



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الصيدلة

قسم الأدوية والسموم

دراسة تأثير الميثيل سلفونيل ميثان و خلاصة الشاي
الأخضر في الوقاية من التهاب القولون التقرحي عند
الجرذان.

**Studying the effect of
methylsulfonylmethane and green tea
extract on prevention of ulcerative
colitis in rats**

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في علم تأثير الأدوية
والسموم

إعداد الطالبة: فالنتينا البيطار

بإشراف الدكتورة: شذى اللحام

٢٠١٤-١٤٣٥

الاهداء Dedication

إلى من أفر بنسبي لهم إلى العطاء اللامحدود

إلى من صار عوا الأيام وبنوا بكفاحهم ومعاناتهم تقدمنا و سعادتنا.

أبي وأمي

لكم مني حبي واحترامي وتقديري

إلى من شاركوني الحياة بكل ما فيها ووقفوا معي في كل خطوة من حياتي

إخوتي

زوجي الغالي إباد

إلى رفيق دربي

أبحرت في بحر الكلام لأقتفي أحلى الكلمات، و أجمل العبارات، لكن الأمواج عاكستني،
ومجاديفي عجزت عن إبلاغي غايتي.

لو أنني أنشدت ألف قصيدة شكر لوجدتها لاتفيكم حقكم .

يسرني أن أتقدم بخالص الشكر و وافر الامتنان

للدكتورة شذى اللحام التي تفضلت مشكورة بالإشراف على هذه الرسالة راجية لها دوام
الصحة والعافية والمزيد من التألق والنجاح.

الشكر Acknowledgment

أتقدم بالشكر الجزيل وفائق الاحترام لكل من الأستاذ الدكتور أحمد مناديلي والأستاذة الدكتورة ليلي مسوح على تفضلهم بالمشاركة في لجنة الحكم.

و أتقدم بخالص الشكر والامتنان لعمادة كلية الصيدلة ممثلة بالأستاذ الدكتور جمعة الزهوري.

و أشكر الأستاذة الدكتورة سحر الفاهوم الوكيله العلمية لكلية الصيدلة، والوكيلة الإدارية الدكتورة جمانة الصالح على كل الدعم والمساعدة

و أشكر رئاسة قسم علم تأثير الأدوية والسموم ممثلة بالأستاذ الدكتور عامر زمريق على تقديم كافة التسهيلات والدعم المستمر.

و الشكر موصول لأساتذتي في قسم علم تأثير الأدوية والسموم على الدعم العلمي والمعنوي وتقديم كافة الإمكانيات اللازمة لإنجاز هذا البحث.

و أشكر الأستاذة الدكتورة رنا عطية – كلية الطب البشري جزيل الشكر لإشرافها على الدراسة النسيجية وإعطائي الكثير من وقتهاو جهودها.

وأخص بالشكر الزميل وصفي عصفور الذي مد لي يد المساعدة، وأعطاني الكثير من وقته وجهده.

وأقدم الشكر والامتنان لزميلاتي في قسم علم تأثير الأدوية والسموم (سمر مرجان ، فاطمة درويش ، وفاء علي) على الدعم والمساعدة.

شكراً لكل من ساعدني من العاملين في كلية الصيدلة وكانوا لي خير عون وسند، وأخص بالشكر السيد خالد درويشة والسيد ثائر أبو عون على جهودهما.

الشكر الجزيل لشركة سيفكو للصناعات الدوائية على تقديمها العديد من المواد الضرورية لإنجاز هذا البحث

المحتويات:

٢ Dedication	الاهداء
٣ Acknowledgment	الشكر
Error! Bookmark not defined. تصريح:		
٧	الدراسة النظرية
٨:Introduction	المقدمة
٨	١- لمحة تشريحية:
١٠	٢- تحديد التهاب القولون التقرحي:
١٢	٣- الفيزيولوجية المرضية:
١٢	٣-١- الدور المناعي:
١٣	٣-٢- العوامل المورثية genetic factors
١٤	٣-٣- دور الجذور الحرة free radicals والكرب التأكسدي oxidative stress:
٢٠	٣-٤- دور الخلايا الظهارية epithelial cells:
٢٠	٣-٥- الملامح الميكروبيولوجية لالتهاب القولون التقرحي:
٢١	٤- معالجة التهاب القولون التقرحي:
٢١	٤-١- الأمينوساليسيلات Aminosalicylates :
٢٣	٤-٢- الستيروئيدات القشرية corticosteroids:
٢٥	٤-٣- كابئات المناعة immunosuppressive:
٢٦	٤-٤- Tacrolimus
٢٧	٤-٥- Probiotics
٢٧	٤-٦- العلاجات البيولوجية biological treatment:
٢٨	:Adalimumab
٢٨	:CDP571
٢٨	:Etanercept
٢٨	:Onercept
٢٨	:Thalidomide
٢٨	٤-٧- الجراحة surgery:
٢٩	٥- مضادات الأوكسدة:
٣١	:green tea extract خلاصة الشاي الأخضر
٣٩	(MSM)methylsulfonylmethane ميتيل سلفونيل ميتان
٤١	acetic acid حمض الخل
٤٢	aim of study هدف البحث
٤٣	الدراسة العملية

المواد والطرائق Materials and Methods:	٤٤
١- المواد:	٤٤
١-١- حيوانات التجربة:	٤٤
١-٢- المواد المستخدمة:	٤٤
١-٣- العتيدات المستخدمة:	٤٤
١-٤- المواد المساعدة:	٤٤
٢- الأجهزة المستخدمة:	٤٤
٣- طرائق العمل:	٤٥
٣-١- طور الحقن:	٤٥
٣-٢- إحداث التهاب القولون التقرحي:	٤٥
٣-٣- الفحص العياني macroscopic examination	٤٦
٤-٣- الفحص النسيجي histological examination:	٤٦
٥-٣- المعايير الكيميائية الحيوية Biochemical assays:	٤٧
٣-٥-١- قياس مستويات الغلوتاتيون glutathione:	٤٧
٣-٥-٢- قياس فعالية (MPO) (myeloperoxidase):	٤٨
٤- التحليل الإحصائي statistical analysis:	٥١
النتائج results	٥٢
١- نتائج الفحص العياني macroscopic results:	٥٣
١-١- المجموعة الطبيعية الشاهدة:	٥٣
١-٢- المجموعة المريضة الشاهدة:	٥٣
١-٣- مجموعة ميتيل سلفونيل ميتان MSM:	٥٤
١-٤- مجموعة الشاي الأخضر:	٥٤
١-٥- مجموعة المشاركة:	٥٤
٢- نتائج الفحص النسيجي histological results	٦٠
٢-١- المجموعة الطبيعية الشاهدة:	٦٠
٢-٢- المجموعة المريضة الشاهدة:	٦٠
٢-٣- مجموعة الميتيل سلفونيل ميتان MSM:	٦٠
٢-٤- مجموعة الشاي الأخضر:	٦١
٢-٥- مجموعة المشاركة:	٦١
٣- نتائج معايرة مستويات الغلوتاتيون:	٧٢
٣-١- المجموعة الشاهدة الطبيعية:	٧٢
٣-٢- المجموعة المريضة الشاهدة:	٧٢
٣-٣- مجموعة الميتيل سلفونيل ميتان MSM:	٧٢
٣-٤- مجموعة خلاصة الشاي الأخضر:	٧٢
٣-٥- مجموعة المشاركة:	٧٢
٤- نتائج معايرة MPO:	٧٤

٧٥	٤-١ -المجموعة الشاهدة الطبيعية :
٧٥	٤-٢ -المجموعة المريضة الشاهدة :
٧٥	٤-٣ -مجموعة الميتيل سلفونيل ميتان MSM :
٧٥	٤-٤ -مجموعة خلاصة الشاي الأخضر :
٧٥	٤-٥ -مجموعة المشاركة:
٧٨	المناقشة discussion:
٨٣	الاستنتاجات Conclusions:
٨٤	المقترحات والتوصيات Suggestions and Recommendations:
٨٥	الملخص:
٨٦	Abstract
٨٧	الكلمات المفتاحية Keywords:
٨٨	المراجع Refrences:
١٠٥	قائمة الجداول List of tables:
١٠٦	قائمة الأشكال List of figures
١٠٩	قائمة الاختصارات List of abbreviations
١١٠	الملحق Appendix:

الدراسة النظرية

المقدمة Introduction:

١- لمحة تشريحية:

تقسم الأمعاء الغليظة إلى ٣ أقسام رئيسية هي: القولون colon والمستقيم rectum والقناة الشرجية anal canal (١).

القولون:

هو عبارة عن عضو نبيبي يمتد من الصمام اللفانفي الأعوري ileocecal إلى المستقيم الداني، يبلغ طوله حوالي ٩٠-١٥٠ سم، وظيفته الأساسية امتصاص الماء والكهارل وتخزين المحتويات داخل اللمعة ليسمح بإطراح مضطرب للبراز (٢).

ويقسم إلى القولون الصاعد ascending colon والقولون المستعرض transverse colon والقولون النازل descending colon والقولون السيني sigmoid colon (٢).

ويتألف جدار القولون من الطبقات التالية :

١- المخاطية mucosa وتتألف من:

▪ ظهارة اسطوانية columnar epithelium بسيطة تتألف من خلايا اسطوانية امتصاصية absorptive وخلايا غوبليت goblet المصنعة للمخاط والتي يزداد عددها باتجاه النهاية المطرافية terminal end للقولون (٣).

▪ غدد معوية intestinal glands

▪ الصفيحة المخصوصة lamina propria

▪ المخاطية العضلية muscularis mucosa (٣).

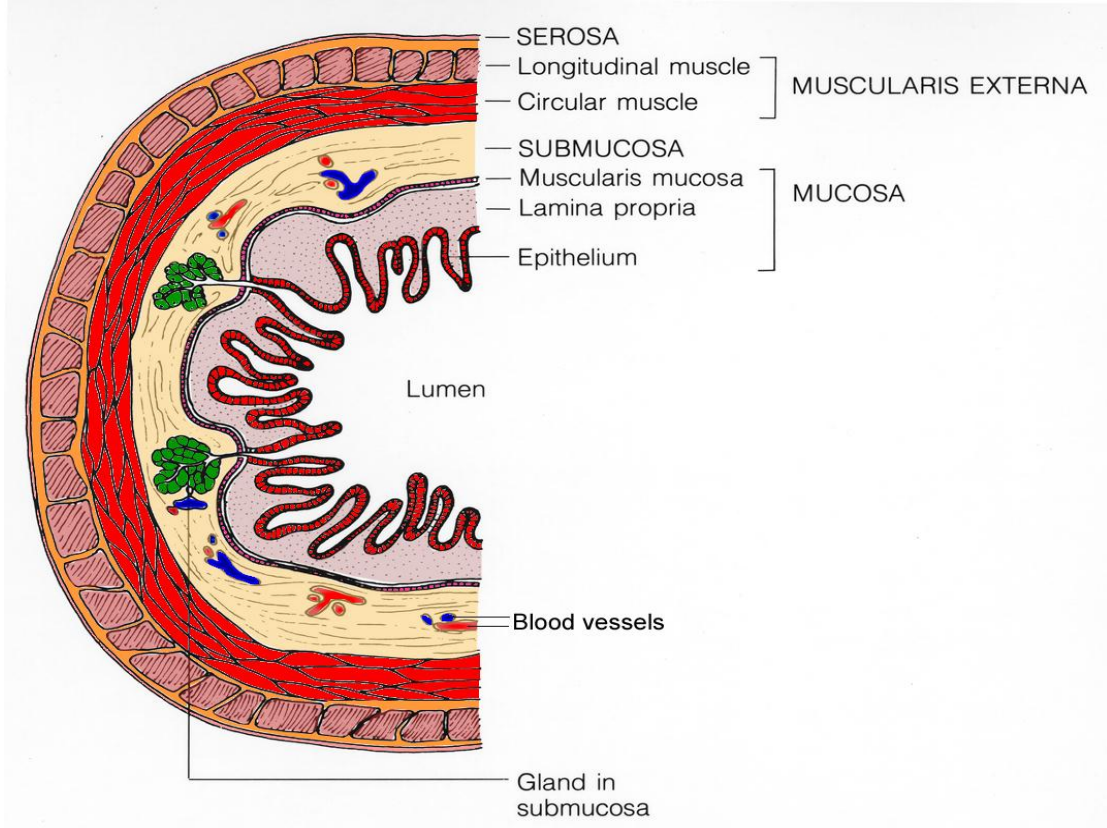
٢- تحت المخاطية submucosa وتتألف من خلايا نسيجية ضامة connective

tissue cells وألياف fibers و أوعية دموية متنوعة وأعصاب nerves (٣).

٣- العضلية الظاهرة muscularis externa وتتألف من طبقتين من العضلات الملس هما الطبقة العضلية الدائرية الداخلية inner circular muscle layer والتي تكون مستمرة في جدار القولون و الطبقة العضلية الخارجية التي تكثف إلى ٣ أشرطة bands طولانية عريضة تدعى الشرائط القولونية taeniae coli (٣).

كما توجد خلايا العقد اللاودية parasympathetic ganglion للضفيرة العصبية العضلية (اورباخ Auerbach's) بين الطبقتين العضليتين الملس للعضلية الظاهرة (٣).

٤- المصلية serosa (الصفاق الحشوي visceral peritoneum والمساريق mesentery) تغطي القولون المستعرض والقولون السيني (٣).



الشكل ١. طبقات جدار القولون (١)

٢- تحديد التهاب القولون التقرحي:

التهاب القولون التقرحي ulcerative colitis (UC) هو مرض التهابي مزمن (٤)، وصف لأول مرة عام ١٨٧٥ من قبل طبيبين انكليزيين هما Wilks و Moxon (٥) ، و لوحظ خلال العقود الأخيرة زيادة ثابتة في حدوثه (٦). يندرج تحت مصطلح الأمراض المعوية الالتهابية inflammatory bowel disease (IBD) الذي يشمل أيضاً داء كرون Crohn's disease (٧).

يتظاهر التهاب القولون التقرحي بمظاهر التهابية و تقرحية في الطبقات العليا من بطانة lining الأمعاء الغليظة (٨)، بشكل مناطق مستمرة من الالتهاب و التقرح دون وجود قطع من الأنسجة الطبيعية (٤). غالباً ما يصيب الالتهاب المستقيم والجزء السفلي من القولون، لكنه يمكن أن يصيب كامل القولون (٨). ونادراً ما يصيب الأمعاء الدقيقة باستثناء القطعة السفلية التي تدعى باللفائفي ileum (٨).

يصنف التهاب القولون التقرحي إلى أربعة فئات: التهاب المستقيم التقرحي ulcerative proctitis (ويكون محدوداً بالمستقيم)، و التهاب المستقيم والسيني proctosigmoiditis (الذي يصيب المستقيم والقولون السيني)، و التهاب القولون أيسر الجانب left-sided colitis (الذي يشمل كامل القولون النازل)، و التهاب المستقيم الشامل pancolitis (الذي يصيب كامل القولون) (٩).

غالباً ما يوصف سير المرض من حيث خطورة تقدم الالتهاب وعدد حالات النكس والحاجة للجراحة ومعدل الوفيات، حيث يتفاوت المسار السريري للمرض؛ بين الهدأة و النكس، فيكون حوالي ٢٥% من المرضى في مرحلة الهدأة بعد ٣-٧ سنوات من التشخيص ويختبر ١٨% من المرضى مرحلة المرض الفعال و ٥٧% نكس متقطع و يكون احتمال استئصال القولون بعد ١٠ سنوات حوالي ٢٤% (٦).

يعد التهاب القولون التقرحي أكثر شيوعاً عند النساء (١٠) ويحدث بنسب مرتفعة بعمر بين ١٥-٣٥ عام وهناك قمة أخرى للإصابة بعمر بين ٥٠-٨٠ عاماً وتكون نسبة الإصابة عند الأطفال بعمر أقل من ١٠ سنوات منخفضة (٦).

يرتبط نمط الحياة مع ظهور التهاب القولون التقرحي والذي يترافق مع الغذاء الغني بالدهون والسكر واستخدام الأدوية و حالات الكرب والوضع الاجتماعي والاقتصادي ، حيث يسبب التدخين مرضاً أخف شدة و ينقص الحاجة إلى الأدوية، و يؤدي الإرضاع الطبيعي و كذلك استئصال الزائدة الملتهبة في المراحل المبكرة من الحياة إلى تناقص حدوث التهاب القولون التقرحي (١١).

تعتمد علامات UC و أعراضه على امتداد الالتهاب وتوزعه وشدته ، ويعود العديد من الملامح السريرية إلى الموضع التشريحي للآفة (١٢). تكون الأعراض المميزة على شكل نزف في المستقيم وظهور مخاط قيحي mucopus وإلحاح التغوط والإسهال ولكن يمكن لبعض المرضى أن يعانون من إمساك وتغوط مدمى hematochezia و زحير tenesmus (وهو الإحساس بالحاجة إلى إفراغ البراز) (١٣)، ومغص بطني abdominal colic يحدث بسبب التضيقات المعوية (١٢). كما يمكن أن يعاني المرضى الأكثر خطورة من قهم anorexia وغثيان و قيء وتسرع قلب tachycardia (١٣). وتشمل الملامح الأخرى: فقدان الوزن وسوء التغذية malnutrition وفقر الدم anemia ، ويمكن أن يعاني المرضى المزمنون من مشاكل نفسية اجتماعية مثل الاكتئاب ونقصان الشعور بالمسؤولية (١٢).

يعتمد تشخيص UC على القصة السريرية والفحوص الفيزيائية ومشاركة الفحوص الشعاعية radiologic ، والفحوص المتعلقة بالتنظير الداخلي endoscopic ، والفحوص المخبرية laboratory (١٤). تتطلب الاختبارات المتعلقة بالتنظير الداخلي فترة من الصيام قبل إجراء الاختبار وتشمل: تنظير القولون colonoscopy، وهو تقنية ممتازة لتحديد الالتهاب والتضيقات في القولون والمستقيم واللفائفي و تنظير السيني sigmoidoscopy الذي يستخدم لفحص المستقيم و الثلث الأول (الجانب الأيسر) من القولون (١٤). و تنظير المستقيم proctoscopy وتنظير السيني و المستقيم proctosigmoidoscopy الذي يكشف التغيرات المخاطية المميزة المترافقة مع التهاب القولون التقرحي وتشمل التحبب granularity وسهولة التفتت friability والتقرح ulceration (١٥). ويمكن الاعتماد على الخزعة biopsy التي غالباً ما تؤخذ خلال التنظير و تستخدم لتحديد أنماط من الالتهاب و خلل التنسج والسرطان (١٤). كما يمكن استعمال الدم المسحوب من الوريد في العديد من الاختبارات، حيث يشير ارتفاع كل من تعداد الكريات البيض وسرعة تثقل الكريات الحمراء إلى وجود التهاب في مكان ما في الجسم و يمكن أن يكون الهيماتوكريت (نسبة الكريات الحمر من كامل الدم) و الهيموغلوبين في الكريات الحمراء أقل مقارنة بالطبيعي ليشير إلى وجود فقر دم بسبب سوء امتصاص الحديد والنزف الشديد أو وجود مرض مزمن (١٦).

