EVALUATION OF THE EFFECT OF LOSARTAN ON METHOTREXATE TREATMENT IN EXPERIMENTAL ADJUVANT-INDUCED ARTHRITIS IN RATS

Thesis submitted to Medical Research Institute
Alexandria University
In partial fulfillment for the degree of

PUA
Library
C
Pharos University in Alexandria

Master

in

Pharmacology and Experimental Therapeutics

By

PUA
Pharmacy
G- 123
543

Mennatallah Adel Gowayed

B. Pharm

Alexandria University, 2007

Medical Research Institute
Alexandria University

2012

الملخص العربي

التهاب المفاصل الروماتيدى هو احد الأمراض الناتجة عن خلل ذاتى بالجهاز المناعى، ومن خصائص هذا المرض وجود التهاب مزمن بالمفاصل، ويمكن بالتشخيص و العلاج المبكر وقاية المريض من تأكل المفاصل وكذلك يحافظ على مرونتها.

ويعتبر عقار الميثوتركسات أكثر العقاقير فعالية في علاج المرض لكفاءته العلاجية وقلة أعراضه الجانبية، وحيث أن استخدام الميثوتركسات منفردا قد لايحقق السيطرة الكاملة على نشاط المرض، لذا شاع استخدام الميثوتركسات بالإضافة إلى أحد العقاقير التى تنتمى الى مجموعة العقاقير المطوعة للأمراض الروماتيزمية.

و بالنسبة لمرض الروماتويد نشأت حاجة الى مزيد من العقاقير التى تعمل بطرق حديثة و من هذه العقاقير المقترحة تلك التى تؤثر على مسار الانجيوتنسين وبخاصة مستقبلات انجيوتنسين-١. انجيوتنسين-٢،هو أحد الوسائط الكيميائية المؤثرة بالجهاز الدورى لما له من دور أساسى فى ضبط ضغط الدم. كما توجد مجموعة كبيرة من الأدلة العلمية التى تؤكد دورة كوسيط فى أمراض الالتهابات.

وقد اتضح أن انجيوتنسين-٢ له دور فعال فى زيادة السيتوكينات المسئولة عن الالتهاب، مثل عامل النخر ألفا، وانترليوكين-١، ولذلك يعتبر انجيوتنسين-٢ من العوامل التى تساهم فى حدوث التهاب المفاصل الروماتيدى.

كما أثبتت بعض الأبحاث أنه عند تحليل عينات من الغشاء المحيط بمفاصل مرض الروماتويد، زيادة نشاط مستقبلات الانجيوتنسين-١، ومن هنا أنبثقت فكرة البحث الجارى وهى استخدام أحد مقفلات مستقبلات انجيوتنسين -١، لوسرتان، كعقار مبشر على أمل أن يكون ذو فاعلية فى علاج التهاب المفاصل الروماتويدى.

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم عقار لوسرتان كمضاد للإلتهاب بالاضافة الى اختبار فاعلية عقار الميثوتركسات إما منفردا أو مجتمعا مع عقار لوسرتان على بعض دلالات الالتهاب و التهاب المفاصل بالاضافة الى قياس نشاط بعض الانزيمات الكبدية الدالة على كفاءة الكبد فى نموذج الفئران المصابة بالتهاب المفاصل الروماتيدى.

في الدراسة الحالية حقنت الفئران بجرعة قدرها ٠.١ مل من معلق تركيزه ١٢مجم/مل، هذا المعلق هو ميكوبكتريوم بيتيركوم بعد معالجته حراريا، وتم الحقن فى الجلد عند قاعدة الذيل، ثم تركت الفئران دون علاج لمدة اثنى عشر يوما، وهى المدة اللازمة لظهور علامات الالتهاب المزمن بالفاصل.

تم قسمت الحيوانات الى خمس مجموعات تشتمل كل منها على ثمانية فئران:

المجموعة الأولى: عولجت الفئران مرتين أسبوعيا بعقار الميثوتركسات (١مج/كج/ اسبوعيا)، عن طريق الحقن في التجويف البريتوني.

المجموعة الثانية: عولجت الفئران يوميا بعقار اللوسرتان (٢٠مج/كج/ يوميا)، عن طريق الفم.

المجموعة الثالثة: عولجت الفئران بعقار اللوسرتان (٢٠مج/كج/ يوميا)، عن طريق الفم، والميثوتركسات (١مج/كج/ أسبوعيا)، عن طريق الحقن في التجويف البريتوني.

المجموعة الرابعة: الفئران غير المعالجة أعطيت (محلول ملح معقم) يوميا عن طريق الفم.

