African Journal of Advanced Pure and Applied Sciences (AJAPAS)
Online ISSN: 2957-644X
Volume 2, Issue 3, July-September 2023, Page No: 86-96
Website: *https://aaasjournals.com/index.php/ajapas/index*
||Arab Impact factor 2022: 0.87|| SJIFactor 2023: 5.689|| ISI 2022-2023: 0.557

عزل واستخلاص فيتامين C من نبات فاكهة التنين ودراسة بعض المتغيرات الكيموحيوية على الجرذان المختبرية

مثنى صلاح الدين ابراهيم [1*]، لمى عبد المنعم بكر [2]
[2،1] قسم الكيمياء، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، الموصل، العراق

Isolation and Extraction of Vitamin C From the Dragon Fruit Plant and The Study of Some Biochemical Variables on Laboratory Rats

Muthana Salahuddin Ibrahim[1*], Luma Abd Almunim Baker[2]
[1,2] Department of Chemistry, College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

[*]*Corresponding author: muthana.21esp21@student.uomosul.edu.iq*

Received: May 30, 2023	Accepted: July 13, 2023	Published: July 28, 2023

الملخص

تَضمن البحث معرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (hylocereous undates) والمركبات الفعالة المعزولة منه (فيتامين C) في الحد من تأثير RA المستحدث عن طريق مادة (CFA)(Freund's Complete Adjuvant) من خلال دراسة بعض التغيرات في المعايير النسيجية والكيموحيوية . وقسمت الحيوانات المستخدمة في التجربة الى 4 مجاميع وكالأتي: المجموعة الاولى (مجموعة سيطرة سالبة) جرعت بالماء العادي فموياً فقط , المجموعة الثانية استحدث بها RA (مجموعة سيطرة موجبة) , المجموعة الثالثة جرعت بالمستخلص المائي لفاكهة التنين (250mg/kg) ,والمجموعة الرابعة جرعت بفيتامين C المعزول من فاكهة التنين (200mg/kg). ظهرت النتائج ارتفاع معنوي في الجرذان المعاملة بمادة CFA لكل من (WBC,Globulin,Hey,Anti-ccp) وانخفاض معنوي في (Gpx ,GSH) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة, بينما اظهرت النتائج انخفاض معنوي في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لكل من (WBC,Hey,Anti-ccp ,Globulin) واظهرت ارتفاع معنوي في (Gpx,GSH) مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة, بينما اظهرت النتائج ارتفاع معنوي في المجاميع المعاملة بفيتامين C لكل من (Gpx ,GSH) و انخفاض معنوي في (WBC,Hey,Anti-ccp,Globulin). يُستنتج من الدراسة ان المستخلص المائي و(فيتامين C) اظهرت تأثير وقائي قلل من الضرر الناتج عن RA بواسطة (CFA) وتحسن في نسيج المفصل وهذا ما تبينه المقاطع النسجية له.

الكلمات المفتاحية: التهاب المفاصل الرثوي، فاكهة التنين، CFA، الكلوتاثيون، فيتامين C.

Abstract

The research included knowledge of the protective effect of the aqueous extract of the dragon fruit plant (hylocereous undates) and the active compounds isolated from it (vitamin C) in reducing the effect of RA induced by (CFA) (Freund's Complete Adjuvant) by studying some changes in histological and biochemical parameters. The animals used in the experiment were divided into 4 groups as follows: the first group (negative control group) was dosed with plain water orally only, the second group was given RA (positive control group), the third group was dosed with aqueous extract of dragon fruit (250 kg/mg), and the fourth group was dosed with vitamin C isolated from dragon fruit (kg/mg 200). The results showed a significant increase in the rats treated with CFA for each of (WBC, Globulin, Hey, Anti-ccp) and a significant

decrease in (Gpx, GSH) compared with the negative control group, while the results showed a significant decrease in the groups treated with aqueous extract for each of (WBC , Hey, Anti-ccp, Globulin) and showed a significant increase in (Gpx, GSH) compared with the positive control group, while the results showed a significant increase in the groups treated with vitamin C for each of (Gpx, GSH) and a significant decrease in (WBC, Hey, Anti-ccp, Globulin). It is concluded from the study that the aqueous extract and (vitamin C) showed a protective effect that reduced the damage caused by RA by (CFA) and improved the joint tissue, as shown by the histological sections.
Keywords: Rheumatoid Arthritis, Dragon Fruit, CFA, Clutathione, Vitamin C.

مقدمة

ان التهاب المفاصل الرثوي هو مرض مناعي ذاتي مزمن Chronic Auto Immune يؤثر بصورة اساسية على المفصل مما يسبب التهاب وتورم وتصلب المفاصل مما يؤدي الى احتمالية حدوث عجز فيها كما هو من أكثر الاسباب الرئيسة شيوعاً لحدوث الإعاقة [1]. نسبة اصابة البالغين به في العالم تُقدر تقريباً 1% وظهوره لا يقتصر على عمر محدد لكن الاكثر شيوعاً في منتصف العمر، كما وتقدر نسبته عند الاناث أكثر منه لدى الذكور [2]. اكتُشف هذا المرض من قبل العالم (Alfred Baring Garrod) في اواخر خمسينات القرن التاسع عشر [3]. ان 60% من مرضى التهاب المفاصل الرثوي تظهر لديهم اعراض متمثلة بصورة عامة تورم في المفاصل المشطية السلامية والم في المفاصل والعضلات وفقدان الشهية وارتفاع درجات حرارة اجسام المرضى بالإضافة الى الخمول العام، ان عدم علاج هذا المرض قد يؤدي الى تطوره وجعله مزمن عندها يعاني المريض من صعوبة في الحركة عند الصباح واعراض انتفاخ في القدمين واليدين نتيجة تصلب مفاصل التي قد تؤدي الى اعاقة [4]. ان تطور التهاب الشديد يعمل الى تضخم الاوعية الدموية في الغشاء الزليلي وتوسع الانسجة الرخوة داخل المفاصل مما يؤدي الى تدمير انسجة المفصل [5].