يجب أثناء تشخيص UC استبعاد العديد من الأمراض التي تشابه التهاب القولون التقرحي وتشمل: التهاب القولون العدوائي infectious و التهاب القولون المترافق مع استخدام الصادات الحيوية Antibiotic-associated colitis والداء النشواني Amyloidosis و متلازمة القرحة المستقيمية الوحيدة Solitary rectal ulcer syndrome و سرطان الأمعاء

الغليظة Large bowel cancer والتهاب القولون اللمفاوي Lymphocytic colitis وBehcet's disease وداء بهجت Collagenous colitis والتهاب القولون الكولاجيني و (١٧).

يترافق التهاب القولون التقرحي مع عدد من المضاعفات وتشمل في القولون : حدوث انتقاب وانسداد معوي و التهاب البريتوان peritonitis وسرطان القولون والمستقيم colorectal cancer (١٦). أما المضاعفات الجهازية فتتضمن: سوء التغذية والتهاب المفاصل arthritis والمشاكل الجلدية و تحصي الكلية nephrolithiasis وأمراض الكبد (١٦).

٣- الفيزيولوجية المرضية :

رغم أنه لا تزال الفيزيولوجية المرضية لالتهاب القولون التقرحي موضوعاً مثيراً للجدل (١٨)، إلا أنه يعتقد وجود تفاعل معقد بين العوامل الوراثية والبيئية (على سبيل المثال النيبب المجهري المعوي enteric microflora) والعوامل المناعية immunological (١٩) .

٣-١- الدور المناعي:

يعتبر التهاب القولون التقرحي نمطاً من الأمراض المناعية الذاتية، حيث يحدث ولأسباب غير معروفة خلل في الوظيفة الطبيعية للجهاز المناعي الذي يهاجم الجهاز المعدي المعوي مؤدياً بذلك إلى حدوث الالتهاب (١٤).

يفترض العديد من الأبحاث أن الحدث البدئي للمرض ينتج عن استجابة مناعية غير منظمة (١٩)، تعرض بشكل لاحق حالة من التفاعلية المعوية الالتهابية (٢٠). حيث تترافق الاستجابة

المناعية الموضوعية الشديدة مع ارتشاح للمفاويات lymphocytes والبلاعم macrophages متبوعاً بتحرير السيتوكينات الالتهابية وغيرها من الوسائط الالتهابية الأخرى. كما يؤدي التنشيط المناعي غير المضبوط للخلايا الالتهابية إلى إنتاج عامل النخر الورمي TNF- α (tumor necrosis factor) والانتروكينات IL- 1 β و IL- 8 و thromboxane والعامل المنشط للصفائح و أكسيد النتريت والأنواع الأوكسجينية التفاعلية (٢١). كذلك يترافق ارتشاح هذه الخلايا الالتهابية مع إصابة مخاطية أو جدارية شديدة تشمل: وذمة وفقدان خلايا غوبلت goblet cells وتناقص الإنتاج المخاطي وتآكلات erosions وتقرحات (١٨) تؤدي إلى تعريض النسيج المعوي إلى التأثير المؤذي للمحتويات المعوية إضافة إلى الأنزيمات المتحررة بواسطة الخلايا الالتهابية (٩).

ينظم هجرة الخلايا الالتهابية عاملان هاما هما الشدة التأكسدية وجزيئات الالتصاق النوعية (٢٢).

يعتمد التصاق الكريات البيضاء الدورانية على البطانة المعوية على التعبير المترافق عن جزيئات الالتصاق الوعائية 1- VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) وجزيئات التصاق خلايا الأدريسين المخاطية 1- (MAdCAM-1) Mucosal addressin cell adhesion molecule-1 وجزيئات الالتصاق 1 داخل الخلية 1- ICAM-1 (Intracellular adhesion molecule-1) جنباً إلى جنب مع التعبير عن مستقبلات تضاد الانتغرين integrin لكل منها على سطح الكريات البيضاء الدورانية (٢٢). وقد تم التأكيد على الأهمية الأساسية للتعبير المتزايد عن 1- VCAM في UC من خلال العديد من التجارب التي أثبتت أنه يمكن إحصار هجرة الكريات البيضاء و الضرر المخاطي من خلال الاستبدال المناعي immunoneutralization لجزيئات الالتصاق هذه (٢٢). إن الآلية التي تحرض بواسطتها هذه العوامل المتنوعة حدوث الالتهاب لم يتم فهمها بشكل كامل حتى الآن، إلا أن العديد من الدراسات تقترح أن التأثيرات مستقبل - سيتوكين يمكن أن تنشط عامل الانتساخ النووي NF- κ B (Nuclear transcription factor- kappa B) وهو عبارة عن عامل انتساخ واسع الانتشار ينظم الاستجابات المناعية و الالتهابية المتنوعة، يؤدي تثبيته إلى إنقاص التعبير عن VCAM-1 القولوني و بالتالي من الالتهاب (١٨). و كنتيجة لما سبق إن تنشيط NF- κ B وتنشيط انتساخه اللاحق لعدد من الجينات الالتهابية له دور حاسم في تطور التهاب المعى المزمن (١٨).

٣-٢- العوامل المورثية genetic factors

هناك أدلة قوية على دور العوامل الوراثية في أمراض التهاب القولون التقرحي (٢٣)، الذي يعتبر من الأمراض العائلية أو الوراثية المعقدة على عكس الأمراض الوراثية البسيطة، حيث لا يوجد طراز نموذجي في القصة العائلية يشير إلى هذا المرض حسب قوانين Mendelian للوراثة ، وبالتالي لا توجد وسيلة لإمكانية التنبؤ بأنه سيلد الزوجان أطفالاً سيتطور لديهم المرض (٩). أظهرت الدراسات أن نسبة حدوث UC عند الأقارب من الدرجة الأولى أكثر ب ٣٠-١٠٠ مرة مقارنة مع الأشخاص العاديين (٢٣). وهناك أدلة على أن كل شكل مختلف من التهاب القولون التقرحي له عملية التهابية خاصة به مع أعراض متفاوتة وعوامل وراثية خاصة (٩).

٣-٣- دور الجذور الحرة free radicals والكرب التأكسدي oxidative stress:

تتواجد الجذور الحرة في الخلايا البيولوجية والنسج بتركيز منخفضة قابلة للقياس يتم تحديدها من خلال التوازن بين معدلات إنتاجها ومعدلات تصفيتها بواسطة مضادات الأكسدة المتنوعة (٢٤).

يشمل مصطلح الجذور الحرة كلاً من:

- الأنواع الأكسجينية التفاعلية reactive oxygen species (ROS): وتشمل جذر فوق الأكسيد superoxide و بيروكسيد الهيدروجين hydrogen peroxide والهيدروكسيل hydroxyl و الهيبوكلوريت hypochlorite
- الأنواع النتروجينية التفاعلية reactive nitrogen species (RNS).

إن كلاً من ROS و RNS هي منتجات الاستقلاب الخلوي الطبيعي و تلعب دوراً مزدوجاً كأنواع مؤذية ومفيدة للأنظمة الحية (٢٥). تحدث التأثيرات المفيدة بالتركيز المنخفضة أو المتوسطة وتتضمن أدوارها الفيزيولوجية في الاستجابات الخلوية لعوز الأكسجين anoxia والدفاع ضد العوامل العدائية وتلعب أدواراً أساسية كعوامل قاتلة للجراثيم bacteriocidal ومضادة للفيروسات ومضادة للأورام وتدخل في وظيفة العديد من أنظمة الإشارة الخلوية (٢٦). أما التأثيرات المؤذية فتسبب ضرراً بيولوجياً يدعى بالكرب التأكسدي oxidative stress (٢٧، ٢٨)، وهذا ما يحدث في الأنظمة البيولوجية عندما يكون هناك فرط في إنتاج ROS و NOS من جهة وعوز في مضادات الأكسدة الأنزيمية واللاأنزيمية من جهة أخرى (٢٤).

تتضمن ROS:

▪ جذر فوق الأكسيد O_2^- :

يمكن أن يتم إنتاج جذر فوق الأكسيد أنزيمياً إما عن طريق المعتدلات والبلاعم المفعلة التي تقوم بإرجاع الأكسجين إلى فوق الأكسيد من خلال أكسدة NADPH بواسطة معقد NADPH oxidase (٢٩). أو بواسطة أنزيم xanthine oxidase في العديد من الأنسجة بعد تحلل البورين في حال نقص الأكسجين anoxia. إلا أن غالبية فوق الأكسيد الذي يتم إنتاجه يومياً يأتي من سلسلة التنفس المتقدرية (٣٠).

يعتبر جذر فوق الأكسيد الجذر الحر الأساسي في الأنسجة و يتحول إلى المؤكسد الثانوي بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بواسطة أنزيم superoxide dismutase (SOD) (٣١).

▪ بيروكسيد الهيدروجين hydrogen peroxide:

يتشكل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 من تطاير $dismutation$ جزيئتين من فوق الأوكسيد بتوسط أنزيم SOD (٣٠).

لايعتبر كل من فوق الأوكسيد و بيروكسيد الهيدروجين ضاراً بشكل خاص للخلايا، أياً كان فإنه من الممكن أن يتفاعلا مع أشكال أكسدة- إرجاع للحديد لتشكيل جذر الهيدروكسيل عالي التفاعل $OH\cdot$ بواسطة تفاعل فينتون fenton (١٨).

▪ جذر الهيدروكسيل: hydrogen radical

هو جذر عالي التفاعل يمكن أن يتفاعل بسرعة مع أي جزيء حيوي حيث يمكن أن يسبب ضرراً تأكسدياً للبروتينات والشحوم إضافة إلى تعزيز انقسام طاق DNA (١٨).

▪ الهيبوكلوريت HOCL hypochlorite

يمكن أن ينتج عن التنشيط المناعي لمفصصات النوى (PMNs) Polymorphonuclears والوحدات تعزيز تشكيل HOCL عن طريق الأوكسدة المحفزة بواسطة أنزيم MPO (myeloperoxidase) (١٨) وهو أنزيم يتواجد في الحبيبات أليفة اللازورد azurophilic granules للمعتدلات الثديية وبشكل أقل في الوحيدات البشرية (٣٢)، يستخدم كمسعر كمي للالتهاب (٣٣)، و كمسعر على ارتشاح المعتدلات (٢٩)، و تستخدم فعاليته لتحديد العملية الالتهابية المعوية ومتابعتها (٣٣).

يتفاعل هذا الأنزيم في وضع الراحة مع H_2O_2 ليشكل مركب خزدلة (أكسدة - إرجاع) وسطي فعال يؤكسد الكلوريد CL^- ليشكل HOCL وتدعى هذه التفاعلات بحلقة الكلورة (٣٢). سمية HOCL أعلى ب ١٠٠-١٠٠٠ مرة من سمية جذر فوق الأوكسيد (١٨) أو H_2O_2 . يملك فعالية قوية مضادة للميكروبات وله تأثير سمي شديد ويتفاعل مع الجزيئات البيولوجية ليعمل على تدرك البروتينات البنيوية وتعطيل الأنزيمات (٣٢).

أما RNS فتشمل:

○ أكسيد النتريت (NO) nitric oxide: وهو جذر حر يملك تفاعلية متوسطة (٣٣). أظهر العديد من الباحثين أن الإنتاج البنيوي لـ NO يلعب دوراً وقائياً من الإصابة النسيجية المتواسطة بالمناعة لكن إنتاج كميات كبيرة من NO بواسطة أنزيم (iNOS) inducible nitric oxide synthase يمكن أن يثبط الأنزيمات الأساسية في سلسلة النقل المتقدي (٣٤).

يعبر كلا النمطين من الخلايا (البلاعم والمعدلات) وخاصة البلاعم عن أنزيم (iNOS) و هو أنزيم قابل للتحريض بالسيتوكين يحفز إرجاع L-arginine إلى L-citrulline مع تحرير للنترريك أكسيد (NO) (٢٩).

يلعب NO دوراً في تنظيم التوتر الوعائي والدفاع عن المضيف وفي المناعة من خلال تعديل الاستجابات الالتهابية ويساعد في قتل الممرضات داخل الخلية والأورام ويعتبر مرسال داخل خلوي واسع الانتشار عند الفقاريات و يعدل التدفق الدموي و الخثار thrombosis والفعالية العصبية وذلك ضمن الظروف الفيزيولوجية الطبيعية حيث يكون معدل إنتاج NO منخفضاً (١٨).

أما عند تعزيز تدفق NO سيتشكل بيروكسي نترت نتيجة تفاعل NO مع فوق الأكسيد و nitrosonium نتيجة تفاعله مع الفلزات الانتقالية المؤكسدة ويؤدي استمرار هذه الأنماط من التفاعلات إلى تحريض حدوث الالتهاب (١٨).

○ بيروكسي نترت peroxynitrite: ينتج من تفاعل الكميات المتزايدة من NO مع جذر فوق الأكسيد (٣٣).

دور المتقدرة mitochondria في إنتاج الجذور الحرة:

المتقدرة عبارة عن عضوية داخل خلوية مسؤولة عن إنتاج الطاقة (٣٥) والتنفس الخلوي الذي تتجزه عن طريق آلية تدعى سلسلة نقل الإلكترون ينتقل فيها الإلكترون بين الجزيئات المختلفة لإنتاج الطاقة (٣٦)، حيث يتم إرجاع معظم الأكسجين المستهلك من قبل المتقدرة إلى الماء لكن يتم إرجاع ١-٢% من الأكسجين بشكل غير كامل إلى فوق الأكسيد (٣٧)، الذي يحدث له تطاير مع جزيئة فوق أكسيد أخرى لتشكل بيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ (٣٨)، الذي يمكن بعد ذلك أن يشكل جذر الهيدروكسيل (٣٩).

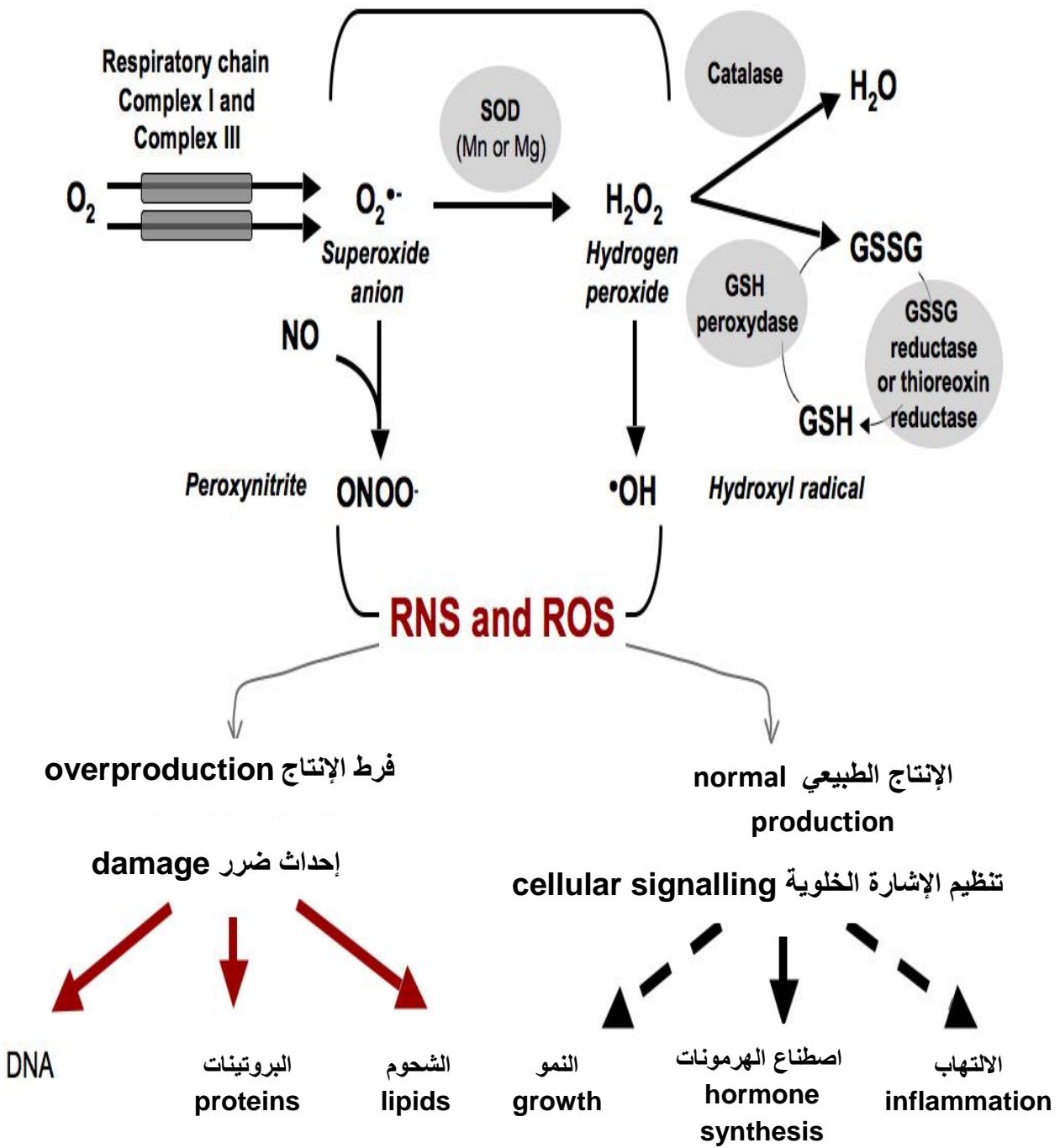
تملك معظم الأنسجة بشكل طبيعي كميات كافية من مضادات الأكسدة الأنزيمية مثل SOD و catalase و (GSH peroxidase) واللاأنزيمية مثل التيول thiols و ascorbate و α- tocopherol تتصدى للعوامل المؤكسدة الضارة التي تقلت إلى البيئة المحيطة لتحدها من الأذى النسيجي (١٨) .

