI http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102

Received: July 20, 2019 **Accepted:** October 7, 2019

ABSTRACT

Background and Aim: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, autoimmune inflammatory disease that affects synovial tissue. According to potential side effects of current treatments, interest in using complementary and alternative medicine(CAM) has reappeared.The purpose of this study was to evaluate the effect of extract of Ferula assa-foetida L. resin on the severity of rheumatoid arthritis symptoms in the collagen induced animal model.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 female Wistar rats were randomly divided into 6 groups: healthy control, CIA, Dexamethasone receiving group to amount 1 mg/kg, receiving group to 100 mg/kg concentration of extract of asafoetida resin, receiving group to 300 mg/kg concentration of extract of asafoetida resin and receiving group to 100 mg/kg extract and dexamethasone (mixed group). Rheumatoid arthritis was induced by the administration of collagen type 2 and adjuvant. The clinical evaluation started and the severity of the symptoms of rheumatoid arthritis, by examination and standard scoring was performed.

Results: From the thirteenth day, Symptoms of the disease appeared and from the fourteenth day, there was a significant difference between the control and CIA groups in the clinical symptom score of arthritis. Among intervention groups, receiving group to 100 mg/kg concentration of extract earlier and more cause to decreased severity of symptoms. So on the 28th day, disease severity in the control group was 13.4 and in the treatment group with a concentration of 100 mg/kg extracts of Ferula assa-foetida L. resin was 9.6.

Conclusion: Hydroalcoholic extract of asafoetida resin, its could reduce the severity of symptoms of ankle RA and in the dose of 100 mg/kg cause to mitigate the symptoms of apparent swelling and inflammation.

Key Words: Arthritis Animal Model; Ferula assa-Foetida L; Rheumatoid Arthritis

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

مقاله اصیل پژوهشی

تأثیر عصاره هیدروالکلی صمغ آنغوزه (*Ferula assa- foetida L.*) بر علائم آرتریت روماتوئید در مدل حیوانی القاشده توسط کلاژن

مریم محمدی[۱]، غلامرضا عنانی سراب[۲]، محمدحسین قینی[۳]، رویا یارائی[۴]

چکیده

زمینه و هدف: آرتریت روماتوئید بیماری التهابی مزمن و خود ایمن است که بافت سینوویال را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با توجه به عوارض جانبی بالقوه روش‌های درمانی فعلی، علاقه به داروهای جایگزین و مکمل ظهور کرده است.. هدف از این مطالعه، ارزیابی تأثیر عصاره صمغ آنغوزه بر شدت علائم آرتریت روماتوئید در مدل حیوانی آرتریت است.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر رت ماده نژاد ویستار، به‌طور تصادفی در ۶ گروه شامل: کنترل سالم، آرتریت روماتوئید مدلCIA ، دریافت‌کننده‌ی دگزامتازون ، دریافت‌کننده‌ی غلظت mg/kg ۱۰۰ عصاره ، غلظت mg/kg ۳۰۰ عصاره و دریافت‌کننده‌ی توأم غلظت mg/kg ۱۰۰ عصاره و دگزامتازون (میکس)، تقسیم شدند. آرتریت روماتوئید با تجویز کلاژن تیپ ۲ و ادجوانت القا گردید. ارزیابی بالینی شروع و شدت علائم آرتریت روماتوئید، به روش معاینه و امتیازدهی استاندارد انجام شد.

یافته‌ها: از روز سیزدهم، علائم بیماری ظاهر شد و از روز چهاردهم، اختلاف امتیاز علائم بالینی آرتریت بین گروه‌های کنترل سالم و CIA از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین از روز پانزدهم، این اختلاف بین گروه سالم و سایر گروه‌ها، CIA و سایر گروه‌ها معنی‌دار بود. در بین گروه‌های مداخله، تیمار با غلظت ۱۰۰ عصاره آنغوزه زودتر و بیشتر سبب کاهش شدت علائم بیماری شد؛ به این شکل که در روز ۲۸، شدت بیماری در گروه کنترل ۱۳/۴ و در گروه درمان با غلظت ۱۰۰ عصاره آنغوزه به ۹/۶ رسید.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی صمغ آنغوزه قادر به کاهش شدت علائم بالینی آرتریت بوده و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب فروکش‌کردن علائم تورّم و التهاب ظاهری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: مدل حیوانی آرتریت؛ صمغ آنغوزه؛ آرتریت روماتوئید

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۹؛ ۲۷(۱): ۳۳-۴۳.

دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۵

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

[۲] گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

[۳] گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

[۴] **نویسنده مسؤول؛** گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

آدرس پستی: تهران- دانشگاه شاهد- دانشکده پزشکی- گروه ایمونولوژی

تلفن: ۵۱۲۱۲۶۵۲، پست الکترونیکی: ryaraee@yahoo.com

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

مقدمه

آرتریت روماتوئید، بیماری التهابی مزمن و خود ایمن است که بافت سینوویال را در مفاصل متعدد تحت تأثیر قرار می‌دهد و با تورّم مفصلی، آسیب غضروف، فرسایش سینوویال و فرسایش استخوانی مشخص می‌شود که می‌تواند منجر به تخریب مفصلی شود (۱). شیوع آرتریت روماتوئید در کل جهان در حدود ۰/۵ تا یک درصد است و در زنان سه تا چهار برابر نسبت به مردان شایع‌تر است (۲).