بالنظر لأهمية النباتات استخدمت فاكهة التنين (Dragon fruit) في العلاجات الطبية استخدمت فاكهة التنين في الطب الشعبي في العديد من البلدان الاسيوية كأدوية عشبية للوقاية من الامراض وعلاجها [6]. يُشتق اسم فاكهة التنين العلمي من الكلمة اليونانية (Hyle) (Woody) والكلمة اللاتينيتين (Cereus)(Waxen) و(Undatus) تشير الى سيقانها ذات الحواف المتموجة [7]، كما لفاكهة التنين خصائص مضادة للالتهابات وتعمل على الوقاية من العديد من الامراض مثل التهاب المفاصل وان اضافة هذه الفاكهة في النظام الغذائي اليومي يساهم كثيراً على محاربة التهاب المفاصل [8].

المواد وطرق العمل:

جُمعت فاكهة التنين المستخدمة لهذه الدراسة من احدى الاسواق المحلية في محافظة نينوى ونظفت بشكل جيد وحُفظت في اكياس ووضعت في الثلاجة الى حين استخدامها. اما المواد الكيميائية التي استخدمت في الدراسة هي عدة التحليل القياسية الجاهزة "Standard Kits" عدد وهي: الهوموسيستين من شركة Elabscience، اضداد مضادة لببتيدات السيترولين الدوروية من شركة Demeditec company، الكلوتاثيون بيروكسيديس من شركة Elabscience , قُدر الكلوبيولين في المصل خلال طرح قيمة الالبومين في المصل من قيمة البروتين الكلي [9], وقدر تركيز Glutathione في المصل بأستخدام طريقة كاشف آلمان المحورة [10].

الحيوانات المستخدمة:

اخذ 24 من ذكور الجرذان البالغة من الوزن (200-250 غرام) من بيت الحيوانات في كلية الطب البيطري/جامعة الموصل، وضعت في أقفاص معدة ومجهزة لهذا الغرض وزودت وبالعلف الحيواني الخاص بها والماء وقد قسمت الى 5 مجاميع، وتركت لمدة أسبوع واحد وذلك لأستيعاب الظروف المختبرية من درجة حرارة وضوء ومن ثم أجراء عمليات التجريع والحقن

طريقة استخلاص فاكهة التنين hylocereous undates

نظفت فاكهة التنين وغسلت بشكل جيد بالماء الجاري من اجل التخلص من الشوائب والاتربة وبعدها جففت من الماء واستخدم الخلاط الكهربائي من اجل خلطها و هرسها للحصول على عصير واستخدام ورق شاش بعدة طبقات لترشيح هذا العصير, وخفف باستخدام بالماء المقطر وبنسبة 20% وبعدها استخدم غُلف المزيج باستخدام ورق الالمنيوم و ترك مع التحريك المستمر للمزيج ولمدة 12 ساعة , استخدمت اواني معقمة لوضع المزيج فيها بعد عملية التصفية باستخدام الفرن الكهربائي ليجف بدرجة حرارة (40˚c), ثم جمع المستخلص (الخام crude) من خلال قشطهُ ووضع في اواني زجاجية نظيفة ومعقمة ومعتمة في الثلاجة وبدرجة حرارة (2˚c-4) الى حين استخدامهُ في التجربة وأُعتمد في التحضير على طريقة [11] وبتحويرات [12].

المواد والجرعات:
اذيب غرام واحد من مستخلص الفاكهة لكلا التركيزين و فيتامين C في 10 مل من الماء المقطر، واعطيت الجرذان هذه المواد وذلك بتركيز 250ملغم/كغم و200ملغم/كغم ولمدة 28 يوم [14],[13] وحقنت الجرذان بمادة (CFA)(0.1ml) في اخمص القدم الايمن لاستحداث التهاب المفاصل الرثوي[15].

تصميم التجربة:
اخذ 24 من الجرذان الذكور من نوع Wister وقسمت إلى أربع مجاميع لكل منها ست من الجرذان:

مجموعة الاولى: عدت مجموعة سيطرة سالبة حيث جُرعت بـالماء العادي طول فترة التجربة.

مجموعة الثانية: عدت مجموعة سيطرة موجبة حيث حقنت بـ 0.1ml من (CFA) في أخمص القدم الايمن في اليوم الاول من التجربة لاستحداث التهاب المفاصل.

مجموعة الثالثة: جُرعت فموياً بالمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين بجرعة مقدارها 250 ملغم/كلغم اول يوم التجربة وبعد ايام حُقنت بـ 0.1ml من (CFA) في أخمص القدم الايمن لاستحداث التهاب المفاصل.

مجموعة الرابعة: جُرعت فموياً فيتامين C المستخلص من نبات فاكهة التنين بجرعة مقدارها 200 ملغم/كلغم اول يوم التجربة وبعد ايام حُقنت بـ 0.1ml من (CFA) في أخمص القدم الايمن لاستحداث التهاب المفاصل.

سحب عينات الدم:
بعد الأنتهاء من المدة المحددة للتجربة، سُحب الدم من الجرذان من جيب محجر العين وذلك عبر طريقة تنقيط الدم باستخدام أنابيب شعرية خاصة [16]، وجُمع في أنابيب ثم تُركت في الحمام المائي لمدة 10 دقائق في درجة حرارة (37 مئوية) وبعد ذلك فُصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة بسرعة (5000دورة/ثانية) وحُفظ في درجة حرارة (20- مئوية) في أنابيب خاصة وذلك لأجراء الفحوصات.

تشريح الجرذان:
شرحت الجرذان بعد انتهاء فترة التجربة من اجل التحري من إصابة الكبد والكلية والمفصل نتيجة تأثره بالمادة الكيمياوية (CFA) وأخَذت وتم حساب الأوزان الخاصة بهم باستخدام ميزان حساس ووضعها في مادة الفورمالين بتركيز 10%.