يؤدي عدم التوازن بين الآليات الدفاعية وإنتاج المؤكسدات إلى حالة تدعى بالشدة التأكسدية وهذا ما يحدث في التهاب القولون التقرحي الذي يترافق مع نفاذ عام في الدفاعات التأكسدية داخلية المنشأ (١٨) ، حيث تتناقص مستويات مضادات الأكسدة المنحلة بالشحوم مثل

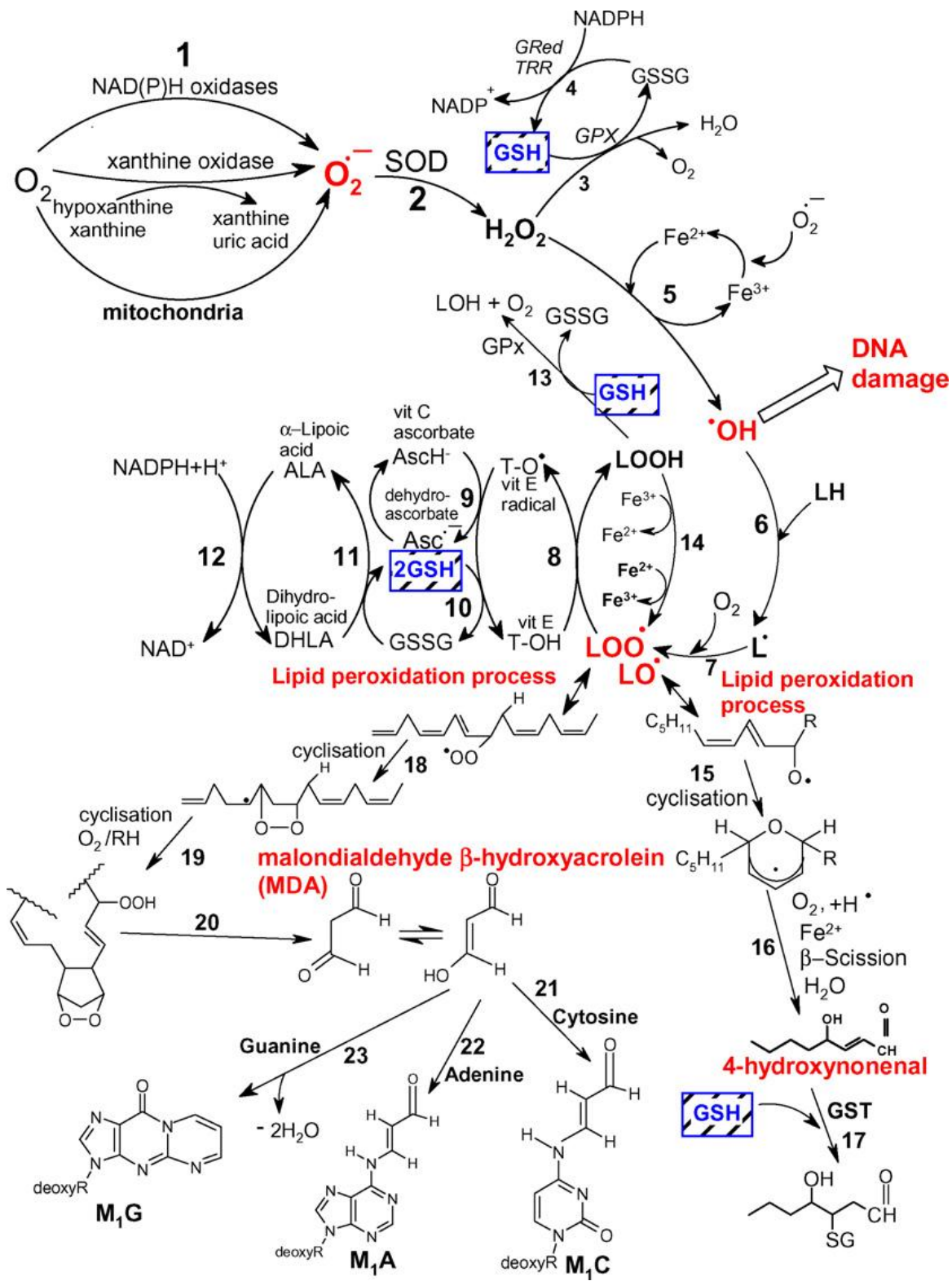
retinol و α - tocopherol و β - carotene والأنزيمات الداخلية المضادة للأكسدة نتيجة الإنتاج المتزايد للمؤكسدات والأنواع التفاعلية (٢٩). هذه الأنواع التأكسدية غير ثابتة بسبب تفاعلها العالية التي يمكن أن تسبب حدوث أكسدة فائقة للشحوم lipid peroxidation (٤٠)، تؤدي بدورها إلى توليد الهيدروبيروكسيدات الشحمية والألدهيدات التي تملك تأثيراً سميماً مباشراً للخلايا و العضيات و تعمل على تبديل الاستتباب الخلوي والانسحاب الغشائي وفعالية الأنزيمات المختلفة (٤١). وقد أظهرت عدة دراسات ارتفاع مستويات Malondialdehyde (MDA): و هو منتج الأكسدة الفائقة للشحوم في المخاطية القولونية عند مرضى التهاب القولون التقرحي (٢٩).

كما تعمل المستقبلات التأكسدية أيضاً على الارتباط المتصالب مع البروتينات والحموض النووية مسببة خللاً وظيفياً خلوياً (٤٢)، و هي مسؤولة بشكل جزئي عن خلل سلامة الخلايا الظهارية (٣٣)، وفقدان الكهارل والسوائل وتفعيل العديد من العوامل الالتهابية (٤٣). كذلك تساهم وبشكل هام في استمرار العملية الالتهابية عند مرضى التهاب القولون التقرحي من خلال تنشيط عوامل انتساخ محددة حساسة للخزلة redox والإنتاج اللاحق للسيتوكينات الالتهابية وتعزيز تفعيل وارتشاح الكريات البيضاء وتعجيل الاستماتة الخلوية (٤٤).

تعزز التراكيز غير السامة لمستقلبات تأكسدية محددة الإفراز المعوي والقولوني للـ Cl^- لتلعب هذه المؤكسدات دوراً في الفيزيولوجية المرضية للإسهال المحرض بالالتهاب (١٨). كما يمكن أن تملك العديد من المؤكسدات دوراً هاماً في الفيزيولوجية المرضية للقلوصية contractility المعوية المخمدة الملاحظة عند مرضى التهاب القولون التقرحي (١٨).



الشكل ٢: إنتاج ROS و RNS في سبيل التنفس المتقدريّة (٤٥).



الشكل ٣: سبل تشكيل الأنواع الأكسجينية التفاعلية وعملية الأكسدة الفائقة للشحوم و دور الغلوتاتيون ومضادات الأكسدة الأخرى (الفيتامين C والفيتامين E و lipoic acid) في تضبيب الكرب التأكسدي (٤٥) .

٣-٤- دور الخلايا الظهارية epithelial cells:

تشكل الظهارة المعوية حائلاً انتقائياً لتبادل الذوائب عبر المخاطية و تقدم حاجزاً محصناً للعوامل الضارة المحتملة التي تقيم بشكل طبيعي في لمعة المعي (٤٦)، وبالتالي فإن أية حالة تؤدي إلى تعطيل هذا الحائل المحصن ستسمح بتقديم غير ملائم للمستضدات المتنوعة و العضويات الدقيقة و الديدانات إلى الصفيحة المخصصة وأخيراً إلى الدوران الجهازي إضافة إلى تعزيز حركة السوائل إلى لمعة المعي. وقد أظهرت العديد من الدراسات أن التقلبات الأساسية في الاستجابة المناعية المعوية المترافقة مع التهاب القولون التقرحي تعود إلى عيب جوهري في وظيفة الحائل للظهارة المعوية (٤٧)، يمكن أن يؤدي إلى نواب معوية التهابية بطريقة تتعلق بنفوذية متزايدة للأغشية الحاوية على الكوليسترول للطبقة الظهارية المعوية (٤٨).

٣-٥- الملامح الميكروبيولوجية لالتهاب القولون التقرحي:

يتواجد حوالي ١ بليون إلى ١ ترليون جرثومة معوية طبيعية (النيبب المجهري المعوي microflora) في كل غرام من المحتوى المعوي ويكون المعوي السليم متحملاً له (٩)، حيث يكون بعض هذه الجراثيم محصناً وبعضها معدلاً والآخر ممرضاً (٤٩). و تلعب الفلورا المعوية دوراً حاسماً في المحافظة على الصحة المعوية من خلال الوظائف الاستقلابية والهضمية و الاغذائية والمحصنة (٥٠).

يترافق التهاب القولون التقرحي مع فقدان التحمل للجراثيم المطاعمة commensal عند المرضى الذين لديهم استعداد وراثي (٥١)، ينتج عنه زيادة في إنتاج السيتوكينات والكيموكينات طليعة الالتهابية pro-inflammatory (٥٢)، كما يحدث تغير في تركيب الجراثيم المطاعمة و وظيفتها حيث تزداد فوعة الجراثيم الممرضة مثل Escherichia coli من خلال تعزيز ارتكازها المخاطي و الاستدامة داخل الخلية لتعرض بذلك استجابة مناعية مرضية (٥١).

٤- معالجة التهاب القولون التقرحي:

تهدف معالجة التهاب القولون التقرحي إلى التحريض على حدوث الهدأة بأسرع وقت ممكن والمحافظة عليها لأطول فترة ممكنة (٥٣)، وإنقاص عدد حالات النكس التي تصل إلى نسبة ٦٧% عند مرضى التهاب القولون المصابين لمدة ١٠ سنوات (٥٤)، و تسهيل الالتئام المخاطي وتحسين نوعية حياة المريض (٥٣). و تركز المعالجة على التغذية والدعم العاطفي والأدوية والبدائل الجراحية المتنوعة (١٦).
تشمل المعالجة التقليدية لالتهاب القولون التقرحي:

٤-١- الأمينوساليسيلات Aminosalicylates :

تشمل مركبات الأمينوساليسيلات : 5-ASA(5- amino salicylic acid) :
mesalazine و sulphasalazine و olsalazine و balsalazide . وهي معالجات معيارية تشكل الخط الأول (٥٤) في إحداث الهدأة والمحافظة عليها في التهاب القولون التقرحي الخفيف إلى المتوسط بسبب هامش مأمونيتها و نجاعتها (١٥)، وقدرتها على تسهيل الالتئام المخاطي و التقليل من استخدام الستيروئيدات ومن سميتها (٥٣). تشمل التأثيرات المضادة للالتهاب لـ 5- ASA: تعديل إنتاج السيتوكينات الالتهابية، وإنقاص فاعلية عامل الانتساخ (NF- KB، وتثبيط التخليق الحيوي للليكوترينات leukotrienes (٥٣)، و كس الأنواع الأكسجينية التفاعلية (٥٥).

تعطى مركبات الأمينوساليسيلات فمويًا أو موضعياً وتكون المشاركة بينهما أفضل من إعطاء كل منها على حدة في التهاب القولون الخفيف إلى المعتدل . بشكل عام تبدأ الأمينوساليسيلات بالعمل بين ٢-٤ أسابيع وتكون فعالة عند ٤٠-٨٠% من المرضى (١٥). تعمل تحاميل 5-ASA بجرعة ٥٠٠ ملغ مرتين يومياً على التحريض على حدوث الهدأة والمحافظة عليها في التهاب المستقيم و التهاب القولون الذي يصل إلى الثنية الطحالية spleen flexure . كما تكون الحقن الشرجية لـ 5-ASA بجرعة ٢-٤ غ في كل حقنة فعالة أيضاً في إحداث الهدأة والمحافظة عليها (٥٤). الفترة المثلى للمعالجة غير معروفة وتختلف باختلاف مركبات 5-ASA ولكن معظم التجارب حددت مدة العلاج بفترة ٨ أسابيع (٥٦).

عند تطبيق 5-ASA فمويًا، فإنه يمتص بشكل سريع وفعال في المعوي العلوي لكن بشكل ضعيف ضمن القولون ويطرح عن طريق البول إما بشكل 5-ASA غير مستقلب أو بشكل

مستقلب N-acetyl-5-ASA وهو لا يملك أي تأثير مضاد للالتهاب. يعتمد العمر النصفى لـ 5-ASA على الجرعة ويصل إلى ١.٤ ساعة (٥٥).

Balsalazide: عبارة عن طليعة دواء prodrug يتم شطره بواسطة بكتيريا القولون إلى 5-ASA و 4-aminobenzoyl-b-alanine (4-ABA)، و يطرح فقط ٠.١٤% منه بشكل غير مشطور عن طريق البول (٥٥)، وهو فعال في إحداث الهدأة والمحافظة عليها الجرعة الفعالة منه ٦.٧٥ غ فموياً / يومياً موزعة على ٣ جرعات (١٥).

Olsalazine: يتألف من جزئيتين من 5-ASA، العمر النصفى له ٠.٩ ساعة، يطرح أقل من ١% منه عن طريق البول ويصل الباقي إلى القولون (٥٥). الجرعة الفعالة منه: ١.٥ - ٣ غ فموياً / يومياً مقسمة على عدة جرعات. استخدامه محدود لأنه يسبب حدوث اسهال معتمد على الجرعة (١٥).

Sulfasalazine: يتألف من sulphapiridine (مضاد حيوي antibiotic) و 5-ASA وهو مضاد التهاب (٥٧). تعود التأثيرات السريرية للـ sulfasalazine إلى آلياته المضادة للالتهاب و الكابتة للمناعة immunosuppressive و الكابحة للجراثيم bacteriostatic (٥٦). يعمل sulfasalazine على تثبيط وظائف المحببات متضمنة: الانجذاب الكيميائي chemotaxis و الهجرة وإنتاج فوق الأكسيد وزيادة البروستاغلاندينات التي تملك تأثيرات مضادة للالتهاب وكابتة للمناعة، مع إنقاص عيار الليبواوكسيجيناز lipoxigenase. أما مناعياً فيثبط sulfasalazine فعالية الخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا T (٥٦). تتراوح الجرعة الفعالة من sulfasalazine بين ٤-٦ غ فموياً / يومياً موزعة على ٤ جرعات (١٥). يمتص sulfasalazine بشكل ضعيف (أقل من ١٢%) ويكون العمر النصفى له ٥-١٠ ساعات في المصل (٥٥). قد يحدث عدم تحمل لجزء sulfapyridine في sulfasalazine بشكل شائع ليؤدي إلى غثيان و إقياء و عسر الهضم وقهم وصداع (١٥).

Mesalamine: يعدل الاستجابات الالتهابية النوعية كإحصار إنتاج الليكوترئينات leukotrienes والبروستاغلاندينات prostaglandins، و تثبيط الانجذاب الكيميائي للكريات البيضاء، و كنس الجذور المشتقة من الأكسجين (٥٨). يمكن تطبيقه فموياً أو موضعياً بشكل تحاميل أو حقن شرجية، وهو أفضل من الأمينوساليسيلات الفموية أو الستيروئيدات

الموضعية في معالجة UC الخفيف إلى المعتدل. الجرعة الفعالة منه ٢-٤.٨ غ فمويًا / يوميًا موزعة على ٣ جرعات (١٥).

تشمل الأمينوساليسيلات أيضاً مركبات 4-ASA التي أثبتت نجاعتها في معالجة UC حيث تعطى بشكل حقن شرجية وتعتبر بديلاً جيداً عن مركبات 5-ASA في حال سببت التهاب البنكرياس. أما مركبات 3-ASA فلم تجرب سريرياً، وقد أثبتت الدراسات في المختبر فعاليتها المضادة للأكسدة (٥٥).

الآثار الضائرة adverse effects:

تملك مركبات aminocalicylates هامش مأمونية مع حوادث ضائرة خطيرة قليلة. تشمل معظم هذه المظاهر: عسر الهضم dyspepsia و إسهال وحمى و طفح وصداع (٥٨). أما التفاعلات الضائرة الخطيرة النادرة العائدة لـ sulfasalazine فتشمل: التهاب كبد و التهاب بنكرياس، وقلة الكريات البيضاء leucopenia، وفقر الدم الانحلالي hemolytic anemia، وسمية عصبية neurotoxicity، والتليف الرئوي pulmonary fibrosis. تشمل الآثار الضائرة التي سجلت مع mesalamine: اعتلالات دموية blood dyscrasias و التهاب البنكرياس و سمية كلوية nephrotoxicity (٥٨).

٤-٢- الستيروئيدات القشرية corticosteroids:

تضعف الستيروئيدات القشرية التفاعلات المناعية النوعية وغير النوعية لتؤثر على كل من الحوادث الالتهابية المبكرة والمتأخرة، حيث تثبط الحوادث المبكرة مثل توسع الأوعية vasodilation و ارتشاح الكريات البيضاء و زيادة النفوذية الوعائية vascular permeability وتحرر السيتوكينات الالتهابية (٥٩). كما تثبط تنشيط اللمفاويات وتكاثرها من خلال تثبيط الانترلوكين ٢، وكبت إنتاج العديد من اللمفوكينات وتشمل interferon- γ و عامل النخر الورمي ألفا والانترلوكين ٣ و الانترلوكين ٤ والانترلوكين ٥، و إضعاف وظيفة اللمفاويات المساعدة والسامة للخلايا cytotoxic والخلايا المناعية الأخرى (٥٩). تستعمل بشكل أساسي لإحداث الهدأة في التهاب القولون التقرحي المتوسط إلى الشديد أو عند المرضى الذين لم يستجيبوا للمعالجة بالأمينوساليسيلات (١٥)، لكن لا تستخدم للمداومة على الهدأة و ذلك بسبب الآثار الجانبية غير المرغوبة لها (١٥).

أدى استخدام الستيروئيدات القشرية في معالجة التهاب القولون التقرحي إلى إنقاص معدل الوفيات mortality من ٦١% إلى ٤-٧% (٥٤).

يمكن تطبيق الستيروئيدات القشرية فموياً مثل: Cortisone و Prednisone و Prednisolone و Budesonide .

أو وردياً مثل: Prednisolone و Methylprednisolone و Corticotropin .
أو عن طريق المستقيم مثل: Beclomethasone و Tixicortol و Budesonide و Prednisolone و Metasulfobenzoate (٥٤).

بشكل عام، ينصح البدء بجرعات عالية من الستيروئيدات القشرية ومن ثم خفضها تدريجياً (٦٠).