پیشرفت‌هایی در تعیین علت و پاتوژنز آرتریت روماتوئید صورت گرفته است، اما مکانیسم دقیق آن هنوز مبهم باقی‌مانده است. تصور می‌شود سایتوکین‌های پیش‌التهابی که توسط منوسیت‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌های سینوویال تولید می‌شوند، نقش مهمی در پاتوژنز و پیشرفت این بیماری دارند (۳) و عدم تعادل بین سایتوکاین‌های ضدّ التهابی و پیش‌التهابی، درجه و وسعت التهاب متعاقب آسیب سلولی را تعیین می‌کند (۴، ۵).

روش‌های درمانی فعلی آرتریت روماتوئید بر پایه‌ی محصولات تسکین‌دهنده‌ی علائم بیماری (داروهای ضدّ التهابی غیراستروئیدی (NSAIDs[1])) و یا تعدیل‌کننده‌های روند بیماری (داروهای ضدّ روماتیسمی تعدیل‌کننده‌ی بیماری (DMARDs[2])) استوار است. اگرچه این روش‌های درمانی مؤثر هستند، اما به‌علت داشتن عوارض جانبی شامل: زخم‌های معده روده‌ای، عوارض قلبی- عروقی و ظهور عفونت‌های فرصت‌طلب به‌علت سرکوب سیستم ایمنی، استفاده از آن‌ها محدود می‌شود (۶)؛ درنتیجه علاقه به جایگزینی درمان‌های ضدّ التهابی دوباره ظهور کرده است.

گیاه آنغوزه با نام علمی *Ferula assa- foetida L* و نام‌های انگلیسی Asafetida، Devil's dung و Food of the Gods شناخته می‌شود. صمغ این گیاه، شیره‌ای است که از تیغ‌زدن ریشه و یا پایین ساقه گیاه به‌دست می‌آید (۸، ۷). خاستگاه آنغوزه، استپ‌های ایران (شامل: استان‌های فارس، کرمان، خراسان، یزد، سمنان، هرمزگان، سیستان و بلوچستان، اصفهان، لرستان، کهکیلویه و بویر احمد و بوشهر) و قسمت‌هایی از افغانستان می‌باشد (۱۰، ۹)؛ اما آنغوزه بهره‌برداری‌شده، در ایران مصرف داخلی بسیار محدود دارد و به‌طور متوسط سالیانه ۷۰ تن از صمغ این گیاه به‌صورت خام به کشورهای مختلف صادر می‌شود (۱۲، ۱۱).

Asafoetida به‌واسطه‌ی اجزاء تشکیل‌دهنده‌اش می‌تواند برای درمان بیماری‌های مختلف به کار رود و همچنین در سراسر جهان به‌عنوان ادویه معطر در مواد غذایی متفاوت به‌کار می‌رود. صمغ آنغوزه به‌طور سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف مانند: آسم، صرع، درد معده، نفخ، انگل‌های روده، هضم ضعیف و آنفولانزا استفاده می‌شده است (۱۳). مطالعات دارویی و بیولوژیکی اخیر نشان داده‌اند که *Asafoetida* خواص متعددی مانند: آنتی‌اکسیدانی، ضدّ میکروبی، ضدّ ویروس، ضدّ قارچ، آرام‌بخش، حفاظت عصبی، تقویت حافظه، تأثیر بر آنزیم‌های گوارشی، آنتی‌اسپاسم، کاهش فشار خون، حفاظت در برابر هپاتیت، ضدّ میکروبی، ضدّ سرطان، ضدّ سمیت، ضدّ انعقاد، ضدّ چاقی، ضدّ کرم و اثر آنتاگونیستی را ایفا می‌کند (۱۴). طبق مطالعات مروری صورت‌گرفته بر روی گیاهان دارویی پارسی که به‌طور سنتی برای دردهای مفصلی و آرتریت روماتوئید استفاده می‌شدند، از *Ferula assa- foetida L* به‌عنوان داروی گیاهی دارای خواص ضدّ التهاب یاد شده است که بر مبنای استفاده‌های درمانی ذکرشده‌ی آن در کتب طب سنتی مانند قانون در طب ابن‌سینا، اختیارات بدیعی و مخزن‌الادویه است (۱۵، ۱). مطالعات تجربی نشان می‌دهند که ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی فعال گیاهی شامل فروتینین و تفرین نقش مرکزی را در بهبود پاسخ‌های التهابی در گونه‌های Ferula ایفا می‌کنند (۱۶).

با توجه به خواص متعددی که برای این گیاه دارویی ذکر

[1] *Nonsteroidal anti-inflammatory drug*
[2] *Disease-modifying antirheumatic drug*

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

شده است به‌خصوص خاصیت ضدّ التهابی آن، به نظر می‌رسید بتواند در بهبود بیماری آرتریت روماتوئید نیز کاربرد داشته باشد؛ از این رو در این مطالعه، تأثیر صمغ گیاه *Ferula assa- foetida L* بر بهبود علائم بالینی بیماری آرتریت روماتوئید القاشده توسط کلاژن در رت‌های نژاد ویستار بررسی گردید.