التحليل الأحصائي :
حللت النتائج أحصائياً إذ تم وصف قيم المتغيرات الكيموحيوية بأستعمال المعدل (Mean) والأنحراف القياسي (Standard Deviation) إذ أستعمل أختبار (Duncan Test) في تحليل (ANOVA) وذلك لتحليل تأثير المتغيرات الكيموحيوية المدروسة [17].

النتائج والمناقشة:

الجدول (1) الأوزان الخاصة بأعضاء الجرذان النسبية للمجاميع الخمسة

الاوزان النسبية	المجاميع المعاملة Mean+S.D			
	السيطرة السالبة	السيطرة الموجبة	مجموعة المستخلص 250mg/kg	فيتامين C
الكبد النسبي (mg/100g)	2717.4 57.2± a	3833.5 224.91± d	3214.6 35.41± c	2900.4 17.36± b
المفصل النسبية (mg/100g)	656.4 18.32± a	1065.4 62.79± d	969 29.39± c	875.2 8.57± b
الكلية النسبية (mg/100g)	512.3 8.35± a	639.72 14.09± c	621.98 15.38± c	619.5 5.173± c

إذ تشير كل من الحروف (a,b,c,d) الى الفروق المعنوية عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في اوزان الاعضاء النسبية للأعضاء.

1-1 الكلية

اظهرت النتائج في الجدول (3-2) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي بمادة (CFA) في ذكور الجرذان المختبرية ادى الى ارتفاع معنوي في وزن الكلية عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى ذلك الى ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي في ذكور الجرذان البيضاء أدى إلى تغيرات في أنسجة كليتي ذكور الجرذان البيضاء وأن سبب هذه التغيرات في أنسجة الكلى ينتج عن وصول (CFA) إلى الكلى عبر مجرى الدم أو قد يكون نتيجة التهاب المفاصل حيث يؤدي إلى التهاب كبيبات الكلى [18]. كان هناك انخفاض غير معنوي لكل من المستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) وفيتامين C عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنتهم مع المجموعة الموجبة التي استحدث بها التهاب المفاصل الرثوي

2-1 المفصل

اظهرت النتائج في الجدول (3-2) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي بمادة (CFA) في ذكور الجرذان المختبرية ادى الى ارتفاع معنوي في وزن المفصل عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى السبب في ذلك الى ان الفئران المصابة بالتهاب المفاصل اظهرت تورمًا في الأنسجة الرخوة حول المفاصل خلال المرحلة الحادة من المرض حيث كانت عظام المفصل في المجموعة السيطرة غير محمية لكونها تعرضت بصورة مباشرة للإنزيمات المحللة للبروتين التي تعمل على تدهور الغضروف [20], بالإضافة الى استمرار السيتوكينات المؤيدة للالتهابات مثل (TNF-α و IL-6) التي تنتج من قبل الخلايا الغضروفية في المفصل المصاب و الغشاء الزليلي الملتهب [21]. التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) فقد اظهر انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في وزن المفصل على التوالي عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى ذلك الى ان مستخلص المائي لفاكهة التنين يمتلك خصائص مضادة للالتهابات يمكن أن تقلل بشكل كبير من آلام المفاصل والعضلات من خلال ممارستها لإجراءات مضادة للالتهابات في الجرذان المختبرية وتقلل من فرصة إصابتها بالتهابات كما لها القابلية على التئام الجروح من خلال تعزيز قوة الشد للخلايا [22]. التأثير الوقائي لفيتامين C فقد اظهر انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في وزن المفصل عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعود ذلك الى الدور الرئيسي لفيتامين C الذي يعد من مضادات الأكسدة الخارجية في العمل كمنظفات فعالة لأنواع الاوكسجين التفاعلية، وبالتالي الحماية من الأكسدة اذ ليس من المستغرب أن دور المغذيات الدقيقة المضادة للأكسدة في دراسة الأمراض الالتهابية المزمنة قد أثار اهتمامًا كبيراً [23].

3-1 الكبد

اظهرت النتائج في الجدول (3-2) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي بمادة (CFA) في ذكور الجرذان المختبرية ادى الى ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في وزن الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى ذلك إلى حدوث تغيرات في أنسجة الكبد لدى ذكور الجرذان البيضاء ادت الى التسبب في تنخر خلايا الكبد ، وتمدد الجيوب الأنفية وتسلل الخلايا الالتهابية ويرجع ذلك إلى وصول المادة المحفزة إلى الكبد عن طريق مجرى الدم بعد حقنها في اخمس القدم الايمن ، كما أن التغيرات المرضية في أنسجة الكبد تُعزى إلى دور الإنزيمات الليزوزومية في الحيوانات المصابة بالتهاب المفاصل الرثوي [23]. التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250mg/kg) فقد اظهر انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في وزن الكبد عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى ذلك الى ان المستخلص المائي لفاكهة التنين يحتوي على مركبات فعالة من ضمنها البيتاسيانين اذ يعمل على تخفيف تراكم الدهون الكبدية بشكل فعال، بالإضافة الى ذلك فأنه يقلل من درجات التنكس الدهني الكبدي في الجرذان [24]. التأثير الوقائي لفيتامين C فقد اظهر انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في وزن الكبد عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى ذلك الى ان انخفاض مستوى بيروكسيد الدهون في الكبد، مما يؤكد التأثير الوقائي لفيتامين C اذ ان تناول الأسكوربات الإضافي يحسن الدفاع المضاد للأكسدة في الكبد، اذ تزيد جرعة مكملات فيتامين C التي تعتمد على الجرعة من تركيز الأسكوربات في الدم بينما في الكبد توجد زيادة فقط في حالة انخفاض جرعة فيتامين C، مما يعني ضمناً التنظيم المنخفض لتركيبه الكبدي تحت تأثير جرعة عالية [25].

قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل الدم:

الجدول (2) بعض المتغيرات الكيموحيوية التي قيست في مصل الدم للجرذان في المجاميع الخمسة.