لم يتم تحديد الجرعة المثلى للستيروئيدات القشرية في معالجة UC من خلال التجارب المجرأة. وقد أجريت دراسات عديدة لمقارنة تأثير الجرعات ٢٠ و ٤٠ و ٦٠ ملغ من prednisone المطبق فموياً عند مرضى التهاب القولون التقرحي الخفيف إلى المتوسط الشديد فكانت جرعة ٤٠ ملغ أفضل من ٢٠ ملغ ولكنها بنفس فعالية جرعة ٦٠ ملغ و بآثار جانبية أقل (٦٠). أكثر الستيروئيدات القشرية استخداماً هي hydrocortisone بجرعة ١٠٠ ملغ مرة واحدة يومياً وردياً و methylprednisolone بجرعة ١ ملغ / كغ/ يومياً وردياً (٦٠). كما برهنت التجارب فعالية تطبيق ١٠٠ ملغ من hydrocortisone عن طريق المستقيم و ١٠ ملغ من prednisolone في إحداث الهدأة ولكن ليس للمحافظة عليها في التهاب القولون التقرحي (٥٤) .

سمية الستيروئيدات القشرية متواترة وغالباً ما ينتج عنها مقاومة عند قسم من المرضى الذين استخدمت لديهم سابقاً وذلك بسبب زيادة التعبير عن مستقبل الستيرويد السكري 48 β وزيادة التعبير عن جين المقاومة لتعدد الأدوية (MDR- ١) multidrug resistance gene 1 تشمل السمية قصيرة الأمد: الوجه البدرى moon face عند ٤٧% ، و العد acne) ٣٠% ، والخمج infection (٢٧%) ، و كدمات ecchymoses (١٧%) ، و فرط ضغط الدم hypertension (١٥%) ، و كثرة الشعر hirsutism (٧%) ، و النزف النمشي petechial bleeding (٦%) . كما يمكن أن تؤدي المعالجة طويلة الأمد بالستيروئيدات القشرية إلى آثار جانبية خطيرة وتشمل: بدء الإصابة بالداء السكري diabetes mellitus و نخر عظمي osteonecrosis وتخلخل العظم osteoporosis المترافق مع الستيروئيدات، واعتلال عضلي myopathy ، و الذهان psychosis ، و الساد cataracts ، و الزرق glaucoma (٥٤).

٣-٤ - كابتات المناعة immunosuppressive:

• Thiopurines :

وتشمل AZA (azathioprine) و 6-MP (6- mercaptopurine) وهي أدوية فعالة عند العديد من المرضى المصابين بالتهاب القولون التقرحي (٦١)، و 6- thioguanine (6- TG) الذي يستعمل في حال فشل المعالجة بواسطة AZA و 6- MP (٦٢).

AZA هو طبيعة دواء prodrug يتحول ٨٨% منه إلى (6MP) (٦١)، امتصاصه غير كامل ومتنوع ويتراوح توافره الحيوي بين ١٦-٧٢% (٦٢). و يخضع كل من AZA و 6-MP إلى استقلاب شديد لتشكيل المستقلب الفعال (6-) 6- thioguaninenucleotides (6-) TGN (٦٢).

تعتبر هذه الأدوية الخيار العلاجي عند المرضى الذين لديهم اعتماد أو مقاومة للستيروئيدات (١٥).

تعتمد نجاعة AZA على فعالية التهاب القولون التقرحي (سواء أكان المرض فعالاً أو في طور الهدأة) ، و قد أثبتت الدراسات التجريبية استخدامه كمساعد أو كبديل عن الستيروئيدات و 5-ASA في المعالجة (٦١).

لاتزال آلية تأثير كل من AZA و 6- MP غير واضحة بالشكل الكامل حتى الآن لكن تشير بعض الدراسات إلى فعاليتها السامة للخلايا cytotoxic و تحريض الاستماتة ،حيث يندمج 6-TGN مع DNA أو RNA ليؤدي إلى تأثير سام للخلايا وإنقاص التعبير عن جزيئات الطبيعة الالتهابية في الخلايا T المنشطة (٦٢).

لا تستعمل thiopurines من أجل إحداث الهدأة بل فقط للمحافظة عليها وذلك لأنها تحتاج لفترة أشهر حتى تصل إلى النجاعة العلاجية. جرعة البدء ١-١.٥ ملغ / كغ من 6-MP و ٢-٢.٥ ملغ/ كغ من AZA (٦٣).

تشمل الآثار الجانبية للثيوبورينات: التهاب البنكرياس و حمى و قلة الكريات البيض وسمية كبدية و غثيان و إقياء. ولذلك يجب مراقبة تعداد الدم الكامل في الأسبوع ٢ و ٤ و ٨ من بدء العلاج ومراقبة أنزيمات الكبد والبنكرياس (٦٣).

Cyclosporin •

وهو عبارة عن بيتيد أليف للشحوم يملك تأثيرات تثبيطية لكل من الجهاز المناعي الخلوي و الخلطي. يعمل على تنظيم هابط downregulation للاستجابة المناعية الخلوية من خلال إحصار إنتاج الانترلوكين ٢ و اللمفاويات التائية المساعدة كما يمكن أن يثبط وبشكل غير مباشر وظيفة الخلايا البائية (٦٤).

تشمل مستحضرات Cyclosporine: المستحضرات الفموية السائلة (Sandimmune, 100 mg/mL و الكبسولات الجيلاتينية الفموية (Sandimmune, 25, 50, and 100 mg) والمستحضرات الوريدية (Sandimmune, 50 mg/mL) (٦٤).

أشارت التجارب أن الجرعات العالية من السيكلوسبورين ٢-٤ مغ / كغ وريدياً يومياً فعالة في التهاب القولون التقرحي الشديد ، لكن لوحظ أن جرعة ٢ مغ / كغ يومياً لها نفس نجاعة جرعة ٤ ملغ / كغ يومياً وبالتالي تفضل جرعة ٢ مغ نتيجة السمية الكبيرة المترافقة مع الجرعة الأكبر (٦٤).

التأثيرات الضائرة المسجلة من خلال التجارب المجراة على cyclosporine: مثل paresthesias ٢٦% ، و فرط الأشعار hypertrichosis ١٣% ، و فرط ضغط الدم ١١% ، و رعاش tremor ٧% ، و غثيان أو إقياء ٦% ، و قصور كلوي renal insufficiency ٦% ، و صداع ٥% ، و خمج ٣% ، و سمية كبدية ٣% ، و فرط تصنع لثوي gingival hyperplasia ٢% ، و نوبة seizure ١% ، و تأق anaphylaxis مع السيكلوسبورين الوريدي ٠.٣% (٦٤).

Tacrolimus -٤-٤-

عزل لأول مرة من Streptomyces tsukubaensis عام ١٩٨٧ كدواء جديد. ويعتبر كبديل عن Cyclosporine عند مرضى التهاب القولون الشديد أو في حال المقاومة للستيروئيدات. يثبط tacrolimus انتساخ جينات تنشيط الخلايا T للانترلوكين 2-IL وعامل النخر الورمي TNF ويثبط التعبير عن مستقبلات IL-2 و IL-7. تتراوح الجرعات الفعالة منه بين ٠.٠٠١ و ٠.٠٠٢ ملغ / كغ وريدياً أو ٠.١ - ٠.٢ ملغ / كغ فمويماً (٦٥).

٤-٥- Probiotics

تعرف بأنها متممات غذائية ميكروبية عيوشة لها تأثيرات مفيدة على المضيف من خلال تأثيرها على السبيل المعوي. تؤثر probiotics بشكل مفيد على المضيف من خلال التنبيه النوعي لنمو و/ أو نشاط عدد محدد من الجراثيم في القولون، حيث يؤدي تعديل الفلورا المعوية بواسطة probiotics إلى غلبة الجراثيم المعززة للصحة بشكل خاص (٦٦). يجب أن يضمن probiotic المثالي: السلامة الكاملة للمضيف والمقاومة للحموضة المعدية والإفرازات البنكرياسية والالتصاق إلى الخلايا الظهارية وامتلاكه فعالية مضادة للميكروبات و تثبيط الجراثيم الممرضة والتحمل لمضافات الطعام (٦٧). يمكن أن يكون لـ probiotics تأثيرات علاجية من خلال العديد من الآليات وتشمل: التنافس مع الممرضات الميكروبية على عدد محدد من المستقبلات التي تتواجد على سطح الظهارة المعوية وتحرير مركبات مضادة للميكروبات مثل الأحماض العضوية و الأحماض الدهنية الحرة. و زيادة تحريض إفراز الموسين والذي يعزز ارتباط probiotic مع المخاطية المعوية. كما يمكن أن يعدل مستقبلات الذايفان، و يحصر الأمراض المتوسطة بالذايفان وتحريض إنتاج الانترفيرون غاما والانترولوكين ٢ و الانترولوكين ١٢ و الانترولوكين ١٨ (٦٦).

٤-٦- العلاجات البيولوجية biological treatment:

إن المعالجات التكنولوجية البيولوجية المستخدمة حالياً في الممارسة السريرية أو في معالجة الأمراض المعوية الالتهابية هي عبارة عن بروتينات في الغالب تعطى وريدياً أو تحت الجلد. تشمل أنماط البروتينات العلاجية المستعملة بروتينات بشرية مأشوبة recombinant مع تأثيرات منظمة مناعياً، وأضداد وحيدة النسيلة monoclonal antibodies مؤنسنة humanized و بشرية بالكامل، و بروتينات انصهارية fusion proteins (٦٨). ومن الأمثلة على المعالجة البيولوجية:

Infliximab:

و هو عبارة عن ضد وحيد النسيلة يدوي فأري بشري IgG1 مهندس وراثياً، يحتوي ٧٥% بروتين بشري و ٢٥% بروتين فأري (٦٨). تشمل الآليات المفترضة لـ Infliximab: استبدال neutralization كل من TNF المنحل وعبر الغشائي transmembrane إضافة إلى حل الخلايا المولدة للـ TNF بواسطة تثبيت المتممة complement واستماتة للمفاويات التائية (٦٨).

وهو الدواء البيولوجي الموافق عليه في معالجة التهاب القولون التقرحي المعتدل إلى الشديد وغير المستجيب للمعالجات التقليدية، حيث يسيطر بشكل سريع على الأعراض ويحرض الالتئام المخاطي وينقص من المضاعفات الخطيرة (٦٩).

:Adalimumab

وهو عبارة عن ضد IgG1 وحيد النسيلة مؤشب لـ TNF-alpha، أثبتت نجاعته كعلاج مداوم لالتهاب القولون التقرحي ولكن فقط نسبة محددة من المرضى استمروا في المعالجة لمدة سنتين (٧٠) .

: CDP571

ضد وحيد النسيلة بشري IgG4 مهندس وراثياً يعمل على استبدال كل من TNF المنحل و عبر الغشائي (٦٨).

:Etanercept

هو بروتين بشري بالكامل وبالتالي هو أقل استمناً من infliximab ، يعمل على استبدال TNF المنحل (٦٨).

:Onercept

هو عبارة عن موحد p55 monomer للمستقبل TNF البشري المأشوب المهندس وراثياً، آليته غير معروفة حتى الآن لكن يفترض أن تكون باستبدال TNF المنحل (٦٨).

:Thalidomide

و هو عبارة عن جزيء صغير يعمل على تثبيط التخليق البيولوجي لـ TNF (٦٨).

:surgery ٧-٤- الجراحة

قد يضطر الطبيب إلى اتخاذ خيار الجراحة عند بعض مرضى التهاب القولون التقرحي، علماً أنها لا تخلو من المخاطر وتؤثر بشكل هام على حياة المريض لكنها تعتبر خياراً إنقاذياً في حال فشل العلاجات الدوائية المستخدمة (٧١). حيث يحتاج حوالي ٢٥-٤٠ % من مرضى التهاب

القولون التقرحي إلى استئصال القولون في النهاية وذلك بسبب النزف الجسيم والمرض الشديد وتمزق القولون أو بسبب خطورة الإصابة بالسرطان. و الجراحة الأكثر شيوعاً هي استئصال المستقيم والقولون proctocolectomy مع فغر اللفائفي ileostomy (٨).

٥- مضادات الأكسدة:

تعرف مضادات الأكسدة البيولوجية بأنها جزيئات طبيعية تمنع التشكيل غير المضبوط للجذور الحرة والأنواع التفاعلية أو تثبط تفاعلاتها مع البنى البيولوجية (٧٢). تحتوي المخاطية القولونية أنظمة متنوعة متنوعة مضادة للأكسدة وخاصة في الخلايا الظهارية (٤١) منها:

- الأنزيمات المضادة للأكسدة antioxidant enzymes:

• غلوتاتيون بيروكسيداز (glutathione peroxidase Gpx):

وهو أنزيم يعمل على إرجاع بيروكسيد الهيدروجين بوجود الغلوتاتيون GSH كمانح للإلكترون كما يزيل سمية الهيدروبيروكسيد الشحمي ويعتبر هذا التفاعل ضرورياً في منع التهاب المعى المزمن (٧٣)، حيث يتأكسد الغلوتاتيون إلى ثنائي سلفيد الغلوتاتيون GSSG والذي يمكن أن يتحول مرة أخرى إلى الغلوتاتيون بواسطة أنزيم glutathione reductase بعملية تستهلك NADPH (٢٤).

• SODs (superoxide dismutase):

تعتبر SODs الأنزيمات المضادة للأكسدة الرئيسية في الحماية الخلوية من المستقلبات الأكسجينية التفاعلية من خلال تحفيز تطاير dismutation أيون فوق الأكسيد إلى أكسجين و H_2O_2 (٣٣، ٤٣).

يمكن لـ SOD أن ينظم ارتشاح المعتدلات من خلال إنقاص التعبير عن جزيئة الالتصاق داخل الخلوية ١ و P-selectin في الخلايا الظهارية و البطانية و تثبيط إنتاج بعض السيتوكينات طليعة الالتهابية (٣٣). وقد أظهرت عدة دراسات التأثيرات المفيدة للمعالجة بواسطة SOD في التهاب القولون التجريبي (٣٣)، حيث يصيب التعبير عن أنزيم SOD نوعاً من الاختلال عند مرضى UC (٤٣).

• أنزيم الكاتالاز catalase : وهو أنزيم يرجع H_2O_2 إلى الماء . (الشكل ٣).

- مضادات الأكسدة اللاأنزيمية non-enzymatic antioxidants:

و نذكر منها الغلوتاتيون GSH:

وهو ثلاثي ببتيدي واسع الانتشار (٧٤) (Y -glutamyl-L-cysteinyl – glycine) يتواجد بشكل طبيعي بتراكيز عالية ضمن الأنسجة (١٨). تتراوح مستويات GSH في الأنسجة الطبيعية البشرية بين ٠.١ إلى ١٠ mM (٧٥)، و تركيزه داخل الخوي ١-٨ mM. تتم المحافظة على المستويات الخلوية الطبيعية للغلوتاتيون عن طريق التخليق الجديد من الحموض الأمينية الطليعة الحاوية على الكبريت مثل: cysteine و methionine و إعادة التوليد بواسطة إرجاع ثنائي سلفيد الغلوتاتيون GSSG (١٨). الشكل المرجع من الغلوتاتيون (GSH) هو الشكل الفعال، أما الشكل غير الفعال منه فهو (GSSG)، والذي يجب أن يتم تحويله إلى GSH، النسبة المعتادة من GSH:GSSG في الأنسجة هي حوالي ١:١٠٠. الأدوار الأساسية للغلوتاتيون كمضاد أكسدة:

الغلوتاتيون هو تميم العامل cofactor للعديد من الأنزيمات المزيلة للسمية ضد الكرب التأكسدي مثل: glutathione peroxidase (GPx) و glutathionetransferase وغيرها، يعمل على كنس جذر الهيدروكسيل بشكل مباشر و يزيل سمية بيروكسيد الهيدروجين والبيروكسيدات الشحمية من خلال الفعل المحفز لأنزيم glutathione peroxidase. الغلوتاتيون قادر على تجديد معظم مضادات الأكسدة الهامة مثل الفيتامين E و الفيتامين C (٧٥). و يلعب الغلوتاتيون دوراً في إنقاذ الخلايا من الاستماتة حيث يترافق استنفاد الغلوتاتيون الذي يجعل البيئة الخلوية أكثر تأكسداً مع بداية الاستماتة (٧٦). تساعد قدرة المعى على امتصاص الغلوتاتيون للمعى في ضبط توازن خردلة (أكسدة- إرجاع) للتيول في المعى، لكن يمكن لهذه العملية أن تكون غير كافية أو يمكن أن تعطب عن طريق الشدة التأكسدية كما في حال UC (٧٦).

يعتبر نفاذ GSH الحدث الحاسم في الضرر القولوني المترافق مع UC عند البشر والنماذج الحيوانية حيث يمكن أن يكون هذا النفاذ تالياً لتعزيز إنتاج الجذور الحرة و/ أو يمكن أن يمثل اضطراباً نوعياً ناتجاً عن إضعاف فعالية أنزيمات تخليق GSH. ويعد التزود بمضادات الأكسدة التي تزيد محتوى الغلوتاتيون الخطوة الأهم في تخفيف الضرر التأكسدي للمخاطية القولونية، لذا استعمل العديد من الأدوية لزيادة محتوى السيستئين (CYS) cysteine في الخلايا المخاطية لأن هذا الحمض الأميني يمثل الركيزة الأساسية في اصطناع الغلوتاتيون (٤١).

خلاصة الشاي الأخضر green tea extract:

يعتبر الشاي واحداً من المشروبات الأكثر استهلاكاً في العالم و يقسم إلى ثلاثة أنواع اعتماداً على مستوى التخمير fermentation وهي: الشاي الأخضر green tea (غير مختمر unfermented) و teaoolong (مختمر جزئياً) و الشاي الأسود black (مختمر) . وهناك نوع آخر من الشاي هو الشاي الأبيض white الذي يتم إنتاجه من البراعم حديثة النمو والأوراق الفتية التي يتم تبخيرها لتعطيل أكسدة البولي فينولات polyphenols ثم تجفيفها (٧٧).

- التصنيف العلمي للشاي الأخضر scientific classification (٧٨).

المملكة :kingdom plantae

الرتبة :order Ericales

الفصيلة :family Theaceae

الجنس :genus Camellia

النوع :species C. Sinensis

- الوصف: description

الأجزاء الطبية: وهي الأوراق الملساء الفتية ويحضر منها الشاي الأخضر أو الأسود اعتماداً على طريقة المعالجة المعطاة (٧٩).

الثمرة والزهرة: الأزهار قصيرة العنق مفردة أو ضمن مجموعات من بضعة أزهار، لونها أبيض أو وردي فاتح وقطرها ٣-٥ سم .

الثمرة بلون بني مخضر ذات محفظة خشبية ، قطرها بين ١-٥.١ سم وتحتوي ١-٣ بذور بنية اللون ناعمة (٧٩).



الشكل ٤: ثمرة الشاي الأخضر (٧٨).