المجموعة الخامسة: الفئران الاصحاء غير المعالجة.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أنة عند أستخدام أى من العقارين الميثوتركسات او لوسرتان منفردين حدث انخفاض ذو دلالة احصائية فى القياسات الدالة على الالتهاب (عامة) و التهاب المفاصل (خاصة). وقد كان الانخفاض فى تورم الأقدام الخلفية ونقاط المفاصل الشعاعية وبروتين سى التفاعلى، وعامل نخز الورم الفا، وانترليوكن-١ بيتا، وعامل نمو بطانة الأوعية الدموية أكثر وضوحا فى المجموعة المعالجة بالميثوتركسات ، مما يتوافق مع كثير من الدراسات السابقة التى أكدت اعتبار العقار هو الخط الأول في علاج التهاب المفاصل الروماتيدى .

اما بالنسبة لتركيز النيترات والنيتريت فى مصل الدم؛ فقد تسبب كل من عقارى لوسرتان والميثوتركسات على حده فى زيادتها زيادة ذو دلالة إحصائية مقارنة بالفئران المصابة والغير معالجة، ولكن أيضا كانت الزيادة الناتجة عن استخدام عقار الميثوتركسات أكبر من تلك الناتجة بسبب استخدام عقار لوسرتان . كما تسبب عقار الميثوتركسات فى زيادة مستوى بروتين الألبومين زيادة ذات دلالة إحصائية مقارنة بالفئران الغير المعالجة، بينما لم تكن الزيادة الناتجة عن عقار لوسرتان ذات دلالة إحصائية. وقد أدى استخدام عقاري لوسرتان والميثوتركسات مجتمعين الى تحسن ملحوظ احصائيا فى جميع القياسات مقارنة بالفئران المعالجة بأى من العقارين على حده.

و قد أظهر الفحص المجهرى لعينات من الأقدام الخلفية للفئران أن لوسرتان و الميثوتركسات منفردين كان لهما نفس التأثير المضاد للالتهاب، وعند استخدام نفس العقارين مجتمعين حدث تحسن ملحوظ فى انتشار الخلايا الالتهابية وتآكل العظام مقارنة باستخدام أى من العقارين منفردين.

كما حدث ارتفاع ذو دلالة إحصائية فى مستوى ناقلة الأمين الاسبارتية والألانينية بمصل الدم فى الفئران المصابة الغير معالجة. وعندما عولجت الفئران بلوسرتان كان مقدار الانخفاض فى مستوى الانزيمين السابقين اكبر من نظيره عند استخدام الميثوتركسات، ولكن عند استخدام كلا العقارين مجتمعين انخفض مستوى الانزيمين إلى المستوى الطبيعى للفئران الأصحاء.

وعند الفحص المجهرى لأنسجة الكبد للفئران المصابة والغير معالجة ظهر خلل فى الخلايا وتليف بالإضافة إلى أورام حبيبية، وعند استخدام العقارين مجتمعين تعافى الكبد بشكل كبير مع وجود نسبة ضئيلة من التليف وانتشار الخلايا الالتهابية، وذلك بالمقارنة بالعينات المأخوذة من الفئران المعالجة بأى من العقارين منفردين.

ومما سبق يتضح وجود دور محتمل لمسار الانجيوتنسين في نموذج التهاب المفاصل الروماتيدى ومساهمة مستقبلات الانجيوتنسين-١ بدور محورى فى أحداث التهاب المفاصل. وقد تمكن عقار لوسرتان، وهو أحد مقفلات مستقبلات انجيوتنسين-١ من تخفيف حدة أعراض التهاب المفاصل وأيضا فى تخفيض مؤشرات الالتهاب التى قيست فى نموذج التهاب المفاصل الروماتويدى، ولكنه لم يظهر تفوقاً على عقار الميثوتركسات، حيث أثبت عقار الميثوتركسات فاعلية وكفاءة اكثر فى علاج التهاب المفاصل الروماتويدى.

كما أظهرت نتائج الدراسة أن عقار لوسرتان يزيد من فعالية العلاج بعقار الميثوتركسات بدون زيادة في معدل السمية. ومن حصيلة نتائج هذه الدراسة أن استخدام العقارين معا قد يتيح تخفيض جرعة عقار الميثوتركسات باعتباره أكثر سمية من نظيره مع الحصول على فاعلية عالية تفوق استخدام كل عقار منفرداً، ولكن يتحتم إجراء مزيد من الأبحاث لتأكيد هذا الرأى.

ونظرا للتلازم بين الإصابة بتصلب الشرايين والالتهاب؛ فإن غلق مستقبلات انجيوتنسين-١ قد لا يحدث فقط تأثيراً مضاداً للالتهاب، بل قد يؤدى إلى تخفيض الوفيات الناجمة عن أمراض القلب الشائعة بين مرض الروماتويد، ولذلك فاستخدام العقارين معا قد يفيد فى تقليل معدل الأزمات القلبية وذلك بتحجيم حدة الالتهاب مما يقى من تصلب الشرايين.

ونظرا لدور لوسرتان الايجابى فى المحافظة على وظائف الكبد فإن استخدامه مجتمعاً مع عقار الميثوتركسات قد يُمكّن من مواجهة خطر التسمم الكبدى الذى قد ينتج عن استخدام الميثوتركسات لفترات طويلة يستدعى به توقف العلاج .