المتغيرات	المجاميع المعاملة Mean+S.D			
	السيطرة السالبة	السيطرة الموجبة	مجموعة المستخلص 250mg/kg	فيتامين C
WBC $\times/mm^3 10^3$	7.16 0.055± a	12.36 0.084± e	11.80 0.020± d	10.73 0.0228± b
Globulin g/dL	2.213 0.02765± a	3.7267 0.03545± e	3.48 0.02898± d	2.39 0.03545± b
Hcy µmol/L	7.44 0.03483± a	9.13 0.0352± d	8.63 0.02757± c	8.2433 0.15842± b
Anti-ccp g/dL	1.496 0.0248± a	9.076 0.053± f	4.756 0.017± b	4.65 0.1118± d
GSH µmol/l	3.37 0.0081± c	2.14 0.065± a	3.72 0.0063± e	3.04 0.058± b
Gpx U/L	5.6 0.0097± e	3.24 0.083± a	3.6 0.0091± b	4.03 0.088± d

إذ تشير كل من الحروف (a,b,c,d,e,f) الى الفروق المعنوية عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في المتغيرات التي قيست في الدم.

1-2 التغير في اعداد خلايا الدم البيضاء في الدم:

اشارت نتائج الجدول (3-3) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي بمادة (CFA) في ذكور الجرذان المختبرية ادى الى ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في اعداد خلايا الدم البيضاء مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى السبب الى ان خلايا الدم البيضاء تعد العنصر الرئيسي في الجهاز المناعي ومرتبطة بعملية بدء الالتهاب وارتباطها في تطور الأمراض الأخرى , كما يمكن أن يعزى ذلك الى زيادة السيتوكينات المنشطة لالتهابات (IL-1) التي تعمل على افراز الخلايا البلعمية التي بدورها تزيد من ترشيح الخلايا البيضاء الى مجرى الدم من مفاصل العظام وبالتالي يؤدي ذلك الى زيادة اعدادها وتراكمها الدم البيض من مفاصل العظام إلى مجرى الدم وبالنتيجة زيادة تراكمها وأعدادها [26]. التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) فقد عمل على انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع مجموعة السيطرة الموجبة في اعداد خلايا الدم البيضاء وقد يعزى السبب الى ان المستخلص يحتوي على الفلافونيدات التي تعمل على خفض مستوى تأثير الكيميائي لمادة (CFA) وذلك يقلل التأثيرات من خلال زيادة مستوى الانزيمات الليزومية (Lysosomal enzymes) [27]. ان التأثير الوقائي لفيتامين C عمل على انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في اعداد خلايا الدم البيضاء عند مقارنته مع مجموعة السيطرة الموجبة ويعزى ذلك لكون فيتامين C ادى الى انخفاض مؤشرات الالتهابات (اي عدد خلايا الدم البيضاء) وعودتها الى مستواها الطبيعي مقارنة مع المجموعة السالبة وقد يعزى السبب في ذلك الى ان التأثيرات المضادات للأكسدة والمضادة للالتهابات التي يمتلكها فيتامين C قد يكون لها تأثير إيجابي على ذلك [28].

2-2 التغير في الكلوبيولين Globulin:

اشارت نتائج الجدول (3-5) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي في السيطرة الموجبة لذكور الجرذان المختبرية باستخدام مادة CFA قد ادى الى ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في مستويات الكلوبيولين عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستخدم فيها مادة CFA ويعزى السبب في ذلك لكون مادة CFA تتكون من نوع من البكتريا والتي تسمى بالمتفطرة السلية (mycobacterium tuberculosis) تعمل على تحفيز الاستجابات الالتهابية في المناعة الخلوية وهذا ما يؤدي إلى تقوية إنتاج بعض الكلوبولينات المناعية [29]. ان التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) فقد اظهر انخفاض معنوي في مستويات الكلوبيولين عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعود السبب في ذلك الى ان مستوى الكلوبيولين ونقصانه في مستوى البروتينات بصورة عامة في الفئران المصابة قد يعزى الى مستوى الهستامين و البروستاكلاندين مما يؤثر على نفاذية اغشية انسجة الاوعية الدموية للبروتينات بصورة عامة الا ان التأثير الوقائي للمستخلص بتركيزيه قد يعود الى عمله بصورة معاكسة بتحسين نفاذية الاغشية وهذا ما يتفق مع بينته المقاطع النسيجية [30]. ان التأثير الوقائي لفيتامين C فقد اظهر انخفاض معنوي في مستويات الكلوبيولين عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى السبب في ذلك الى ان فيتامين C كان قادرًا على تحسين جهاز المناعة اذ يحفز جهاز المناعة نحو الحالة الصحية الجيدة [31].

3-2 التغير في مستويات الهوموسيستين Homocysteine:

اشارت نتائج الجدول (3-5) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي في السيطرة الموجبة لذكور الجرذان المختبرية باستخدام مادة CFA قد ادى الى ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في مستويات الهوموسيستين عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى السبب في ذلك الى ان الهوموسيستين يعد علامة ثابتة للعديد من الامراض الشائعة التي من ضمنها التهاب المفاصل الرثوي حيث كلما ارتفعت نسبة الالتهاب كلما ارتفعت قيم الهوموسيستين [32]. ان التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) فقد اظهر انخفاض معنوي في مستويات الهوموسيستين عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى السبب في ذلك الى ان المستخلص بتركيزيه يكون حاوي على كمية من حمض الفوليك [33]، حيث يؤدي النقص في تناول كمية غير كافية منه أيضًا إلى أمراض مزمنة كأمراض القلب والأوعية الدموية [34,35]. ان التأثير الوقائي لفيتامين C فقد اظهر انخفاض معنوي في مستويات الهوموسيستين عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى السبب الى وجود ارتباط بين الزيادة في مستوى الهوموسيستين والاجهاد التأكسدي عن طريق زيادة بيروكسيد الدهون كما قُيم من خلال زيادة مستويات (F2-isoprostane) في البلازما [36].