روش تحقیق

حیوانات:

در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر رت ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۵۰ گرم و سن ۸-۱۰ هفته، به‌طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. رت‌ها در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد، دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و در قفس‌های استاندارد جداگانه نگهداری شدند و تا زمان انجام آزمایش، آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. مطالعه تجربی، مطابق با قوانین کمیته نظارت بر اخلاق پزشکی با کد مصوب کمیته اخلاق به شماره IR.Shahed.REC.1396.104 انجام شد.

تهیه عصاره هیدرو الکلی صمغ آنغوزه:

صمغ آنغوزه از منطقه بومی واقع در شهرستان طبس استان خراسان جنوبی تهیه شد و از نظر جنس و گونه مورد تأیید متخصص گیاهان دارویی قرار گرفت. عصاره‌گیری به‌روش ماسراسیون[1] (خیساندن) و به نسبت ۱ به ۱۰ از پودر خشک‌شده صمغ و حلال (آب مقطر و الکل ۹۶ به نسبت مساوی)، صورت گرفت. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در شیکر انکوباتور، عصاره توسط کاغذ واتمن شماره ۴ صاف شد و حذف حلال توسط دستگاه روتاری انجام گردید و به‌منظور حذف کامل حلال، عصاره در پلیت‌های شیشه‌ای تقسیم و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا عصاره تام به دست آید (۱۸، ۱۷).

القای آرتریت روماتوئید:

آرتریت روماتوئید توسط مدل CIA[2] و با تزریق زیرپوستی در قاعده‌ی دم کلاژن گاوی تیپ ۲ امولسیفیه شده در ادجوانت کامل فروند[3] در روز صفر و کلاژن گاوی تیپ ۲ امولسیفیه‌شده در ادجوانت ناقص[4] به‌عنوان بوستر[5] در روز هفتم القا گردید (۱۹). کلاژن تیپ ۲، ادجوانت کامل و ناقص فروند از شرکت Chondrex آمریکا تهیه شدند. رت‌های مورد مطالعه به ۶ گروه شامل: کنترل سالم، بیمار، گروه دریافت‌کننده‌ی دگزامتازون (شرکت سپیداج) به میزان یک میلی‌گرم بر کیلوگرم، گروه دریافت‌کننده‌ی غلظت ۱۰۰ mg/kg عصاره صمغ آنغوزه، گروه دریافت‌کننده‌ی غلظت ۳۰۰ mg/kg عصاره آنغوزه و گروه دریافت‌کننده‌ی توأم غلظت ۱۰۰ عصاره و دگزامتازون (گروه میکس) تقسیم شدند. مداخله از روز هشتم به شکل گاواژ برای گروه‌های تیمار با عصاره؛ و تزریق داخل صفاقی برای گروه تیمار با دگزامتازون به‌مدت ۲۴ روز، یک‌بار در روز، صورت گرفت. برای امتیازدهی به شکل صحیح، فرد امتیازدهنده از اینکه حیوان متعلق به چه گروهی است مطلع نبود.

ارزیابی بالینی شروع و شدت علائم آرتریت روماتوئید، به روش معاینه و امتیازدهی استاندارد (۲۰) به‌صورت یک روز در میان انجام و حیوانات توزین می‌شدند. شرایط مشاهده حیوان برای امتیازدهی نیز به این شکل بود که حیوان به شکل روتین مقیّد می‌شد و هر چهار اندام از زوایای مختلف از نظر قرمزی و تورّم امتیاز دهی می‌گردید.

سیستم امتیازدهی استاندارد به شرح جدول یک بود. امتیاز آرتریت هر موش برابر مجموع امتیاز هر ۴ اندام آن بود که می‌توانست از صفر تا حداکثر ۱۶ متغیر باشد.

[1] *maceration*

[2] *Collagen-induced arthritis*

[3] *complete Freund's adjuvant*

[4] *Incomplete Freund adjuvant*

[5] *Booster*

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

جدول ۱- سیستم استاندارد رتبه‌بندی شدت علائم آرتریت روماتوئید در مدل حیوانی در رت

امتیاز شدت	درجه التهاب
۰	هیچ نشانه‌ای از قرمزی و تورّم وجود ندارد.
۱	قرمزی و تورّم خفیف که به مفصل مچ پا یا تارسال محدود می‌شود.
۲	قرمزی و تورّم خفیف که از مفصل مچ به میانه‌ی پا گسترش‌یافته است.
۳	قرمزی و تورّم متوسط که از مچ پا به کف پا (متاتارسال) گسترش‌یافته است.
۴	قرمزی و تورّم شدید که مچ پا، پا و انگشتان را در برگرفته است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

داده‌ها به شکل میانگین±انحراف معیار ارائه شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶) و آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) و پس‌آزمون با استفاده از آزمون Tukey در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

علائم بیماری:

علائم بیماری از روز سیزدهم در گروه‌های مختلف به شدت‌های مختلف ظاهر شد و گروه کنترل سالم تا پایان آزمایش هیچ علائمی نداشت. در روز چهاردهم، شدیدترین به خفیف‌ترین علائم به‌ترتیب متعلّق به گروه‌های بیمار، میکس، غلظت ۱۰۰ عصاره، دگزامتازون، غلظت ۳۰۰ عصاره و کنترل سالم بود؛ به‌این ترتیب امتیازی که به شدت بیماری در گروه دریافت‌کننده غلظت ۳۰۰ عصاره داده شد (۲) نسبت به گروه شاهد (۷/۲)، ۷۲ درصد کمتر بود (P<۰/۰۳)(نمودار ۱).