الأوراق والساق و الجذر: هو نبات دائم الخضرة، شجيرة ذات تشعب كبير، و الأوراق بلون أخضر داكن لماع ومتناوبة قصيرة المعناق و بيضوية مستطيلة ومشرشرة تقريباً ، والأوراق الفتية فضية بسبب تغطيتها بأشعار ناعمة على السطح (٧٩).



الشكل ٥: أوراق الشاي الأخضر (٧٨).

يتم إنتاج الشاي الأخضر من خلال تبخير الأوراق المقطوفة حديثاً لنبات *Camellia sinensis* ثم تجفيفها (٨٠). أما الشاي الأسود فينتج عن عملية أكسدة للأوراق، بحيث تحول الأنزيمات الموجودة في الشاي (بولي فينول أوكسيداز polyphenol oxidase) الركائز العلاجية البولي فينولية إلى مركبات أقل فعالية (٧٩) لتؤدي إلى إنتاج أصبغة thearubigins و theaflavins البرتقالية والحمراء التي تساهم بطعم الشاي الأسود وتعطيه اللون الأحمر (٨١).

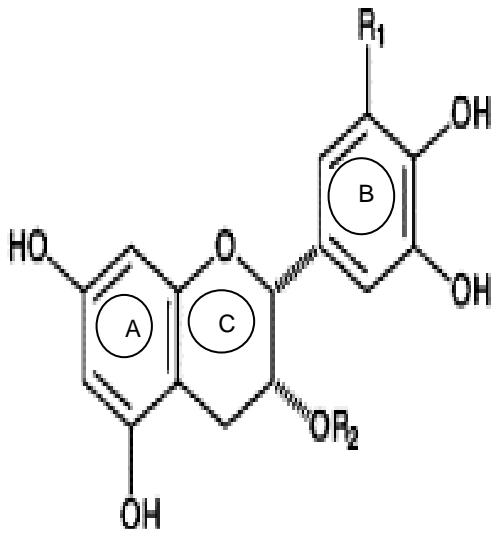
لذلك فإن البولي فينول المضاد للأكسدة الأساسي في الشاي الأسود هو theaflavins. و الفعالية المضادة للأكسدة للشاي الأخضر أكبر بـ ٦ مرات من الشاي الأسود (٨٢).

- مكونات الشاي الأخضر الكيميائية :

يحتوي الشاي الأخضر على ما يقارب ٤٠٠٠ مركب فعال حيويًا ينتمي ثلثها إلى البولي فينولات polyphenols وهي مجموعة كبيرة من المواد الكيميائية النباتية معظمها عبارة عن الفلافونويدات flavonoids (٧٨). و الفلافونويدات الأساسية الموجودة في الشاي الأخضر هي الكاتشينات (٧٧)، والتي يعتقد بأنها المسؤولة عن الفوائد الصحية للشاي الأخضر (٧٨). تشمل الكاتشينات الأساسية المتواجدة في الشاي الأخضر:

(EGC) Epigallo و (EC) epicatechin و ECG (epicatechin gallate) و catechin و (EGCG) Epigallo catechin gallate (٧٨).

تشكل البولي فينولات حوالي ٢٦% من وزن الخلاصة الجافة الصلبة والتي يكون ١١% منها عبارة عن EGCG وهو المركب الأول المسؤول عن التأثيرات الدوائية للشاي الأخضر (٨٠). تعتبر الكاتشينات مضادات أكسدة قوية تعمل على كس الجذور الحرة ويعود هذا التأثير إلى مجموعات الهيدروكسيل الموجودة في بنيتها الكيميائية والتي تقوم بتعديل الجذور الحرة (٨٣). كما تعمل على تثبيط الخلايا السرطانية دون أن تؤثر على الأنسجة الطبيعية، ولها دور في إنقاص مستويات الكوليسترول LDL ، و تثبيط تشكيل الجلطات الدموية clots ، و إنقاص تكس الصفائح ، و تنظيم الشحوم (٧٧). كذلك تملك تأثيرات مضادة للميكروبات (٨٣)، ومضادة للالتهاب (٨٠).

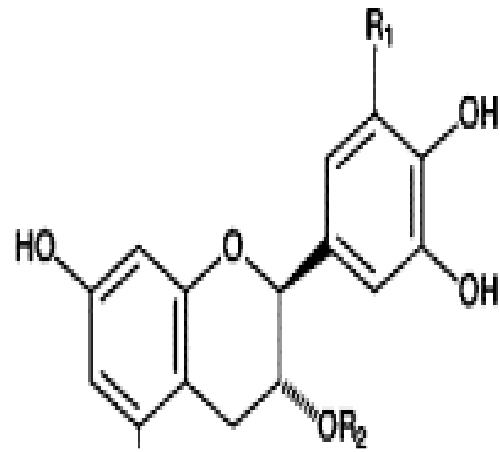


(-)- Epigallocatechin 3-O gallate((-) – EGCg): $R_1 = OH, R_2 = G$

(-)- Epigallocatechin((-) - EGC): $R_1 = OH, R_2 = H$

(-)- Epicatechin 3- O- gallate ((-) - ECg) : $R_1 = H, R_2 = G$

(-)- Epicatechin ((-) – EC): $R_1 = R_2 = H$

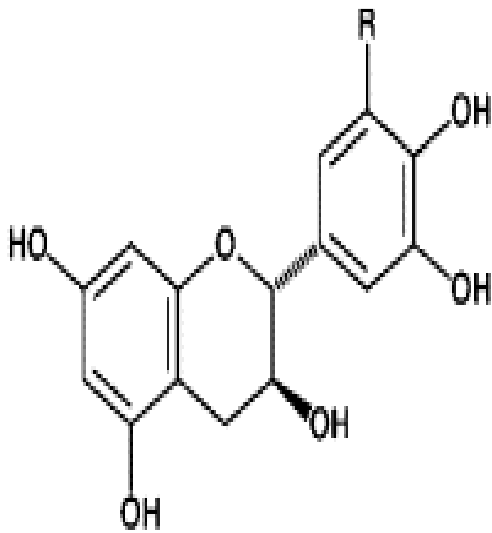


(-)- Gallocatechin 3- O- gallate ((-) - GCg): $R_1 = OH, R_2 = G$

(-)- Gallocatechin ((-) – GC): $R_1 = OH, R_2 = H$

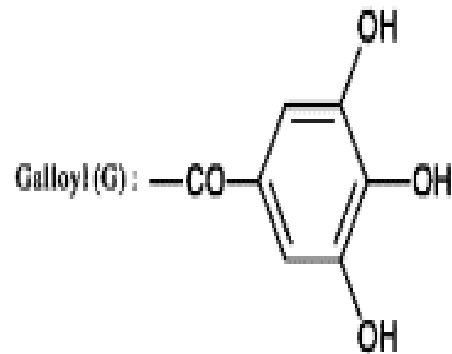
(-)- Catechin 3-O gallate ((-) - Cg): $R_1 = H, R_2 = G$

(-)- Catechin ((-) – C): $R_1 = R_2 = H$

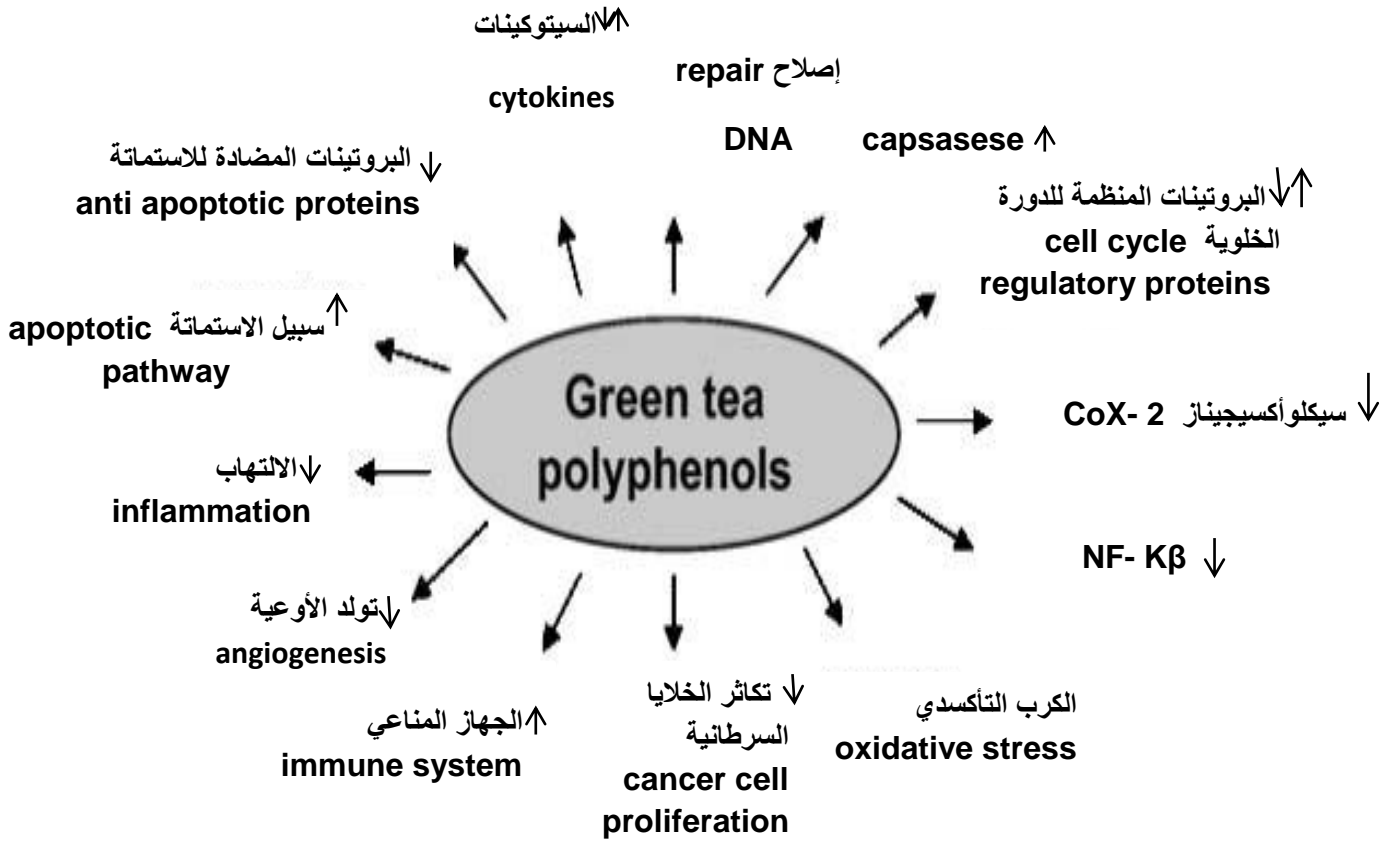


(+) – Catechin ((+) – C): $R = H$

(+) – Gallocatechin ((+) – GC): $R = OH$



الشكل ٦: البنية الكيميائية للكاتشينات (٨٠).



الشكل ٧: تأثيرات البوليفينولات (٧٧).

كما يحتوي الشاي الأخضر على التانينات tannins وهي جزيئات بولي فينولية كبيرة تشكل كتلة المركبات الفعالة في الشاي الأخضر (٨٠).

و قلوانيات البورين Purine alkaloids و تشمل: الكافئين caffeine ونسبته ٣-٦% .

و Theobromine %٠.٢-٠.١٥ و Theophylline %٠.٠٤-٠.٠٢ .

إضافة إلى صابونينات الثيربين (theafoliasaponins) ، و تشمل: الأجزاء اللاسكورية aglycones و baringtogenol C و RI-barringenol (٧٩) .

ومشتقات Caffeic acid وتشمل: chlorogenic acid و theogallin .

و الأيونات غير العضوية Anorganic: محتوى عالي من الفلوريد fluoride (١٣٠-١٦٠ ملغ/ كغ) و أيونات البوتاسيوم والألمنيوم.

وزيت طيار volatile oil: يتألف بشكل أساسي من linalool. كما يحتوي على أكثر من ٣٠٠ مركب طيار (٧٩).

ويبين الجدول التالي نسبة المركبات الكيميائية في أوراق الشاي الأخضر: (٧٧)

Polyphenols	37.0%
Carbohydrates	25.0%
Caffeine	3.5%
Protein	15.0%
Aminoacids	4.0%
Lignin	6.5%
Organic acids	1.5%
Lipids	2.0%
Ash	5.0%
Chlorophyll	0.5%

- تأثيرات الشاي الأخضر :

يعمل على كس الجذور الحرة من خلال إزالة جذور فوق الأكسيد و البيروكسيل peroxy والهيدروكسيل hydroxyl وتعود هذه التأثيرات المضادة للأكسدة للشاي إلى العديد من الآليات وتشمل: تشكيل روابط هيدروجينية داخل جزيئية ومنع تفاعلات الأكسدة من خلال خلب النحاس والحديد الحرّين اللذين يمكن أن يحفزا تشكيل الأنواع الأكسجينية التفاعلية (٨١). كما يعمل الشاي الأخضر على تنشيط الكريات البيضاء وإنقاص مستويات الكوليسترول البلاسمية والوقاية من تأثيرات الأشعة و يمتلك تأثيرات مضادة للتطفر antimutagenic (٨٣).
يملك الكافئين تأثيراً منبهاً مركزياً و مضاداً للاكتئاب antidepressive بألية مناهضة للأدينوزين adenosine antagonism، حيث يعتبر الكافئين مؤثراً إيجابياً في التقلص العضلي، كما يحرض إفراز العصارات المعدية وتحلل السكر glycolysis وتحلل الشحوم lipolysis. للشاي الأخضر أيضاً تأثيرات مضادة للإسهال تعود إلى مشاركة تأثير التانينات. و هناك أدلة سريرية على أن للشاي الأخضر تأثيرات وقائية من السرطان كسرطان البنكرياس والقولون والأمعاء الدقيقة و المعدة والثدي والرئة (٧٩). وتعود هذه التأثيرات إلى البولي

فينولات التي تملك تأثيراً واقياً كيميائياً chemopreventive ضد السرطان بسبب تأثيراتها المضادة للأكسدة (٨١).

وتشمل آليات الشاي الأخضر المضادة للسرطان: زيادة نشاط glucuronyltransferase الذي يمكن أن يسهل إزالة سمية مسرطنات carcinogens محددة و تثبيط الأنزيمات المتعلقة بتعزيز الورم مثل: الليبوكسيجيناز lipoxygenase و السيكلوجيناز cyclooxygenase و أورينتين دي كاربوكسيلاز ornithine decarboxylase و بروتين كيناز protein kinase C و 5α steroid reductase isoenzymes (٨١).

يتوفر الشاي الأخضر كغسول فموي لدوره في تثبيط نمو الجراثيم المترافقة مع الحفرة السنية مثل العقدية الطافرة Streptococcus mutans والعقدية اللعابية Streptococcus salivarius والايشريكية القولونية E.coli . كما يستخدم من أجل الاضطرابات المعدية والشقيقة وأعراض التعب و الإقياء والاسهال عندما يتم تناوله كشراب و يمكن أن يستخدم من أجل زيادة الأداء performance (٧٩) .

- طراز التطبيق والأشكال الصيدلانية:

يطبق الشاي الأخضر بالتسريب infusion أو عن طريق الكبسولات للاستعمال الداخلي.

❖ يتواجد الشاي الأخضر بشكل كبسولات ١٠٠ ملغ و ١٥٠ ملغ و ١٧٥ ملغ و ٣٣٣ ملغ و ٣٨٣ ملغ و ٥٠٠ ملغ.

❖ أقراص ١٠٠ ملغ

❖ أكياس الشاي الترشيحية Filter tea bags تتواجد تجارياً وتحتوي ١.٨-٢.٢ ملغ شاي

❖ خلاصة جافة و يتم الحصول عليها باستخدام الاستخلاص البخاري متبوعاً بالتجفيف (٧٩).

تستخدم خلاصات الشاي الأخضر التجارية حالياً والتي تحتوي مستويات مختلفة من المركبات البوليفينولية كمركبات غذائية أو كمستحضرات تجميلية. حيث يتم الحصول على خلاصة الشاي الأخضر من الأجزاء الساخنة المنحلة بالماء من الأوراق غير المختمرة وتملك فعالية أعلى في كنس الجذور الحرة مقارنة بالفيتامينات C و E (٨٣).

- التحذيرات والتأثيرات الضائرة:

لا توجد خطورة صحية نتيجة التطبيق المناسب للجرعات العلاجية الموصوفة . يمكن ملاحظة التأثيرات الجانبية للشاي عند الأشخاص الذين يعانون من معدة حساسة و تحدث بشكل رئيسي نتيجة وجود chlorogenic acid والتانين . يسبب الاستهلاك الشديد للشاي: فرط الحموضة hyperacidity والتهيج المعدي وتناقص الشهية إضافة إلى الإمساك المعند . يمكن تجنب هذه الآثار الجانبية بشكل عام بإضافة الحليب (الذي يعمل على إرجاع chlorogenic acid و التانينات الأخرى) . يجب توخي الحذر عند المرضى الذين يعانون من أمراض كلوية وفرط الوظيفة الدرقية thyroid hyperfunction واضطرابات نفسية محددة psychic disorders مثل حالات القلق anxiety والاستعداد للتشنج . يمكن أن تحدث أعراض غير نوعية نتيجة تناول أكثر من ١.٥ غ من الكافئين مثل التملل restlessness و الهيجية irritability والأرق sleeplessness والخفقان palpitation والدوار vertigo و الإقياء وفقدان الشهية والصداع. العلامات الأولية للتسمم: هي الإقياء والتشنج البطني. أما التسممات المميتة Fatal لا يمكن أن تظهر مع شراب الشاي (٧٩).

ميثيل سلفونيل ميثان (MSM)methylsulfonylmethane

ميثيل سلفونيل ميثان أو كما يعرف بـ (DMS) dimethyl sulfone أو methyl sulfone (٨٤).

صيغته $(CH_3)_2SO_2$ (٨٥). وزنه الجزيئي ٩٤ (٨٦).

هو عبارة عن مادة بلورية بيضاء عديمة الرائحة ذات طعم مر خفيف.

يتواجد MSM بشكل طبيعي و يتركب من مجموعات الأوكسجين و الميثيل والكبريت الذي يشكل نسبة ٣٤% من محتواه (٨٧). وبالتالي فهو مصدر هام للكبريت الذي يدخل في تركيب العديد من الحموض الأمينية مثل الميثيونين و السيستئين و السيستين cysteine و الهوموسيسنتين homocysteine و الهوموسيسنتين homocystine و الثورين (٨٨). يعرف MSM بخواصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب (٨٩)، حيث يلعب دوراً في تخليق الغلوتاتيون أحد أهم مضادات الأكسدة الداخلة خلوية (٩٠).