4-2 التغير في مستوى اضداد مضادة لببتيدات السيترولين الدوروية في مصل الدم :

اشارت نتائج الجدول (3-4) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي بمادة (CFA) في ذكور الجرذان المختبرية ادى الى ارتفاع معنوي في (anti-CCP) عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى السبب الى ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي بمادة (CFA) حرض على تكوين بروتينات سيترولين داخل المفاصل مثل كل من الكولاجين و(Fbrin) و(Vimentin) يتبعها استجابة مناعية مزمنة تؤدي الى التآكل بالإضافة الى زيادة او تعزيز من الخلايا المناعية كالخلايا البائية والخلايا التائية والضامة كما ان الخلايا الليمفاوية البائية (B-lymphocytes) بإمكانها ان تلعب دوراً حاسماً في هذه العملية لكونها تعد مصدراً للأجسام المضادة الذاتية [37]. ان التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) فقد اظهر انخفاض معنوي في (anti-CCP) عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة اذ يعد anti-CCP هو أحد مؤشرات المرض مما يدل على دور المستخلص المائي في تقليل نشاط مرض التهاب المفاصل الذي يكون مرتبط بالخلايا الليمفاوية البائية فيعتقد ان المستخلص ادى الى تثبيط انتاج الاجسام المضادة مما ادى الى التأثير على anti-CCP [38]. ان التأثير الوقائي لفيتامين C فقد اظهر انخفاض معنوي في (anti-CCP) عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة وقد يعود ذلك الى ان فيتامين C يساهم في تحسين التغيرات المناعية بشكل ملحوظ اذ أن استخدام فيتامين C وظيفة يمكن يستعيد المناعة كما ان نقص فيتامين C يقلل من وظائف المناعة [39].

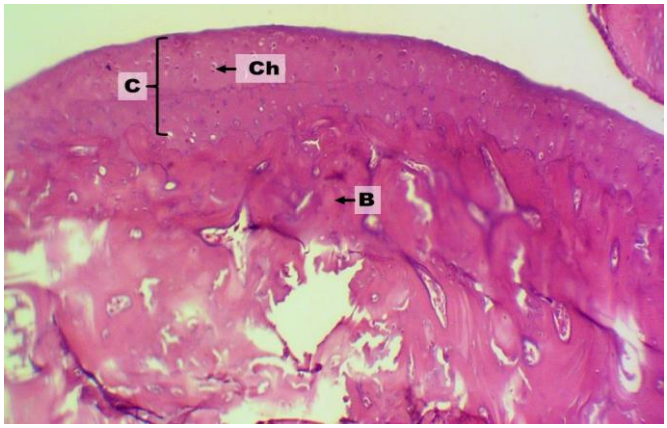
1-6-3 التغير في مستويات الكلوتاثيون Glutathione:

اشارت نتائج الجدول (3-6) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي في السيطرة الموجبة لذكور الجرذان المختبرية باستخدام مادة CFA قد ادى الى انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في الكلوتاثيون عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى السبب في ذلك الى ان مادة (CFA) تزيد من نشاط مستويات كل من ILs و TNF- α وبذلك تتنشط الانزيمات المحفزة للالتهابات(COX-2 و iNOS) (Inducible nitric oxide synthase و cyclooxygenase-2) التي تلعب دوراً حيوياً في الاستجابات الالتهابية [40,41]. ان التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) فقد اظهر ارتفاع معنوي في مستويات الكلوتاثيون عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى ذلك الارتفاع الى التأثير الوقائي لمستخلص فاكهة التنين المائي نتيجة لامتلاكها العديد من المركبات مثل الفيتامينات كحامض الأسكوربيك والفلافونويدات ومركبات الفينول التي لها القدرة على

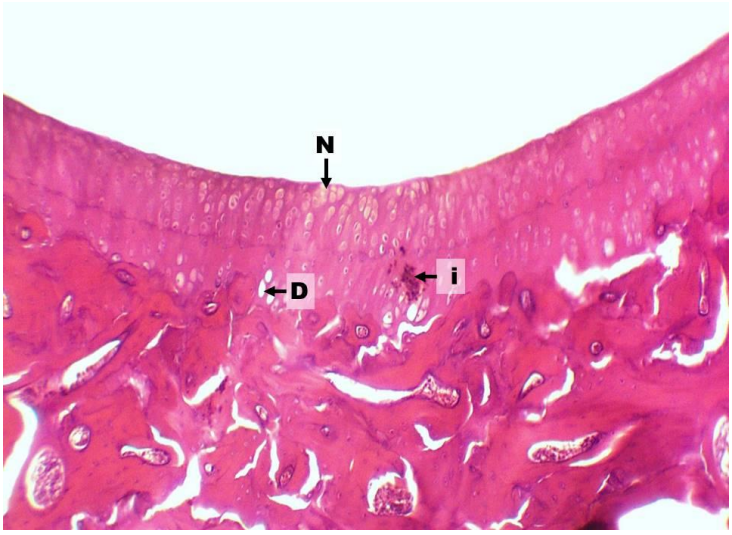
ازالة انواع الاوكسجين التفاعلية والجذور الحرة وبالتالي تؤدي على منع بيركسدة الدهون وتثبيط الاكسدة [42]. ان التأثير الوقائي لفيتامين C فقد اظهر ارتفاع معنوي في مستويات الكلوتاثيون عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى السبب في ذلك الى ان الفيتامينات والتي منها فيتامين C تعد اهم مضادات الاكسدة الطبيعية و تعمل على تعديل الجهد التأكسدي [43]، وبذلك يعزز ويحافظ فيتامين C على هيكلية الكلوتاثيون من الاكسدة [44].