در روز شانزدهم نیز ترتیب گروه‌ها به شکل روز چهاردهم بود؛ به‌علاوه، اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد (بیمار) با گروه غلظت ۳۰۰ عصاره وجود داشت (P<۰/۰۳). در روزهای بعد، ترتیب نزولی از امتیاز بالا به کم به‌ترتیب به شرح زیر بود:

روز ۱۸: گروه بیمار، میکس، غلظت ۳۰۰ عصاره، دگزامتازون، غلظت ۱۰۰ عصاره و کنترل سالم. اختلاف معنی‌دار از نظر آماری بین گروه شاهد با گروه دریافت‌کننده غلظت ۱۰۰ عصاره (P<۰/۰۴).

روز ۲۰: گروه بیمار، میکس، غلظت ۱۰۰ عصاره، غلظت ۳۰۰ عصاره، دگزامتازون، کنترل سالم.

روز ۲۲: همانند روز ۲۰.

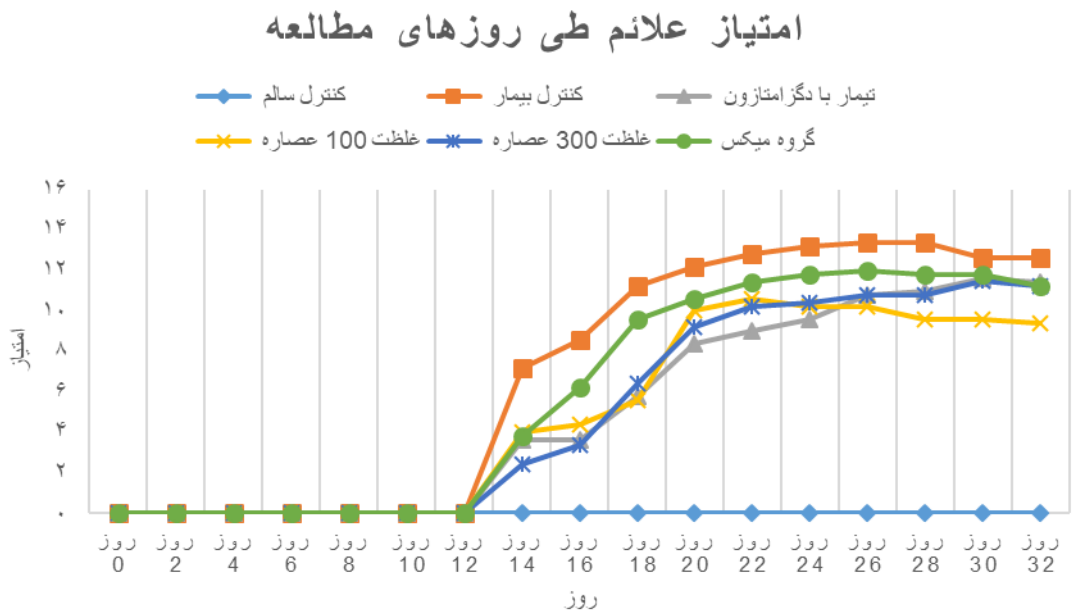
روز ۲۴: گروه بیمار، میکس، غلظت ۳۰۰ عصاره، غلظت ۱۰۰ عصاره، دگزامتازون، کنترل سالم.

روز ۲۶: گروه بیمار، میکس، غلظت ۳۰۰ عصاره و دگزامتازون، غلظت ۱۰۰ عصاره، کنترل سالم.

روز ۲۸ تا ۳۲: گروه بیمار، میکس، دگزامتازون، غلظت ۳۰۰ عصاره، غلظت ۱۰۰ عصاره، کنترل سالم.

جدول ۲، سطوح معنی‌داری از روز شروع علائم را نشان می‌دهد.

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]



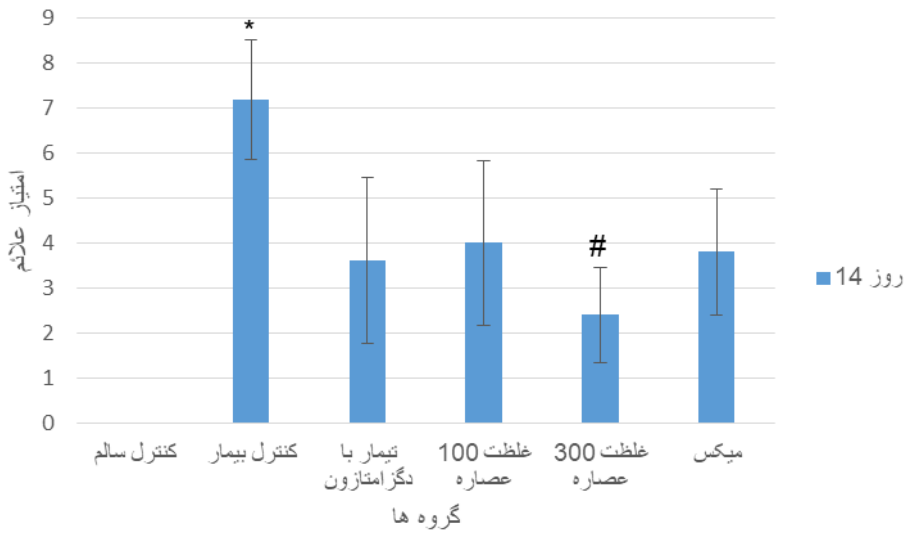
نمودار ۱- مقایسه شدت بروز علائم آرتریت روماتوئید طی روزهای مطالعه در گروه‌های مورد مطالعه