يتشكل MSM بوجود الأوزون و الضوء فوق البنفسجي عالي الطاقة جنباً إلى جنب مع ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) بدءاً من ثنائي ميثيل سلفيد dimethyl sulfide الذي يدخل الغلاف الجوي ليعود إلى الأرض مع المطر إلى الجهاز الجذري للنباتات (٨٧). أما تجارياً فيتم تخليق MSM من خلال تفاعل DMSO مع بيروكسيد الهيدروجين hydrogen peroxide لينتج عنها MSM والماء (٩١). وقد أظهرت عدة دراسات تواجد MSM في السائل الدماغي النخاعي cerebrospinal البشري، وفي البلازما plasma بتراكيز ٠ - ٢٥ $\mu\text{mol/l}$ (٩١). كما يتواجد MSM في العديد من الأغذية مثال الفواكه والخضراوات و الحبوب والعديد من المشروبات ويعتبر مركب قليل السمية (٩٢).

- الاستعمال:

تعود الفوائد المتعلقة بالصحة إلى الكبريت بشكل عام وإلى MSM بشكل خاص ، و تتراوح بين تحسين الوظائف الجسمية إلى تراجع هام في خطر الإصابة بالسرطان ، و يفترض أن تعود آليات MSM إلى خصائصه المضادة للالتهاب و المضادة للأكسدة (٨٧). غالباً ما يتواجد MSM بشكل متممات غذائية بالمشاركة مع الجلوكوزامين وسلفات الكوندريوتين chondroitin sulfate التي تستخدم بشكل شائع لمعالجة الألم المفصلي والروماتيزمي (٩١)، و التهاب المفاصل (٨٩). يمتلك MSM خصائصاً وقائية كيميائية chemopreventive ومضادة للسرطان (٩٣)، ويثبط تخليق البروستاسكلين (PGI2) ، و له تأثير مضاد للتصلب العصيدي anti-atherosclerotic ، و تأثيرات صحية على

استقلاب الايكوزانويد eicosanoid وفعالية كانسنة للجذور الحرة (٩١). و بسبب احتواء MSM على الكبريت فإنه يستعمل من قبل الجسم للمحافظة على الأنسجة الضامة الطبيعية (٩١)، وفي تغذية الجلد والشعر والأظافر لأن الكبريت يدخل في اصطناع السيستئين و هو حمض أميني ضروري من أجل إنتاج الكيراتين . كما يعمل MSM على تفريج الألم و الأرجية allergies (٨٦). و يمكن أن يكون فعالاً في معالجة إصابات الرياضيين واضطرابات المثانة (٩٠). كما يمتلك تأثيرات وقائية من العديد من الأمراض مثل: فرط الحموضة و الطفيليات و الآلام العضلية الهيكلية (٩٠).

- التوزع والجرعة:

أظهرت الدراسات المجراة على الجرذان أن MSM يمتص بسرعة و يتوزع بشكل جيد و يطرح بكفاءة من الجسم (٩٤). تتراوح الجرعة المنصوح بها كمتهم غذائي بين ١٠٠٠ و ٦٠٠٠ ملغ يومياً ، رغم أن بعض الأطباء ينصحون بجرعة ٢٠ غ يومياً أي ما يعادل ٣٠٠ ملغ/ كغ يومياً (٨٦) .

أثبتت دراسات السمية على MSM عند تطبيقها فمويماً على الجرذان خلال مرحلة تخلق الأعضاء وتكون الأنسجة أن ليس لها أي تأثيرات سمية بجرعة تصل إلى ١٠٠٠ ملغ/ كغ فمويماً / يومياً (٩٤).

- الآثار الجانبية:

أظهرت التجارب السابقة أن MSM هو مركب غير سام نسبياً، حيث لا يسبب أي تأثيرات ضائرة أو زيادة في معدل الوفيات (٩٥) . وأشارت دراسات أخرى أن التأثيرات الجانبية التي يسببها MSM لن تكون أكثر من تلك الناتجة عن استخدام الغفل placebo (٩٥).

حمض الخل acetic acid

حمض الخل CH_3COOH هو عبارة عن حمض عضوي أكال، رائحته حادة وله مذاق حارق.

يتواجد في الأمطار ومياه المحيطات وبتراكيز ضئيلة في بعض النباتات. له دور محوري في جميع سبل الطاقة البيولوجية. ينتج عن تخمر عصارات الخضار والفواكه وهو حمض خل ممدد يستخدم في الأطعمة والشرابات منذ القديم (٩٦).

يشمل استخدام حمض الخل إنتاج vinyl acetate و acetic anhydride و terephthalic acid . حيث تستخدم vinyl acetate للحصول على راتينات استحلابية للدهانات والمواد اللاصقة. أما acetic anhydride فيستخدم في صناعة ألياف الخلات السيللوزية والبلاستيك السيللوزي. يعتبر حمض الخل الثلجي glacial مركباً خطيراً ، لكن لم يتم تحديد جرته السامة للبشر حتى الآن (٩٦). استخدم حمض الخل سابقاً كعامل دوائي وكان يعرف كصا د حيوي.

كان يحضر من تخمر السكر إلى الكحول الايتيلي الذي تتم أكسدته إلى حمض الخل بواسطة العضويات الدقيقة (٩٧). و يتم إنتاج حمض الخل صناعياً باستخدام طريقة $\text{methanol carbonylation}$ وتدعى بطريقة Monsanto والتي يتم فيها استخدام الميثانول و carbon monoxide ، أو من خلال أكسدة acetaldehyde ، أو من الأكسدة المباشرة لـ hydrocarbon مثال البوتان (٩٨) .

هدف البحث aim of study

التحري عن الفعل المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب لكل من خلاصة الشاي الأخضر ومادة MSM والمشاركة بينهما في الوقاية من التهاب القولون التقرحي المحدث تجريبياً عند الجرذان باستخدام حمض الخل ٥%.

الدراسة العملية

المواد والطرائق **Materials and Methods**:

١- المواد

١-١- حيوانات التجربة:

أجريت الدراسة في كلية الصيدلة- جامعة دمشق على جرذان ذكور بالغين من نوع Wistar تزن بين ٢٢٠-٢٥٠ غ تم ايوؤها في الغرفة في دورة ضوء/ ظلام بدرجة حرارة ٢٥ درجة سيسليسيوس.

١-٢- المواد المستخدمة:

استخدمت في دراستنا المواد التالية:

- * خلاصة الشاي الأخضر: وهو عبارة عن خلاصة جافة من شركة سيفكو
- * ميتيل سلفونيل ميتان MSM : وهو عبارة عن مادة بلورية بيضاء من شركة سيفكو
- * حمض الخل الكثيف CH_3COOH : ٩٩-١٠٠% من شركة Merck

١-٣- العتيدات المستخدمة:

- * MPO (myeloperoxidase) kit من شركة hycultbiotech
- * Glutathione kit من شركة sigma - aldrech

١-٤- المواد المساعدة:

- ١- فورمول (CH_2O) ١٠% من شركة Syrbio
- ٢- سيروم ملحي ٠.٩% Nacl من شركة تاميكو
- ٣- دي ايتيل ايتير $(C_2H_5)_2O$ من شركة Merck

٢- الأجهزة المستخدمة:

- *مقياس الطيف الضوئي في كلية الصيدلة- جامعة دمشق
- *ELISA في كلية الصيدلة - جامعة دمشق و بنك الدم
- *المنقلة في كلية الصيدلة- جامعة دمشق

٣- طرائق العمل:

٣-١- طور الحقن:

- قسمت الجرذان إلى ٥ مجموعات تحتوي كل منها ١٤ جرذاً كما يلي :
- ١- المجموعة الشاهدة الطبيعية control group: طبق لديها ١ مل سيروم ملحي داخل المستقيم بعد إعطائها ١ مل سيروم ملحي فمويًا .
 - ٢- المجموعة الشاهدة المريضة colitis: طبق لديها ١ مل حمض خل ٥% داخل المستقيم بعد إعطائها ١ مل سيروم ملحي فمويًا.
 - ٣- مجموعة MSM: طبق لديها ١ مل حمض خل ٥% داخل المستقيم بعد إعطائها MSM الذي أذيب في السيروم الملحي وطبق فمويًا باستخدام أنبوب التغذية بجرعة ٤٠٠ ملغ/كغ يومياً لمدة ٤ أيام.
 - ٤- مجموعة خلاصة الشاي الأخضر: طبق لديها ١ مل حمض خل ٥% داخل المستقيم بعد إعطائها خلاصة الشاي الأخضر التي تم حلها بالسيروم الملحي وطبقت فمويًا لمدة ١٠ أيام بجرعة ١٠٠ ملغ/كغ يومياً.
 - ٥- مجموعة مشاركة خلاصة الشاي الأخضر و MSM: طبق لديها ١ مل حمض خل ٥% بعد إعطائها ١٠٠ ملغ/كغ من خلاصة الشاي الأخضر و ٤٠٠ ملغ/كغ MSM فمويًا.

٣-٢- إحداث التهاب القولون التقرحي:

تم تعريض الجرذان للصيام طوال الليل (لمدة ١٢ ساعة) قبل إحداث المرض. في اليوم التالي، خدرت الجرذان بواسطة الايتر ثم أدخلت قنطرة مطاطية داخل المستقيم لمسافة ٨ سم ضمن الشرج وطبق ١ مل حمض خل ٥% (في ٠.٩% NaCl) داخل القولون وذلك لمدة ٤ أيام متتالية (٩٩).

ضحى بالحيوانات في اليوم الرابع بعد إحداث المرض وتم استئصال القولون القاصي لإجراء الفحوص العيانية والنسجية والمعايير الكيميائية (٤١).

قسمت عينات كل مجموعة إلى قسمين أحدهما للفحص العياني و النسجي والآخر للمعايير الكيميائية.

٣-٣- الفحص العياني macroscopic examination

تم غسل العينات باستخدام السيروم الملحي بعد استئصال القولون القاصي بطول ٨ سم وسطياً ثم فتح بواسطة القص طويلاً وتم تثبيته باستخدام الفورمول ١٠ % لمدة ٢٤ ساعة.

تم إجراء الفحص العياني بالاستناد إلى التصنيف التالي (٩٩):

٠ = لا يوجد التهاب.

١ = تورم أو احمرار.

٢ = تورم و احمرار.

٣ = قرحة أو قرحتان.

٤ = قرحتان أو أكثر أو قرحة كبيرة.

٥ = نخر متوسط.

٦ = نخر شديد.

٣-٤- الفحص النسيجي histological examination:

تم تثبيت العينات بالفورمالين ١٠% لمدة ٢٤ ساعة من أجل الفحص النسيجي.

جففت العينات عن طريق غطسها تدريجياً في تراكيز متزايدة من الايتانول، ثم الكزيلين xylene ثم في البارافين المذاب بدرجة ٦٠ °C لمدة ٣ ساعات قبل دمجها في كتلة البارافين. قطعت بعد ذلك مقاطع بسماكة ٥ ميكرون ، بعدها تم نزع البارافين من المقاطع من خلال معالجتها بالكزيلين والايثانول والماء. ثم لونت العينات بالهيماتوكسيلين- ايزون لتتم دراستها بعد ذلك باستخدام المجهر الضوئي وبدرجات متباينة من التكبير.

صنفت الآفات النسيجية المشاهدة ضمن ٥ مجموعات بدءاً من الحالة الطبيعية (لا توجد آفات مورفولوجية ملحوظة) إلى تبدلات طفيفة متمثلة بوجود رشاحة التهابية مختلطة معتدلة الشدة في الصفيحة المخصوصة إلى وجود تقرحات بؤرية سطحية لا تتجاوز الطبقة المخاطية. تميزت الآفات الأكثر شدة بوجود تقرحات عميقة تخترق جدار القولون عبر المخاطية وصولاً إلى العضلية المخاطية مع التهاب شديد أما الآفات الأشد فتظاهرت بوجود نخر شامل لجدار القولون.

تم اعتماد التصنيف التالي في الدراسة النسيجية (١٠٠):

٠ = طبيعي.

١ = ارتشاح متوسط في الصفيحة المخصوصة.

- ٢ = تقرح سطحي بؤري في المخاطية فقط.
- ٣ = تقرح عميق يخترق الجدار المعوي ضمن المخاطية حتى العضلية المخاطية والتهاب شديد.
- ٤ = نخر ضمن الجدار المعوي.

٣-٥- المعايير الكيمائية الحيوية Biochemical assays:

تم تجميد العينات النسيجية القولونية بالنتروجين السائل وحفظت بالدرجة 80°C - حتى وقت المعايرة (٢١). حيث تم قياس الغلوتاتيون و الـ MPO.

٣-٥-١- قياس مستويات الغلوتاتيون glutathione:

تتألف العتيدة kit ممايلي (١٠١، ١٠٢):

Assay Buffer 5x for Glutathione 30 ml

Glutathione Reductase 20 units

Glutathione Reduced, Standard 0.3 mg

5- 5' -Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) [DTNB] 8 mg

5-Sulfosalicylic Acid 2.5 g

NADPH 25 mg

Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 7.5 ml

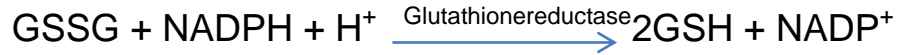
- تحضير الخلاصات النسيجية:

تم غسل العينات التي تحتوي كميات كبيرة من الدم مرتين بواسطة phosphate PBS (buffered saline). ثم التجميد في النتروجين السائل. وتم سحق النسيج في هاون مع النتروجين السائل للحصول على بودرة ناعمة. أخذ مقدار ٠.٣ غ من البودرة وتم إضافة ٣ حجوم من ٥% 5- sulfosalicylic acid (٠.٩ مل). ثم أضيفت ٧ حجوم أخرى من ٥% SSA وبعدها تم مجانسة العينة في أنبوب زجاجي حتى تشكل المعلق. ترك المعلق بالدرجة $2-8^{\circ}\text{C}$ لمدة ١٠ دقائق ثم نبذ $10000 \times$ لمدة ١٠ دقائق. قيس الحجم الطافي وتم استخدامه كعينة أصلية لحساب تراكيز الغلوتاتيون وتم حفظها بالدرجة $2-8^{\circ}\text{C}$.

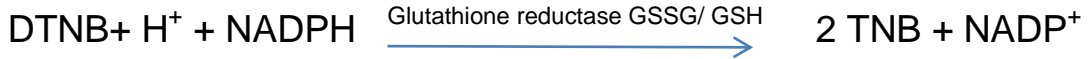
- المعايرة :

تم في البداية نزع البروتينات من العينات بواسطة محلول 5% sulfosalicylic acid ، ثم تنبيذها لإزالة البروتينات المترسبة لمعايرة الغلوتاتيون بعد ذلك. قيس GSH باستعمال معايرة حركية تسبب فيها كميات تحفيزية (نانومولات) من الغلوتاتيون إرجاع مستمر لـ DTNB إلى 5-thio- 2-nitrobenzoic acid (TNB) ومعالجة GSSG المتشكل بواسطة glutathione reductase و NADPH. حيث يتناسب معدل التفاعل مع تركيز من الغلوتاتيون يصل إلى 2 mM. قيس المنتج الأصفر TNB بمقياس الطيف الضوئي بطول موجة 412 nM واستخدم المنحني المعياري للغلوتاتيون المرجع لتحديد كمية الغلوتاتيون في العينة البيولوجية. حيث تم تحضير محاليل معيارية من الغلوتاتيون عن طريق سلسلة تمديدات باستخدام mM50 من محلول الغلوتاتيون.

وعبر عن ذلك بالمعادلات التالية:



التفاعل المشترك :



٣-٥-٢- قياس فعالية (myeloperoxidase) MPO:

تمت معايرة MPO في المخاطية القولونية اعتماداً على طريقة Roelofs (١٠٣). وذلك باستخدام rat MPO ELISA kit بالاستناد على مبدأ sandwich مع مدة عمل تصل إلى ٣ ساعات ونصف.

تحتوي العتيدة kit على المحاليل التالية:

Wash buffer 20x

Dilution buffer A 10x

Dilution buffer B 10x

Standard

Tracer, biotinylated

Streptavidin-peroxidase

TMB substrate

Stop solution

Microtiter strips, pre-coated

Certificate of Analysis

Manual

Data collection sheet

- تم في البداية حل العينات النسيجية بوضعها في الثلج مع وقاء lysis الذي يحتوي على:

+ 10% Glycerine + 10 mM Tris + 5 mM EDTA + 200 mM NaCl

28 µg/ml aprotinin + 1 µg/ml leupeptin + 1 mM PMSF

في درجة Ph 7.4 .

أضيف 200 µl من الوقاء إلى 10 ملغ من النسيج قبل المجانسة ، ومن ثم تمت المجانسة بوجود الثلج مرتين (1500 xg) بدرجة 4 °C لمدة 15 دقيقة. ومن ثم تم حفظ العينات ضمن أنابيب polypropylene في درجة - 70 °C .

- تحضير الدارئات :buffers:

١- Wash buffer:

تم تحضيره بمزج 40 مل من 20x wash buffer مع 760 ml من الماء منزوع الشوارد.

٢- Dilution buffer:

تم تحضيره بمزج 10 ml من 10x dilution buffer A مع 40 ml من الماء منزوع الشوارد و 10 ml من 10x dilution buffer B مع 40 ml من الماء منزوع الشوارد ومن ثم إضافة المحلولين إلى بعضهما بالتساوي و المزج بشكل جيد.

٣- Standard solution:

تم تحضيره بإضافة 1 ml من الماء منزوع الشوارد إلى محلول العياري standard solution ومن ثم حضرت السلسلة العياريّة خلال سلسلة تمديدات للعياري بواسطة dilution buffer.

٤- Tracer solution:

تم إضافة 1 ml من الماء منزوع الشوارد إلى محلول tracer.

٥- Streptavidin-peroxidase solution :

تم تحضيره بإضافة ١ مل من الماء منزوع الشوارد إلى محلول Streptavidin-peroxidase ومن ثم مدد المحلول الناتج بواسطة ٢٣ مل من محلول التمديد dilution.