5-2 التغير في مستويات الكلوتاثيون بيروكسيديس Glutathione peroxidase:

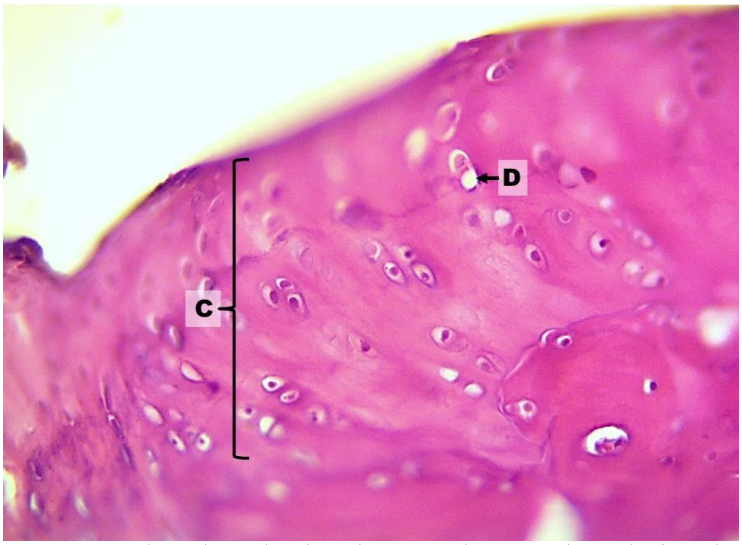
اشارت نتائج الجدول (3-6) ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي بمادة (CFA) في ذكور الجرذان المختبرية ادى الى انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في الكلوتاثيون بيروكسيديس مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي لم يستحدث فيها التهاب المفاصل الرثوي ويعزى ذلك الانخفاض الى الزيادة في مستوى بروتين (Nrf2) (The nuclear factor erythroid 2–related factor 2) بسبب مادة (CFA) مما يؤدي الى اضطراب في الإجهاد التأكسدي والانخفاض في مستويات السيتوكينات الالتهابية و [45]. ان التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات فاكهة التنين (250 mg/kg) فقد اظهر ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في مستويات الكلوتاثيون بيروكسيديس عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى السبب في ذلك الى ان فاكهة التنين لها القدرة كمضادة للأكسدة قادرة على موازنة الزيادة في الجذور الحرة [46]، حيث ان هذا التأثير لفاكهة التنين يعود الى المركبات النشطة بيولوجياً النباتية الفعالة كالبولي فينول والفيتامينات A و C والفلافونويدات [47]. ان التأثير الوقائي لفيتامين C فقد اظهر ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في مستويات الكلوتاثيون بيروكسيديس عند مقارنته مع السيطرة الموجبة ويعزى السبب في ذلك لقدرة فيتامين C على تعديل الاستجابات المناعية بطرق متعددة من ضمنها تعديل تكاثر الخلايا الليمفاوية ووظيفة خلايا الدم البيض [48].



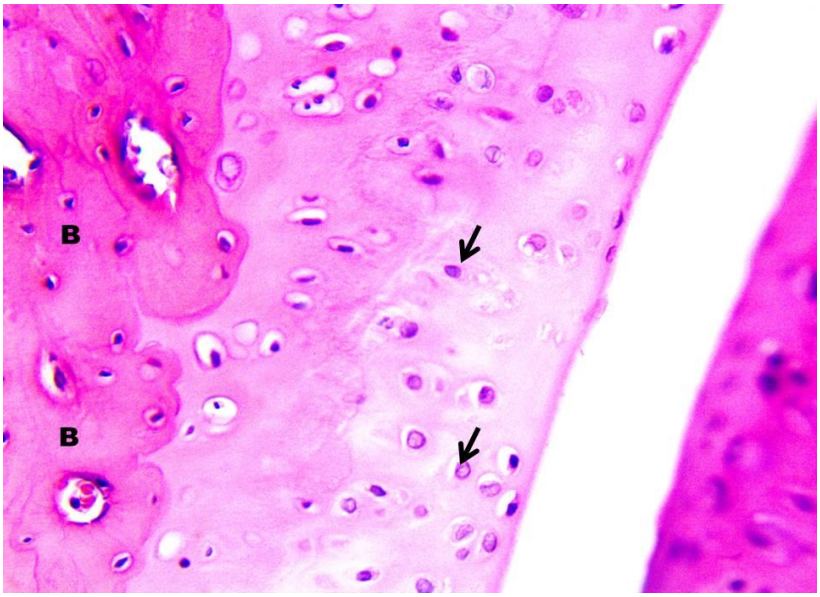
الشكل (1) مقطع نسجي لمفصل الركبة لجرذ من مجموعة السيطرة السالبة يبين التركيب السوي لسمك للغضروف (C) والخلايا الغضروفية (Ch) والعظم (B). صبغة الهيماتوكسيلين و الأيوسين. X100



الشكل (2) مقطع نسجي لمفصل الركبة لجرذ من مجموعة السيطرة الموجبة يبين تنخر(N) و تنكس(D) الخلايا الغضروفية وارتشاح الخلايا الالتهابية(i). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسينX100.



الشكل (3) مقطع نسجي لمفصل الركبة لجرذ من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي 250mg/Kg يُظهر سمك طبقة الغضروف (C) وتنكس الخلايا الغضروفية (D). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين X400



الشكل (5) مقطع نسجي لمفصل الركبة لجرذ من المجموعة المعاملة بفيتامين C يُظهر الخلايا الغضروفية الطبيعية للغضروف التمفصلي (سهم) والعظم الاسفنجي (B). صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين X400

الاستنتاجات Conclusions

في ضوء النتائج التي حصل عليها من الدراسة الحالية استُنتج ما يأتي:

- ان مادة CFA تسبب التهاب مفاصل مزمنة التي تكون مشابهة لالتهابات الرثوية البشرية.
- يحتوي المستخلص المائي لنبات فاكهة التنين على العديد من المركبات الفعالة مثل والأنثوسيانين والفينولات والفلافونويدات بالإضافة الى المركبات التي عُزلت (فيتامين C).
- ان استحداث التهاب المفاصل الرثوي يسبب تغيرات في المعايير الكيموحيوية والنسجية واستنتج من خلال المقارنات الضرر الكيميائي على المعايير الكيموحيوية والنسيجة.
- تسبب كل من المستخلص المائي لنبات فاكهة التنين والمركبات الفعالة المعزولة كفيتامين C وحامض الكاليك في تحسين التهاب المفاصل الرثوي من خلال العامل الرثوي و ANA و Anti-ccp.
- ان المستخلصات النباتية والمركبات المعزولة منها بالإمكان ان تكون مكملة للعلاجات ضد الالتهابات.