جدول ۲- نتیجه تست آماری مقایسه گروه‌ها با گروه کنترل سالم در روزهای مختلف مداخله

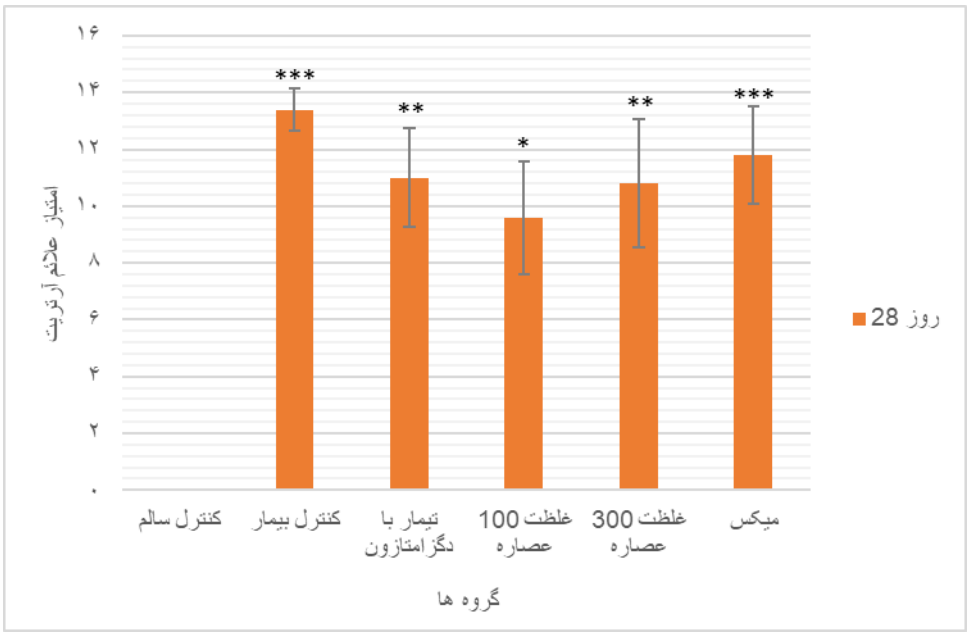
تفاوت گروه با سالم	روز ۱۴	روز ۱۶	روز ۱۸	روز ۲۰	روز ۲۲	روز ۲۴	روز ۲۶	روز ۲۸	روز ۳۰	روز ۳۲
گروه بیمار	۰/۰۱۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
غلظت ۱۰۰ عصاره	-	-	-	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳
غلظت ۳۰۰ عصاره	-	-	-	۰/۰۱۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
دگزامتازون	-	-	-	۰/۰۲۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
گروه میکس	–	۰/۰۱۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

نمودار ۲، امتیاز داده‌شده بر اساس علائم بیماری به گروه‌ها در روز ۱۴ را نشان می‌دهد و در نمودار ۳ این امتیازات برای روز ۲۸ مشاهده می‌شود. در روز چهاردهم، اثر عصاره با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قوی‌تر از سایر تیمارها به نظر می‌رسید ولی در روز ۲۸، بهترین اثر مربوط به دوز ۱۰۰ mg/kg از عصاره آنغوزه بود.



نمودار ۲- امتیاز علائم آرتریت روماتوئید در گروه‌های مختلف در روز ۱۴ پس از ایمن‌سازی اولیه در مدل آرتریت القاشده توسط کلاژن تیپ ۲. $^{*}P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل سالم، $^{\#}P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل بیمار



نمودار ۳- امتیاز علائم آرتریت روماتوئید در گروه‌های مختلف در روز ۲۸ پس از ایمن‌سازی اولیه در مدل آرتریت القاشده توسط کلاژن تیپ ۲.
*P<۰/۰۰۵، **P<۰/۰۰۱، ***P<۰/۰۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل بیمار (شاهد)

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

جدول ۳- تغییرات وزن گروه‌های مختلف مورد مطالعه در طی ۴ هفته آزمایش (به گرم)

گروه	تغییرات وزن هفته اول		تغییرات وزن هفته دوم		تغییرات وزن هفته سوم		تغییرات وزن هفته چهارم		تغییرات کلی وزن	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
کنترل سالم	۱۹/۴	۶/۶۵	۱۰/۲	۲/۸۶	۹/۸	۳/۸۹	۱۱/۶	۳/۲۸	۵۱	۷/۲۴
کنترل بیمار	۲۸/۴	۶/۱۰	-۶/۶	۱۰/۵۹	۷/۸	۲/۵۸	۶/۲	۳/۹۶	۳۵/۸	۹/۷۳
تیمار با دگزامتازون	۲۳/۲۰	۵/۳۵	۵/۶	۶/۷۳	۶	۳/۸۰	۲	۶/۰۶	۳۶/۸	۵/۴۹
غلظت ۱۰۰ عصاره	۲۷/۶	۱۰/۵۴	۳/۸	۵/۰۱	۰/۸	۵/۲۶	۶/۶	۹/۰۶	۳۸/۸	۱۱/۲۵
غلظت ۳۰۰ عصاره	۲۹	۴/۳۰	۱۰	۶/۴۰	-۳/۴	۴/۳۳	۲/۴	۲/۵۸	۳۸	۹/۵۵
گروه میکس	۲۵/۲	۳/۰۳	۷	۶/۵۹	-۵/۲	۴/۴۳	۹/۵	۱۰/۰۳	۳۶/۶	۹/۲۶
P-value	۰/۲۲		۰/۰۰۷		۰/۰۰۰۱		۰/۵۹		۰/۱۰۹	