- المعايرة:
- أضيف ١٠٠ μ l بشكل مضاعف من المعياري والعينات إلى الحجر المناسبة مع أخذ الحذر بعدم ملامسة جوانب أو أسفل الحجرة.
- تم تغطية الصفيحة والنقر عليها للتخلص من فقاعات الهواء.
- حضن الصفيحة لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.
- تم الغسل ٤ مرات باستخدام wash buffer كمايلي:
- نزع الغطاء بحذر و قلب الصفيحة و إفراغ محتواها وإضافة ٢٠٠ μ l من wash buffer لكل حجرة والانتظار لمدة ٢٠ ثانية ومن ثم إفراغ الصفيحة كما وصف سابقاً وإعادة هذه العملية ٣ مرات.
- إضافة ١٠٠ μ l من diluted tracer إلى كل حجرة وتغطية الصفيحة وحضنها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.
- إعادة عملية الغسل كما وصف سابقاً.
- إضافة ١٠٠ μ l من diluted streptavidin-peroxidase إلى كل حجرة وتغطية الصفيحة وحضنها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.
- إعادة عملية الغسل.
- إضافة ١٠٠ μ l من TMB substrate إلى كل حجرة وتغطية الصفيحة وحضنها لمدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.
- إيقاف التفاعل بإضافة ١٠٠ μ l من stop solution.
- مزج المحاليل في كل حجرة بلطف والنقر للتخلص من فقاعات الهواء.
- قراءة العينات خلال ٣٠ دقيقة بعد إضافة stop solution بطول موجة 450 nm.

٤- التحليل الإحصائي statistical analysis :

تم التعبير عن النتائج كما يلي :المتوسط \pm الانحراف المعياري (Mean \pm SE) ، حيث تم تقييم الاعتداد الاحصائي باستخدام اختبار Turkeys بعد التحليل وحيد الاتجاه للتباين one-way analysis of variance (ANOVA) للتعبير عن المستويات النسيجية لكل من MPO والغلوتاتيون.

تم التعبير عن الآفات والنتائج النسيجية كمتوسطات وقورنت باستخدام Krustal–Wallis

nonparametric ANOVA متبوعاً باختبار Dunn's للمقارنة المتعددة Dunn's multiple comparison test. واعتبرت الاختلافات بقيمة P أقل من ٠.٠٠١ معتد بها إحصائياً.

النتائج results

أدى تطبيق حمض الخل داخل المستقيم إلى ظهور علامات سريرية و عيانية و نسيجية لالتهاب القولون، حيث أظهر الفحص العياني لمخاطية القولون وجود وذمة و نزوف و قرحات و نخر مقارنة بالمجموعة الطبيعية. أما الفحص النسيجي للعينات المأخوذة من المجموعة المريضة فقد أظهر وجود ارتشاح في الصفيحة المخصوصة و تقرحات عميقة تخترق جدار القولون ضمن المخاطية للوصول إلى الطبقة العضلية المخاطية مع ملاحظة وجود حالات نخر ضمن الجدار المعوي مقارنة بالمجموعة الطبيعية.

١- نتائج الفحص العياني macroscopic results:

الجدول ١. يبين نتائج التصنيف العياني

عدد الجرذان في كل مجموعة					التصنيف العياني
مجموعة المشاركة	النشاي الأخضر	MSM	مريضة	طبيعية	
٠	٠	٠	٠	٧	٠
٠	٠	٤	٠	٠	١
٧	٦	٣	٠	٠	٢
٠	١	٠	٠	٠	٣
٠	٠	٠	٠	٠	٤
٠	٠	٠	٦	٠	٥
٠	٠	٠	١	٠	٦

١-١- المجموعة الطبيعية الشاهدة :

إن ٧ جرذان من أصل ٧ من المجموعة الطبيعية انتمت إلى التصنيف ٠ أي أن نسبة ١٠٠% من الجرذان من المجموعة الطبيعية لم تبد أي التهاب.

١-٢- المجموعة المريضة الشاهدة :

أما فيما يتعلق بالمجموعة المريضة فإن ٦ جرذان من أصل ٧ انتمت إلى التصنيف ٥ (٨٥.٧%) حيث أبدت نخرًا متوسطاً ، و جرذ واحد إلى التصنيف ٦ (١٤.٣%) الذي أظهر نخرًا شديداً.

ولوحظ وجود فرق جوهري بالمقارنة مع المجموعة الطبيعية.

٣-١- مجموعة ميتيل سلفونيل ميتان MSM :

أظهرت المجموعة المطبق لديها MSM أن ٤ جردان من أصل ٧ جردان كانت ضمن التصنيف ١ (٥٧%) أي اقتصرت الحالة على وجود وذمة أو احمرار و الجردان الثلاثة الأخرى ضمن التصنيف ٢ (٤٣%) التي أظهرت وذمة و احمراراً معاً. ولوحظ وجود فرق جوهري بالمقارنة مع المجموعة المريضة.

٤-١- مجموعة الشاي الأخضر:

توزعت بين ٦ جردان ضمن التصنيف ٢ و جرد واحد ضمن التصنيف ٣ أي بنسبة ٨٥.٧% ضمن التصنيف ٢ الذي دل على وجود وذمة و احمرار عند هذه الجردان و ١٤.٣% ضمن التصنيف ٣ حيث ظهرت قرحة أو قرحتان. ولوحظ وجود فرق جوهري بالمقارنة مع المجموعة المريضة.

٥-١- مجموعة المشاركة:

أظهرت أن الجردان السبعة كانت ضمن التصنيف العياني ٢ أي ١٠٠% من الجردان اقتصرت على وجود وذمة و احمرار. ولوحظ وجود فرق جوهري بالمقارنة مع المجموعة المريضة.

وفيمايلي أمثلة عن التصنيفات العيانية المعتمدة:



الشكل ٨. يمثل التصنيف العياني ٠ (المجموعة الطبيعية).



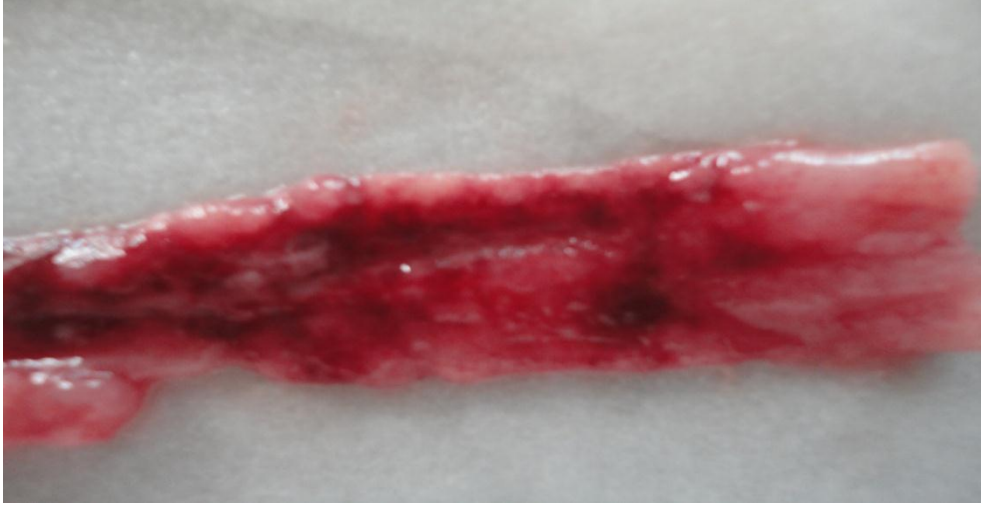
الشكل ٩. يمثل التصنيف العياني ١ (مجموعة MSM)



الشكل ١٠. يمثل التصنيف العياني ٢: مجموعة المشاركة المريضة.



الشكل ١١. يمثل التصنيف العياني ٢ (مجموعة خلاصة الشاي الأخضر)



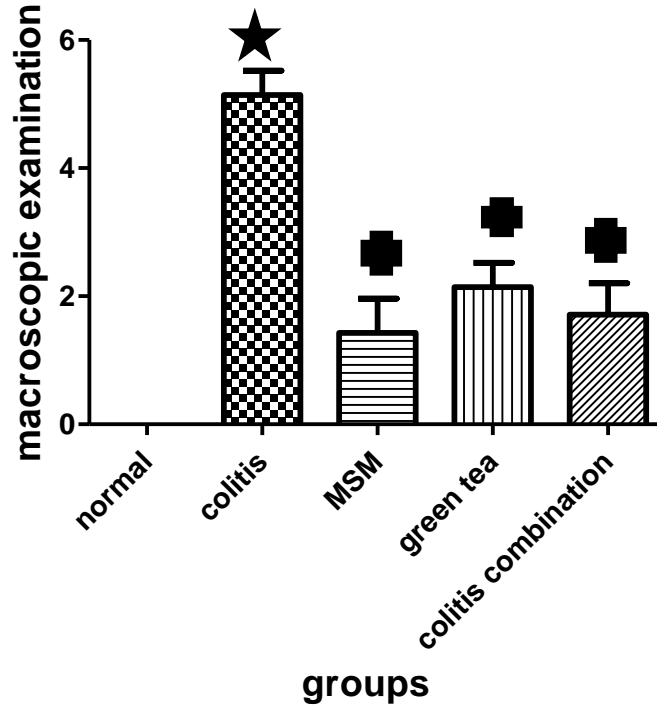
الشكل ١٢. يمثل التصنيف العياني ٣ (مجموعة الشاي الأخضر)



الشكل ١٣. يمثل التصنيف العياني ٥ (المجموعة المريضة)



الشكل ١٤ . يمثل التصنيف العياني ٦ (المجموعة المريضة)



الشكل ١٥ . يظهر تأثير كل من MSM و خلاصة الشاي الأخضر والمشاركة بينهما على العلامات العيانية المعتمدة للوقاية من التهاب القولون التقرحي في اليوم الرابع بعد تطبيق ١ مل حمض خل ٥% .

★ دليل وجود فرق جوهري بمقارنة المجموعة المريضة مع المجموعة الطبيعية اعتماداً على $P < 0.001$.

■ دليل وجود فرق جوهري بمقارنة كل من مجموعة MSM ومجموعة الشاي الأخضر ومجموعة المشاركة مع المجموعة المريضة اعتماداً على $P < 0.001$.

و بنتيجة الدراسة الإحصائية لوحظ أن استخدام MSM أدى إلى تراجع معتد به إحصائياً في العلامات العيانية مقارنة بالمجموعة المريضة، كذلك الأمر بالنسبة لمجموعة الشاي الأخضر فقد أبدت تراجعاً معتداً به إحصائياً أيضاً مقارنة بالمجموعة المريضة ، وهذا الحال بالنسبة لمجموعة المشاركة بين خلاصة الشاي الأخضر والـ MSM .

٢- نتائج الفحص النسيجي histological results

الجدول ٢ يبين نتائج التصنيف النسيجي:

عدد الجرذان في كل مجموعة					التصنيف النسيجي
مجموعة المشاركة	الشاي الأخضر	MSM	مريضة	طبيعية	
٠	٠	٠	٠	٧	٠
٥	٤	٧	٠	٠	١
٢	٣	٠	٠	٠	٢
٠	٠	٠	٦	٠	٣
٠	٠	٠	١	٠	٤

٢-١- المجموعة الطبيعية الشاهدة :

إن ٧ جرذان من أصل ٧ انتمت إلى التصنيف ٠ أي أن نسبة ١٠٠% من هذه المجموعة كانت ضمن التصنيف ٠ .

٢-٢- المجموعة المريضة الشاهدة :

أدى تطبيق حمض الخل إلى ارتشاح الكريات البيضاء إلى الصفيحة المخصصة و إحداث تقرحات عميقة في العضلية المخاطية والتهاب شديد ونخر ضمن الجدار المعوي. توزعت المجموعة بين التصنيفين ٣ و ٤ حيث كان عدد الجرذان ٦ ضمن التصنيف ٣ وجرذ واحد ضمن التصنيف ٤ أي بنسبة ٨٥.٧% ضمن التصنيف ٣ والذي يشير إلى وجود تقرح عميق يخترق الجدار المعوي ضمن المخاطية حتى العضلية المخاطية و التهاب شديد، و نسبة ١٤.٣% ضمن التصنيف ٤ والذي يشير إلى وجود نخر ضمن الجدار المعوي. ولوحظ وجود فرق جوهري بالمقارنة مع المجموعة الطبيعية.

٢-٣ - مجموعة الميتيل سلفونيل ميتان MSM :

لوحظ حدوث ارتشاح خفيف للخلايا الالتهابية ضمن المخاطية القولونية عند تطبيق MSM دون ملاحظة أي نخر أو تقرح في المخاطية، وبذلك أدت MSM إلى تراجع هام إحصائياً في شدة الالتهاب مقارنة بالمجموعة المريضة.

كانت جميع الجرذان المطبق لديها MSM ضمن التصنيف ١ أي بنسبة ١٠٠% والذي يشير إلى ارتشاح متوسط في الصفيحة المخصوصة.

٢-٤- مجموعة الشاي الأخضر:

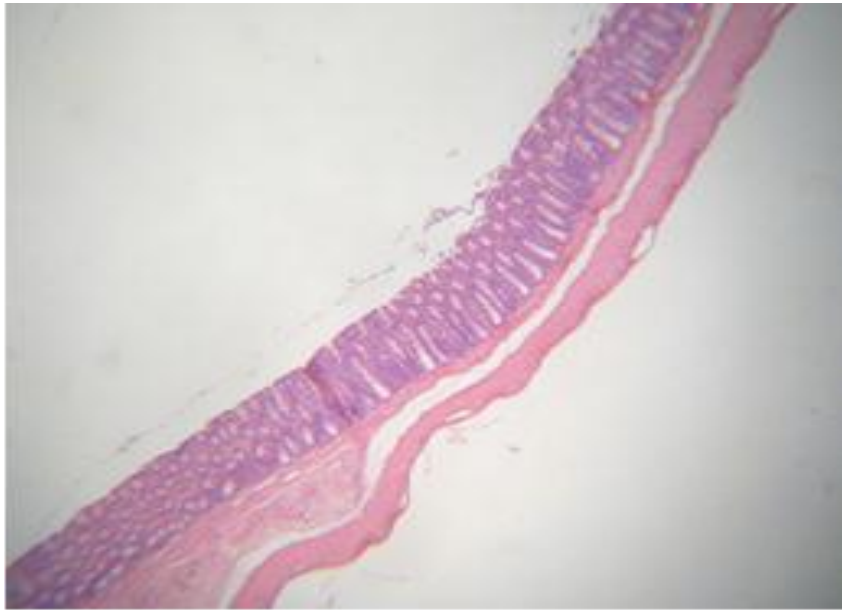
نتج عن استخدام خلاصة الشاي الأخضر تراجع معتد به إحصائياً في شدة الإصابة المعوية مقارنة بالمجموعة المريضة واقتصرت المشاهدات على ارتشاح متوسط في الصفيحة المخصوصة و تقرح سطحي بؤري في المخاطية فقط وأدت إلى إنقاص الالتهاب الشديد والتقرحات العميقة والنخر مقارنة بالمجموعة المريضة.

توزعت الجرذان بين التصنيفين النسيجين ١ و ٢ بحيث كان عدد الجرذان ٤ ضمن التصنيف ١ و ٣ جرذان ضمن التصنيف ٢ أي بنسبة ٥٧.١٤% ضمن التصنيف النسيجي ١ والذي يشير إلى ارتشاح متوسط في الصفيحة المخصوصة وبنسبة ٤٢.٨٦% ضمن التصنيف ٢ والذي يشمل تقرحاً سطحياً بؤرياً في المخاطية فقط.

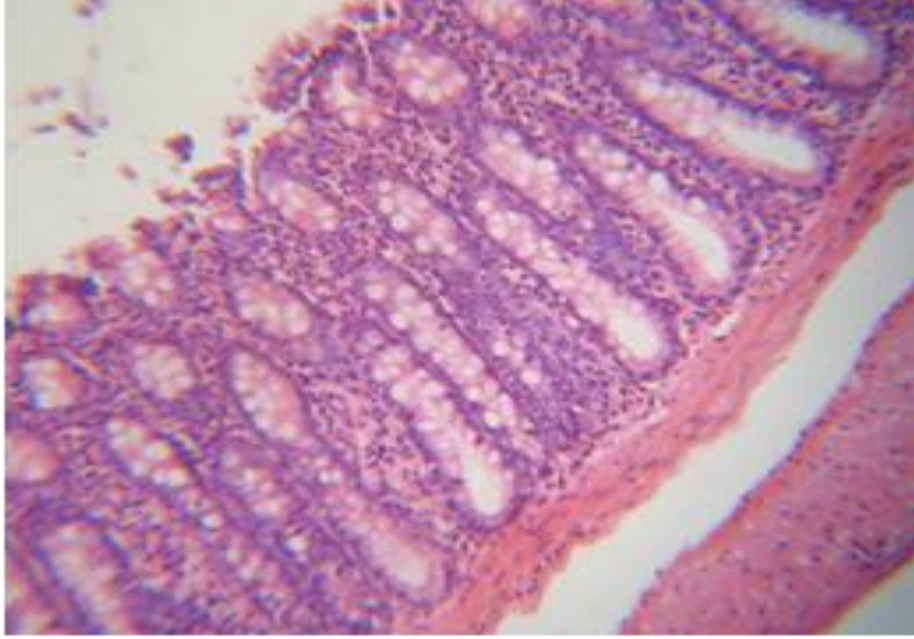
٢-٥- مجموعة المشاركة:

أدت المشاركة بين MSM وخلاصة الشاي الأخضر إلى تراجع الالتهاب الشديد مع وجود فرق جوهري مقارنة بالمجموعة المريضة.

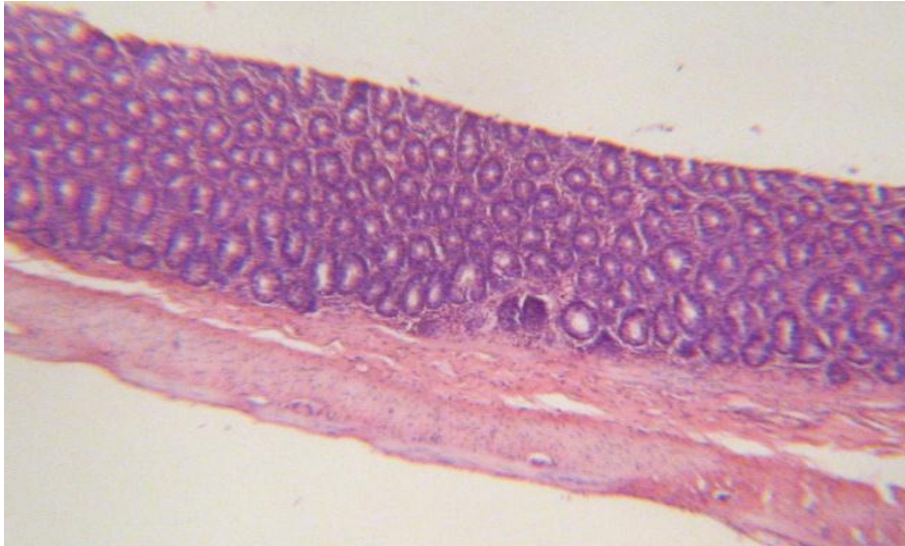
توزعت مجموعة المشاركة بين التصنيف النسيجي ١ والتصنيف النسيجي ٢ حيث كان عدد الجرذان ٥ ضمن التصنيف ١ وجردين ضمن التصنيف ٢ أي بنسبة ٧١.٤% ضمن التصنيف ١ ونسبة ٢٨.٦% ضمن التصنيف ٢ الذي يشير إلى وجود تقرح بؤري في المخاطية فقط.