قائمة المراجع:

[1] P. J. Jakobsson, L. Robertson, J. Welzel, M. Zhang, Y. Zhihua, G. Kaixin, *et al.*, "Where traditional Chinese medicine meets Western medicine in the prevention of rheumatoid arthritis," *Journal of Internal Medicine*, vol. 292, pp. 745-763, 2022.

[2] I. B. McInnes and G. Schett, "Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis," *The Lancet*, vol. 389, pp. 2328-2337, 2017.

[3] D. L. Scott, J. Galloway, A. Cope, A. Pratt, and V. Strand, *Oxford Textbook of Rheumatoid Arthritis*: Oxford University Press, 2020.

[4] J. Humphreys, A. Warner, J. Chipping, T. Marshall, M. Lunt, D. Symmons, *et al.*, "Mortality trends in patients with early rheumatoid arthritis over 20 years: results from the Norfolk Arthritis Register," *Arthritis care & research*, vol. 66, pp. 1296-1301, 2014.

[5] D. Aletaha and J. S. Smolen, "Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review," *Jama*, vol. 320, pp. 1360-1372, 2018.

[6] A. Sofowora, E. Ogunbodede, and A. Onayade, "The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention," *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, vol. 10, pp. 210-229, 2013.

[7] U. Eggli and L. E. Newton, *Etymological dictionary of succulent plant names*: Springer Science & Business Media, 2004.

[8] D. Verma, R. Yadav, M. Rani, S. Punar, A. Sharma, and R. Maheshwari, "Miraculous health benefits of exotic dragon fruit," *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*, vol. 5, pp. 94-96, 2017.

[9] J. Scimone and R. Rothstein, "Laboratory manual of clinical chemistry," *(No Title)*, 1978.

[10] J. Sedlak and R. H. Lindsay, "Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent," Analytical biochemistry, vol. 25, pp. 192-205, 1968.

[11] J. Harborne, "Methods of plant analysis," in Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis, ed: Springer, 1984, pp. 1-36.

[12] T. Sato, Y. Ose, H. Nagase, and H. Kito, "Mechanism of antimutagenicity of aquatic plant extracts against benzo [a] pyrene in the Salmonella assay," Mutation Research/Genetic Toxicology, vol. 241, pp. 283-290, 1990.

[13] K. R. A. Swarup, M. A. Sattar, N. A. Abdullah, M. H. Abdulla, I. M. Salman, H. A. Rathore, et al., "Effect of dragon fruit extract on oxidative stress and aortic stiffness in streptozotocin-induced diabetes in rats," Pharmacognosy research, vol. 2, p. 31, 2010.

[14] D. R. Omotoso and J. M. Olajumoke, "Ameliorative effects of Ascorbic acid and Allium sativum (Garlic) ethanol extract on renal parenchyma of gentamicin-induced nephropathic rats," Journal of Complementary and Alternative Medical Research, vol. 9, pp. 1-8, 2020.

[15] A. A. Adeneye, A. I. Oreagba, I. O. Ishola, and H. A. Kalejaiye, "Evaluation of the anti-arthritic activity of the hydroethanolic leaf extract of Alchornea cordifolia in rats," African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, vol. 11, pp. 402-410, 2014.

[16] D. Stillinger, K. Helland, and C. Van Atta, "Experiments on the transition of homogeneous turbulence to internal waves in a stratified fluid," Journal of Fluid Mechanics, vol. 131, pp. 91-122, 1983.

[17] Kirkwood, B.R., Essentials ofMedical Statistics. Boston, Mass: Black-well Scientific Publications, 1988.

[18] N. Marza Hamza, K. A. M Hussain, and A. H. Al-Safy, "Synthesis of nanoscale xerogel/MTX and study its effects on the liver and kidney tissue and level of IgG in rats with rheumatoid arthritis," Journal of Nanostructures, vol. 12, pp. 254-261, 2022.