تغییرات وزن:

جدول ۳ نشان‌دهنده میزان تغییر وزن حیوانات مورد مطالعه طی ۴ هفته آزمایش است. همان‌طور که دیده می‌شود حیوانات گروه کنترل سالم طی ۵ هفته، حدود ۵۰ گرم افزایش وزن داشتند؛ در حالی که سایر گروه‌ها نتوانستند این میزان افزایش وزن را داشته باشند ($P<۰/۰۰۷$ در هفته دوم و $P<۰/۰۰۰۱$ در هفته سوم).

بحث

در این مطالعه، بیماری آرتریت روماتوئید با تزریق کلاژن و ادجوانت به رت‌ها القا شد که مدل پذیرفته‌شده‌ای در دنیا به‌خصوص برای مطالعه داروهای جدید است. این مدل از نظر ویژگی‌های ایمونولوژیک و پاتولوژیک، اشتراک بسیاری با نمونه آرتریت انسانی دارد. دو ویژگی مدل CIA یعنی شکست تحمل و تولید اتوآنتی‌بادی علیه خود و کلاژن، آن را به‌عنوان استاندارد طلایی مدل‌های مطالعه‌ی آرتریت In vivo تبدیل کرده است (۲۲، ۲۱).

برای بررسی اثر عصاره بر بیماری، از امتیازدهی بر اساس سرخی و تورّم مفاصل پا و دست استفاده شد که این امتیازدهی شاخصی از شدت التهاب و یا شدت بیماری است (۲۰)؛ همچنین وزن حیوانات سنجیده شد که معمولاً کاهش وزن یا عدم افزایش وزن کافی در مدل حیوانی این بیماری از دیگر نشانه‌های بیماری است (۲۳).

همان‌طور که در بخش نتایج ذکر شد، تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ mg/kg و ۳۰۰ mg/kg عصاره و دگزامتازون، سبب تخفیف علائم بیماری و جلوگیری از بروز شدید علائم در رت‌ها شد.

مطالعه ما نشان می‌دهد که عصاره صمغ آنغوزه به‌خصوص در روزهای ابتدایی مداخله توانست به‌طور معنی‌داری علائم بالینی آرتریت را نسبت به گروه کنترل بیمار کاهش دهد؛ همچنین صمغ آنغوزه به‌طور وابسته به دوز توانست در غلظت ۱۰۰ mg/kg آنغوزه در مقایسه با

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

دگزامتازون که داروی رایج ضدّ التهاب است و عوارض جانبی متعددی دارد، عملکرد بهتری در بهبود علائم آرتریت ایفا کند. شایان ذکر است که گروه تیمار با غلظت mg/kg ۱۰۰ عصاره آنغوزه، اولین گروهی بود که دچار کاهش علائم شد و از روز ۲۲ به بعد، شدت علائم در این گروه کاهش یافت؛ در حالی که سایر گروه‌های مداخله، در روز ۳۰ چنین اثری نشان دادند و درمجموع گروه تیمار با غلظت mg/kg ۱۰۰ عصاره آنغوزه نسبت به گروه دریافت‌کننده غلظت mg/kg ۳۰۰ آن، عملکرد بهتری در بهبود علائم بالینی داشت.

در مطالعات متعددی از روش امتیازدهی برای بررسی اثر یک دارو یا فرآورده در مدل حیوانی استفاده شده (۲۴،۲۵) و معمولاً تا حداکثر ۴۷ درصد، کاهش امتیاز مشاهده گردیده است. کاهش شدت بیماری در مطالعه ما در گروه دریافت‌کننده غلظت ۳۰۰ عصاره، در روزهای ۱۴ و ۱۶ به‌ترتیب ۷۲ درصد و ۶۰/۵ درصد و در گروه دریافت‌کننده غلظت ۱۰۰ عصاره در روز ۱۸ حدود ۵۰ درصد بود که قابل توجه می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعاتی که از همین روش استاندارد برای امتیازدهی علائم بالینی آرتریت استفاده کرده‌اند همخوانی دارد و بهبود علائم در مقایسه با سایر مطالعات بسیار چشمگیر و قابل قبول بوده است (۲۸-۲۶).

مطالعات اخیر، ترکیبات کومارینی به‌خصوص سزکوئی‌ترپن‌کومارین‌ها (آمبلی‌پرنین) که از ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده‌ی صمغ آنغوزه‌اند را مسئول خواص ضدّ التهابی و آنتی‌اکسیدانی آن دانسته‌اند (۱۳) که احتمال دارد تأثیر این گیاه در بهبود علائم آرتریت تحت تأثیر این ترکیبات باشد؛ البته شناخت دقیق ترکیبات دخیل نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

مطالعه مهدوی چرمی و همکاران در سال ۱۳۹۵، تنها مطالعه‌ای است که در آن اثر صمغ آنغوزه بر آرتریت روماتوئید مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این مطالعه که بر روی ۴۸ سر رت نژاد ویستار در قالب ۸ گروه شامل: گروه‌های سالم، کنترل منفی، کنترل مثبت و گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره و با القای بیماری به‌وسیله‌ی مدل ادجوانت انجام شد، در نمای هیستوپاتولوژی مفصل زانوی گروه‌های تیمار با غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عصاره، فقط علائم اولیه تخریب غضروف و استخوان نمایان شد که نقش پیشگیری‌کننده‌ی این گیاه را در روند تخریبی آرتریت روماتوئید به اثبات می‌رساند. در مطالعه مهدوی چرمی و همکاران، در گروه تیمار با غلظت mg/kg ۳۰۰ عصاره، علائم تخریب شدید غضروف مشاهده شد که نشان می‌دهد آثار ضد آرتریتی عصاره، وابسته به دوز است؛ همچنین رت‌های متعلق به گروه تیمار با غلظت mg/kg ۵۰۰ عصاره در طول مداخله دچار مرگ و میر شدند که ممکن است نتیجه سمیت دوز بالای عصاره بوده باشد (۱۸)؛ به همین دلیل دوز انتخابی ما از ۳۰۰ فراتر نرفته و از طرف دیگر به‌جای مدل القا با کلاژن استفاده شد که امتیازات زیر را دارد:

- توسعه‌ی CIA با پاسخ هر دوی لنفوسیت‌های B و T همراه با تولید آنتی‌بادی ضدّ کلاژن تیپ II و سلول‌های T اختصاصی کلاژن همراه است.
- ارتشاح سلول‌های T، سلول‌های B، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها به سینوویوم، منجر به شکل‌گیری پانوس، غشاء هایپرپلاستیک از سینوویوسیت‌ها، تخریب غضروف و استخوان، می‌شود.
- بیماری خودش را به شکل پلی‌آرتریت که بیشتر در دست و پا برجسته است، نشان می‌دهد.

همان‌طور که اشاره شد این بیماری بر الگوی تغییرات وزنی نیز تأثیر دارد. تغییرات وزن رت‌ها نشان می‌دهد که در دوره حاد بیماری که بیشترین التهاب را داشته‌اند کاهش وزن محسوس بوده است که این کاهش در گروه کنترل بیمار (شاهد) از سایر گروه‌ها بیشتر بوده است که می‌تواند نتیجه‌ی اثر واسطه های التهابی مانند TNF-α بر وزن باشد و یا آسیب مفصلی باعث شده است دسترسی مصرف غذا برای حیوانات بیمار دشوار باشد.

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره صمغ آنغوزه می‌تواند سبب کاهش شدت علائم ظاهری بیماری آرتریت روماتوئید شود، اما برای روشن‌کردن اینکه کاهش علائم بیماری به‌دلیل تأثیر بر مکانیسم‌های ترمیمی و تقویت آن‌هاست یا مهار مکانیسم‌های تخریبی و کاهش تولید سایتوکاین‌های التهابی و ...، مطالعات بیشتری مورد نیاز است. بنابراین با توجه به این نتایج اولیه می‌توان این عصاره را کاندید مناسبی برای مطالعات بیشتر، روشن‌کردن دقیق‌تر مکانیسم‌ها و در نهایت استفاده درمانی دانست که برای نیل به این هدف نیاز به مطالعات بیشتر بر روی پارامترهای بیشتر است.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل همکاری دانشگاه شاهد و دانشگاه علوم پزشکی بیرجند است. بدین‌وسیله از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، صمیمانه قدردانی و تشکر می‌نماییم.

تضاد منافع:

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

منابع:

1- Farzaei MH, Farzaei F, Abdollahi M, Abbasabadi Z, Abdolghaffari AH, Mehraban B. A mechanistic review on medicinal plants used for rheumatoid arthritis in traditional Persian medicine. J Pharm Pharmacol. 2016; 68(10): 1233-48. doi: 10.1111/jphp.12606.

2- Gibofsky A. Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. Am J Manag Care. 2012; 18(13 Suppl): S295-302.

3- Tsuji G, Koshiba M, Nakamura H, Kosaka H, Hatachi S, Kurimoto C, et al. Thioredoxin protects against joint destruction in a murine arthritis model. Free Radic Biol Med. 2006; 40(10): 1721-31. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.01.006

4- McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Nat Rev Immunol. 2007; 7(6): 429-42. DOI: 10.1038/nri2094

5- Vierboom MP, Jonker M, Tak PP, Bert A. Preclinical models of arthritic disease in non-human primates. Drug Discov Today. 2007; 12(7-8): 327-35. DOI: 10.1016/j.drudis.2007.02.012

6- Umar S, Kumar A, Sajad M, Zargan J, Ansari MM, Ahmad S, et al. Hesperidin inhibits collagen-induced arthritis possibly through suppression of free radical load and reduction in neutrophil activation and infiltration. Rheumatol Int. 2013; 33(3): 657-63. doi: 10.1007/s00296-012-2430-4.

7- Seidemann J. World spice plants. Verlang Berlin Heldelberg. New York: Springer; 2005.