[19] M. S. Bansod, V. G. Kagathara, R. R. Pujari, V. B. Patel, and H. H. Ardeshna, "Therapeutic effect of a poly-herbal preparation on adjuvant induced arthritis in wistar rats," International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, vol. 3, pp. 186-192, 2011.
[20] S. FREUND, "World Journal of Science and Research," World, vol. 1, pp. 43-48, 2016.
[21] D. F. Nishikito, A. C. A. Borges, L. F. Laurindo, A. M. B. Otoboni, R. Direito, R. d. A. Goulart, et al., "Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Other Health Effects of Dragon Fruit and Potential Delivery Systems for Its Bioactive Compounds," Pharmaceutics, vol. 15, p. 159, 2023.
[22] D. Pattison, A. Silman, N. Goodson, M. Lunt, D. Bunn, R. Luben, et al., "Vitamin C and the risk of developing inflammatory polyarthritis: prospective nested case-control study," Annals of the rheumatic diseases, vol. 63, pp. 843-847, 2004.
[23] S. Wang, J. H. Suh, X. Zheng, Y. Wang, and C.-T. Ho, "Identification and quantification of potential anti-inflammatory hydroxycinnamic acid amides from wolfberry," Journal of agricultural and food chemistry, vol. 65, pp. 364-372, 2017.
[24] S. Đurašević, J. Đorđević, T. Drenca, N. Jasnić, and G. Cvijić, "Influence of vitamin C supplementation on the oxidative status of rat liver," Archives of Biological Sciences, vol. 60, pp. 169-173, 2008.
[25] Z. Tian, H. Zhang, and C. Shang, "Farrerol ameliorate adjuvant-induced ankle injury via alteration of PPAR-γ signal pathway," Journal of Food Biochemistry, vol. 45, p. e13585, 2021.
[26] P. Yuna, C. N. Ginting, and L. Chiuman, "Anti-Inflammatory Effect of Red Dragon Fruit (Hylocereus polyrhizus) Peel on Male White Rat," Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol, vol. 10, pp. 22-29, 2023.
[27] P. Korantzopoulos, T. M. Kolettis, E. Kountouris, V. Dimitroula, P. Karanikis, E. Pappa, et al., "Oral vitamin C administration reduces early recurrence rates after electrical cardioversion of persistent atrial fibrillation and attenuates associated inflammation," International Journal of Cardiology, vol. 102, pp. 321-326, 2005.
[28] G. Kaithwas and D. K. Majumdar, "Therapeutic effect of Linum usitatissimum (flaxseed/linseed) fixed oil on acute and chronic arthritic models in albino rats," Inflammopharmacology, vol. 18, pp. 127-136, 2010.
[29] S. Ekambaram, S. S. Perumal, and V. Subramanian, "Evaluation of antiarthritic activity of Strychnos potatorum Linn seeds in Freund's adjuvant induced arthritic rat model," BMC complementary and alternative medicine, vol. 10, pp. 1-9, 2010.
[30] T. Vani, N. Saharan, S. Mukherjee, R. Ranjan, R. Kumar, and R. Brahmchari, "Deltamethrin induced alterations of hematological and biochemical parameters in fingerlings of Catla catla (Ham.) and their amelioration by dietary supplement of vitamin C," Pesticide biochemistry and physiology, vol. 101, pp. 16-20, 2011.
[31] S. Wållberg-Jonsson, J. T. Cvetkovic, K.-G. Sundqvist, A. K. Lefvert, and S. Rantapää-Dahlqvist, "Activation of the immune system and inflammatory activity in relation to markers of atherothrombotic disease and atherosclerosis in rheumatoid arthritis," The Journal of rheumatology, vol. 29, pp. 875-882, 2002.
[32] S. Chew, S. Loh, and G. Khor, "Determination of folate content in commonly consumed Malaysian foods," International Food Research Journal, vol. 19, 2012.
[33] K. ROBINSON, "Homocysteine, B vitamins, and risk of cardiovascular disease," vol. 83, ed: BMJ Publishing Group Ltd and British Cardiovascular Society, 2000, pp. 127-130.
[34] K. Lyall, R. J. Schmidt, and I. Hertz-Picciotto, "Maternal lifestyle and environmental risk factors for autism spectrum disorders," International journal of epidemiology, vol. 43, pp. 443-464, 2014.

[35] P. M. Kanani, C. A. Sinkey, R. L. Browning, M. Allaman, H. R. Knapp, and W. G. Haynes, "Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst (e) inemia in humans," Circulation, vol. 100, pp. 1161-1168, 1999.
[36] S. S. Gad, A. M. Fayez, M. Abdelaziz, and D. Abou El-ezz, "Amelioration of autoimmunity and inflammation by zinc oxide nanoparticles in experimental rheumatoid arthritis," Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, vol. 394, pp. 1975-1981, 2021.
[37] X. Tang, Z. Liu, Z. Yang, S. Xu, M. Wang, X. Chen, et al., "The effect of Chinese medicine compound in the treatment of rheumatoid arthritis on the level of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies: A systematic review and meta-analysis," Frontiers in Pharmacology, vol. 12, p. 686360, 2021.
[38] R. M. Ahmed, M. A. Mwaheb, M. H. Elmahdi, M. M. K. Abd Elguaad, D. E. Eldosoki, E. A. Mohamed, et al., "The effect of ascorbic acid on histopathological, biochemical, pharmacological, and immunological toxicity of chronic lead acetate exposure on the spleen in a rat model," Egyptian Pharmaceutical Journal, vol. 22, p. 129, 2023.
[39] K. A. Gelderman, M. Hultqvist, L. M. Olsson, K. Bauer, A. Pizzolla, P. Olofsson, et al., "Rheumatoid arthritis: the role of reactive oxygen species in disease development and therapeutic strategies," Antioxidants & Redox Signaling, vol. 9, pp. 1541-1568, 2007.
[40] V. S. Honmore, A. D. Kandhare, P. P. Kadam, V. M. Khedkar, A. D. Natu, S. R. Rojatkar, et al., "Diarylheptanoid, a constituent isolated from methanol extract of Alpinia officinarum attenuates TNF-α level in Freund's complete adjuvant-induced arthritis in rats," Journal of ethnopharmacology, vol. 229, pp. 233-245, 2019.
[41] M. A. Mahdi, "Biosynthesis of Gold nanoparticles using Dragon fruit and study their biochemical properties," Ministry of Higher Education, 2019.
[42] K. W. Lee, H. J. Lee, Y.-J. Surh, and C. Y. Lee, "Vitamin C and cancer chemoprevention: reappraisal," The American journal of clinical nutrition, vol. 78, pp. 1074-1078, 2003.
[43] C. Costagliola, T. Libondi, M. Menzione, E. Rinaldi, and G. Auricchio, "Vitamin E and red blood cell glutathione," Metabolism, vol. 34, pp. 712-714, 1985.
[44] R. Fan, T. Pan, A.-L. Zhu, and M.-H. Zhang, "Anti-inflammatory and anti-arthritic properties of naringenin via attenuation of NF-κB and activation of the heme oxygenase (HO)-1/related factor 2 pathway," Pharmacological Reports, vol. 69, pp. 1021-1029, 2017.
[45] N. Harahap, F. Sinaga, and R. Nailuvar, "Effect of red-fleshed pitaya (Hylocereus polyrhizus) to increase gluthatione peroxidase levels in male rats (Rattus norvegicus): The Induced Oxidative Stress," in Proceedings of The 5th Annual International Seminar on Trends in Science and Science Education, AISTSSE 2018, 18-19 October 2018, Medan, Indonesia, 2019.
[46] F. Armutcu, S. Akyol, and O. Akyol, "The interaction of glutathione and thymoquinone and their antioxidant properties," Electronic Journal of General Medicine, vol. 15, 2018.
[47] E. J. Goetzl, S. I. Wasserman, I. Gigli, and K. F. Austen, "Enhancement of random migration and chemotactic response of human leukocytes by ascorbic acid," The Journal of Clinical Investigation, vol. 53, pp. 813-818, 1974.