8- Zarekarizi AR, Omidi M, Fallah Hoseini H, Yazdani D, Rezazadeh S, Irvani N, et al. A Review on pharmacological effects of Ferula assa-foetida L.: A systematic review. J Med Plants. 2011; 4(40): 17-25. [Persian]

9- Leaman DJ. Medicinal plant conservation, Newsletter of the medicinal plant specialist group of the IUCN species survival commission. Silphion. 2006; 13: 24-6.

10- Ross IA. Medicinal Plants of the World. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2010.

11- Khosravi H, Mehrabi A. Economic study of Ferula harvesting in Tabass region. Iranian Journal of Natural Resources. 2006; 58(4): 933-944. [Persian]

12-Zare AR, Omidi M, Fallah Hoseini H, Yazdani D, Rezazadeh S, Irvani N, Oladzad A. A review on pharmacological effects of Ferula assa-foetida L.: A systematic review. Journal of Medicinal Plants. 2011 Dec 15;4(40):17-25.

13- Iranshahy M, Iranshahi M. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafoetida (Ferula assa-foetida oleo-gum-resin)—A review. J Ethnopharmacol. 2011; 134(1): 1-10. doi: 10.1016/j.jep.2010.11.067

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]

14- Amalraj A, Gopi S. Biological activities and medicinal properties of Asafoetida: A review. J Tradit Complement Med. 2017; 7(3): 347-59.

15- Abolhassanzadeh Z, Aflaki E, Yousefi G, Mohagheghzadeh A. Medicinal Plants for Joint Pain in Traditional Persian Medicine. Trends in Pharmaceutical Sciences. 2016; 2(2): 89-100.

16- Geroushi A, Auzi AA, Elhwuegi AS, Elzawam F, El-Sherif A, Nahar L, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of Ferula hermonis root oil in experimental animals. Lat Am J Pharm. 2010; 29(8): 1436-9.

17- Amiri A, Jomehpour N. Evaluation the Effect of Anti bacterial of Ferula assa-foetida L, Carum copticum, Mentha piperita L Hydroalcoholic Extract on Standard Sensitive and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli O157H7 and Salmonella typhimurium. J Ilam Univ Med Sci. 2016; 24(2): 72-9. [Persian]

18- Mahdavi Charami M, Tehranipour M, Mahdavi Shahri N. Effect of asafoetida resin hydroalcoholic extract on experimental rheumatoid arthritis in rat. Pejouhesh dar Pezeshki. 2017; 40(4): 172-7. [Persian]

19- Brand DD, Latham KA, Rosloniec EF. Collagen-induced arthritis. Nat Protoc. 2007; 2(5): 1269-75. DOI: 10.1038/nprot.2007.173

20- Rosloniec EF, Cremer M, Kang AH, Myers LK, Brand DD. Collagen-induced arthritis. Curr Protoc Immunol. 2010 Apr;89(1): 15.5.1-15.5.25. doi: 10.1002/0471142735.im1505s89

21- Bessis N, Decker P, Assier E, Semerano L, Boissier MC. Arthritis models: usefulness and interpretation. InSeminars in immunopathology 2017 Jun 1 (Vol. 39, No. 4, pp. 469-486). Springer Berlin Heidelberg.

22- Asquith DL, Miller AM, McInnes IB, Liew FY. Animal models of rheumatoid arthritis. Eur J Immunol. 2009; 39(8): 2040-4. doi: 10.1002/eji.200939578.

23- Kocyigit A, Guler EM, Kaleli S. Anti-inflammatory and antioxidative properties of honey bee venom on Freund's Complete Adjuvant-induced arthritis model in rats. Toxicon. 2019; 161: 4-11. doi: 10.1016/j.toxicon.2019.02.016.

24- Jing R, Ban Y, Xu W, Nian H, Guo Y, Geng Y, et al. Therapeutic effects of the total lignans from Vitex negundo seeds on collagen-induced arthritis in rats. Phytomedicine. 2019; 58: 152825. doi: 10.1016/j.phymed.2019.152825.

25- Kumar R, Singh S, Saksena AK, Pal R, Jaiswal R, Kumar R. Effect of Boswellia serrata extract on acute inflammatory parameters and tumor necrosis factor-α in complete Freund's adjuvant-induced animal model of rheumatoid arthritis. Int J Appl Basic Med Res. 2019; 9(2): 100-6. doi: 10.4103/ijabmr.IJABMR_248_18.

26- Tu YW, Wang K, Liang Y, Jia X, Wang L, Wan JB, et al. Glycine tabacina ethanol extract ameliorates collagen-induced arthritis in rats via inhibiting pro-inflammatory cytokines and oxidation. J Ethnopharmacol. 2019; 237(12): 20-7.

27- Guo Y, Ye Q, Yang S, Wu J, Ye B, Wu Y, et al. Therapeutic effects of polysaccharides from Anoectochilus roxburghii on type II collagen-induced arthritis in rats. Int J Biol Macromol. 2019; 122: 882-92. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.015.

28- Aswathy IS, Krishnan S, Peter J, Sabu V, Helen A. Scientific validation of Anti-arthritic effect of Kashayams–a polyherbal formulation in collagen induced arthritic rats. J Ayurveda Integr Med. 2019. pii: S0975-9476(17)30742-8. doi: 10.1016/j.jaim.2018.02.139.

[DOI: http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.1.102]