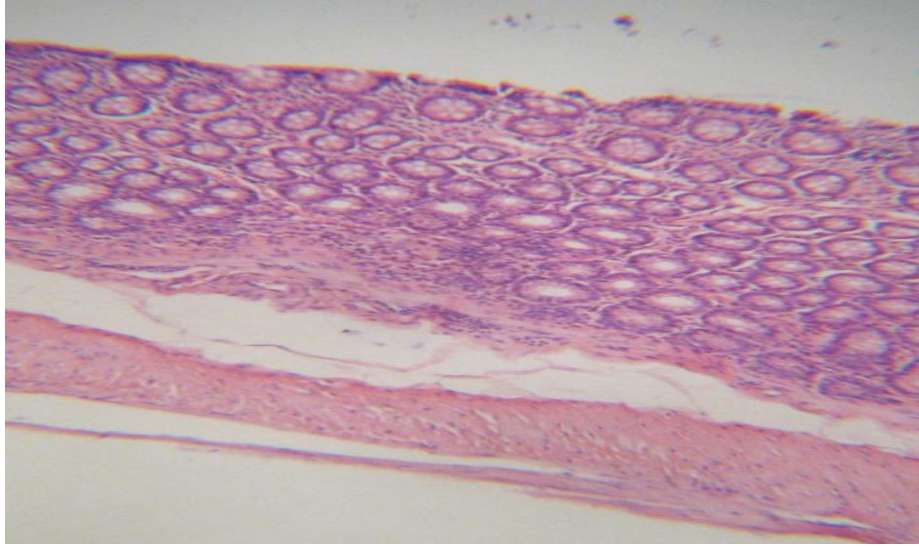
الشكل ١٦. جدار قولوني طبيعي بتكبير ٥ ، مثال عن التصنيف النسيجي = ٠ (المجموعة الطبيعية)



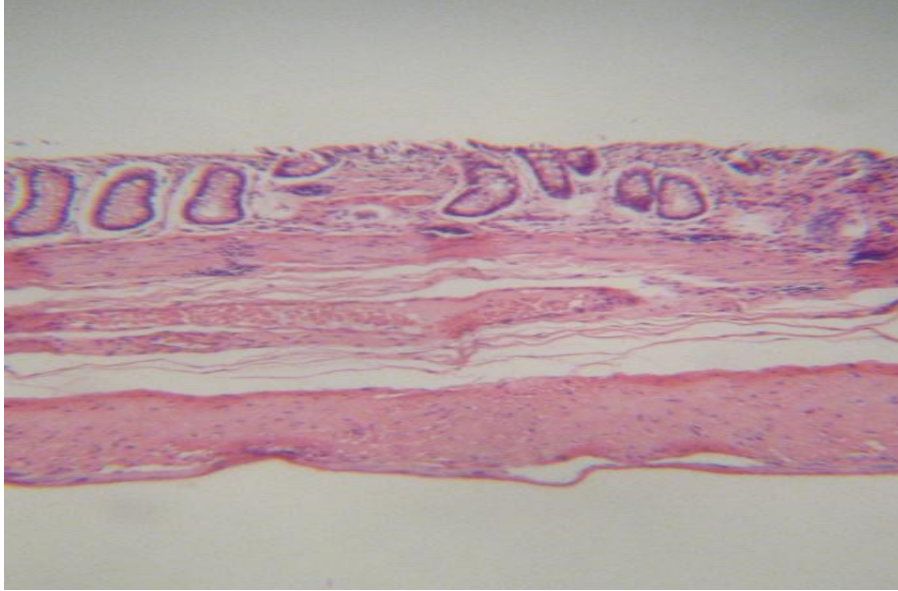
الشكل ١٧. جدار قولوني طبيعي بتكبير ٢٠، مثال عن التصنيف النسيجي = ٠ (المجموعة الطبيعية)



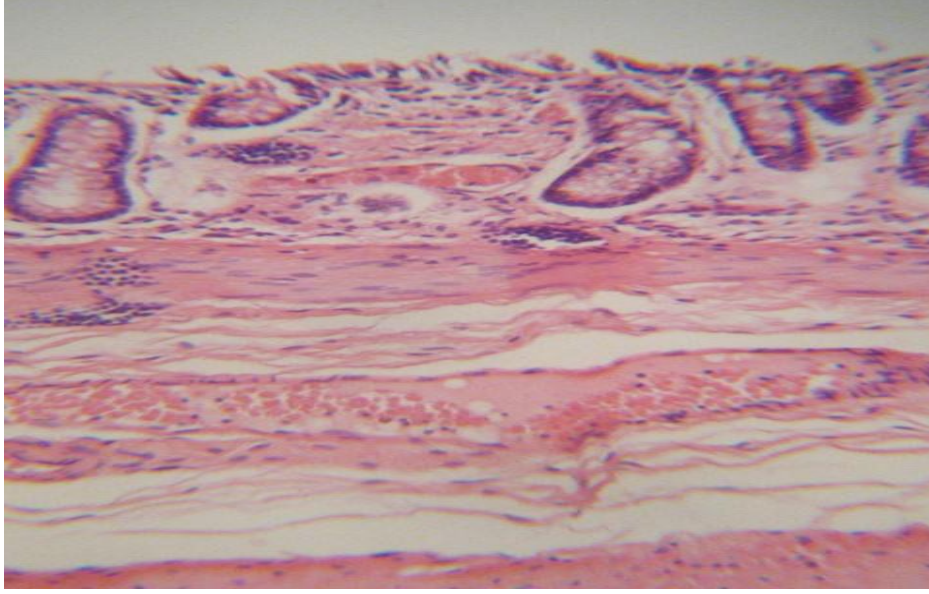
الشكل ١٨. جدار قولوني طبيعي بدرجة تكبير ١٠. مثال عن التصنيف النسيجي = ٠ (المجموعة الطبيعية).



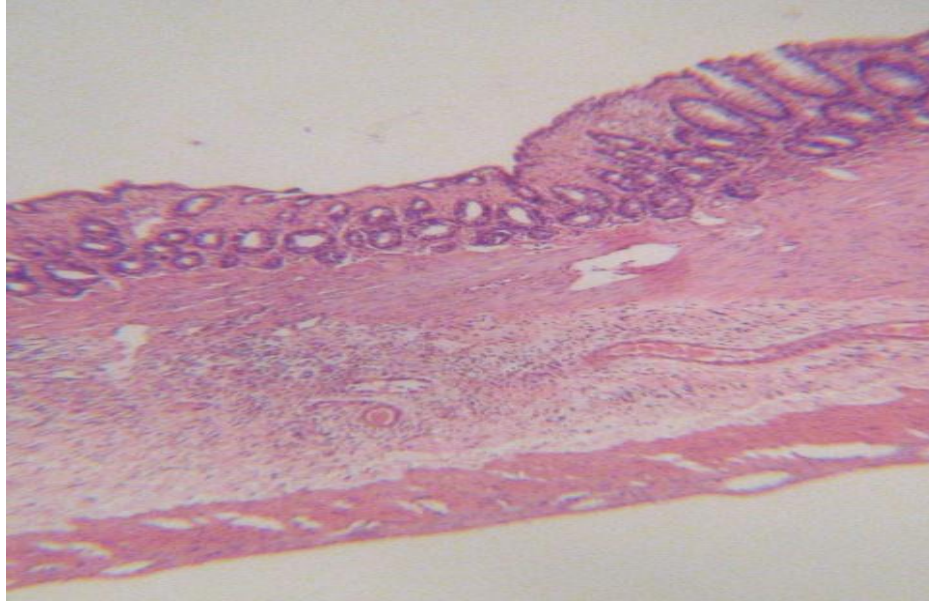
الشكل ١٩. جدار قولوني طبيعي بدرجة تكبير ٢٠. مثال عن التصنيف النسيجي ٠ (المجموعة الطبيعية).



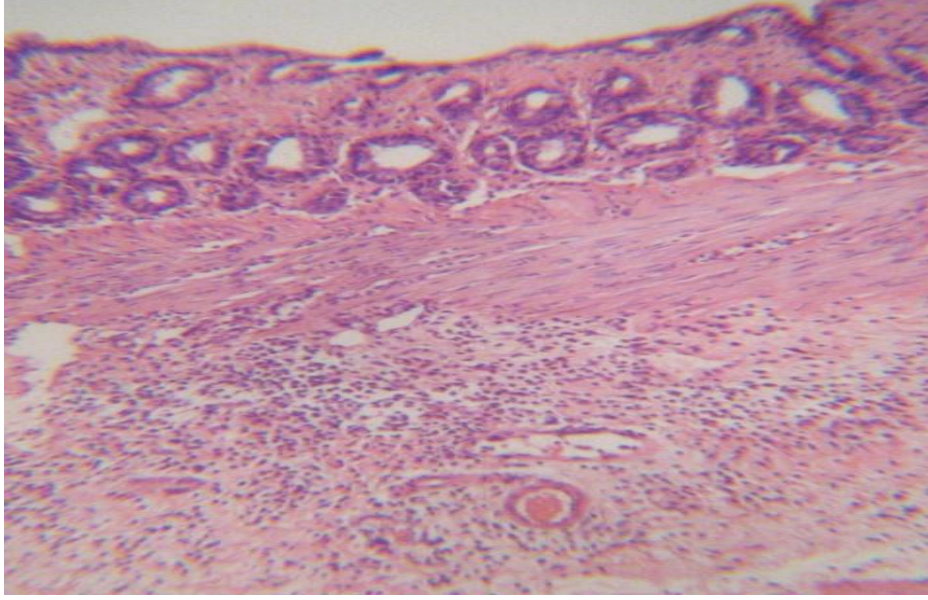
الشكل ٢٠. ارتشاح خفيف في الصفحة المخصصة دون وجود تقرح باستخدام التكبير ٥. مثال عن التصنيف النسيجي (مجموعة MSM).



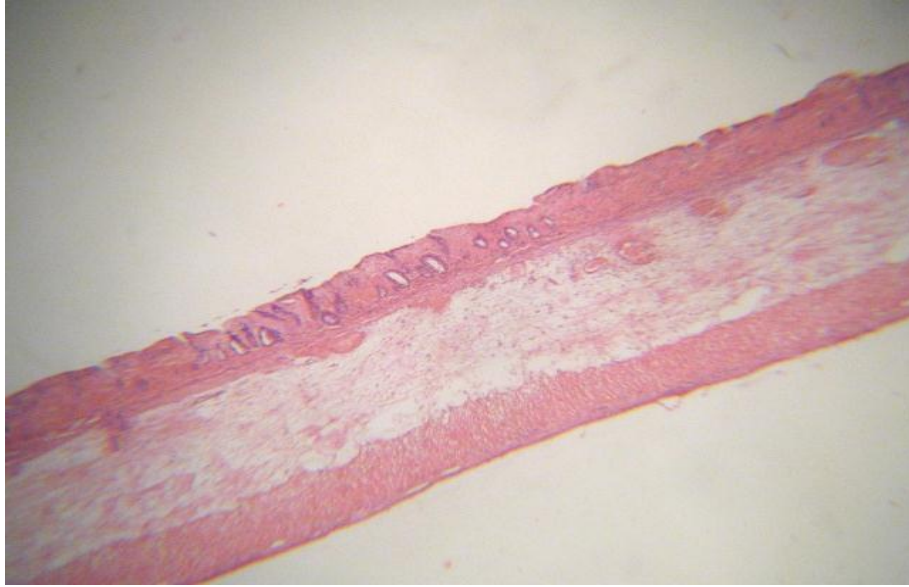
الشكل ٢١. ارتشاح خفيف في الصفيحة المخصوصة دون وجود تقرح باستخدام التكبير ١٠. مثال عن التصنيف النسيجي ١ (مجموعة MSM).



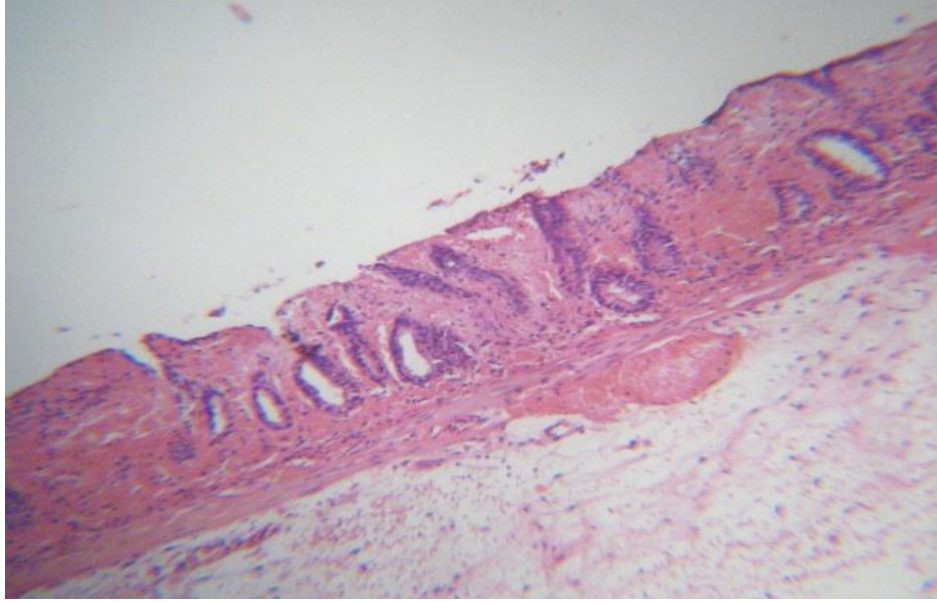
الشكل ٢٢. ارتشاح خفيف في الصفيحة المخصوصة دون وجود تقرح بدرجة تكبير ١٠. مثال عن التصنيف النسيجي ١ (مجموعة حمض الخل + مشاركة MSM و خلاصة الشاي الأخضر).



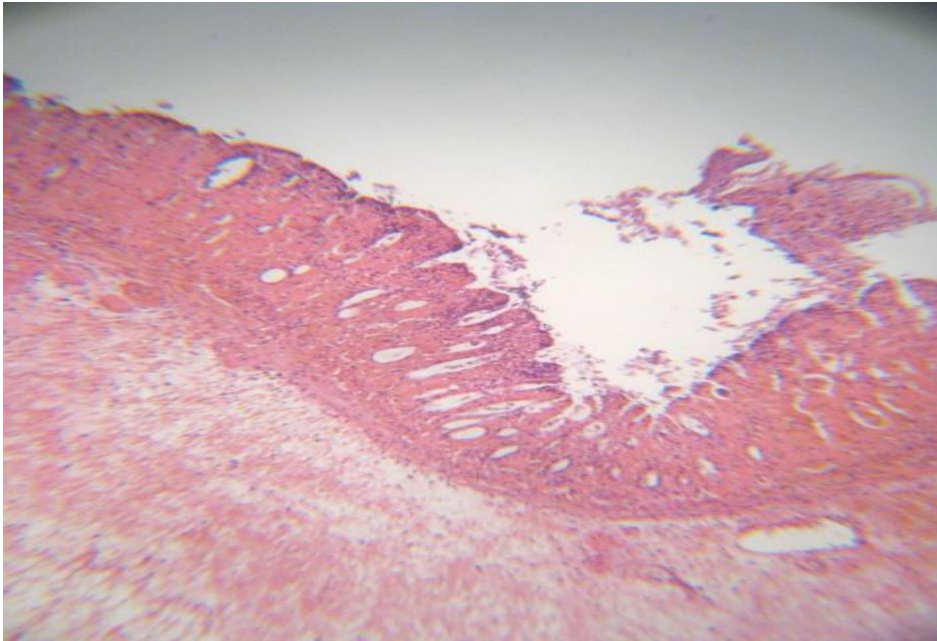
الشكل ٢٣. ارتشاح خفيف في الصفيحة المخصوصة دون وجود تقرح بدرجة تكبير ٢٠. مثال عن التصنيف النسيجي ١ (مجموعة حمض الخل + مشاركة MSM و خلاصة الشاي الأخضر).



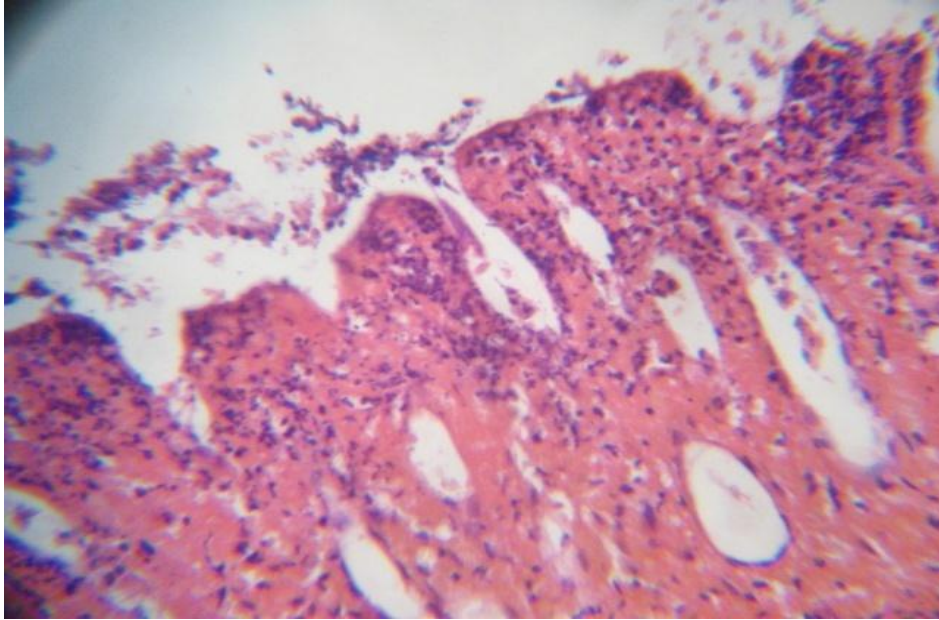
الشكل ٢٤. ارتشاح خفيف في الصفيحة المخصوصة دون وجود تقرح مع وجود نزيف ضمن الجدار المعوي بدرجة تكبير ٥. مثال عن التصنيف النسيجي ١ (مجموعة حمض الخل + مشاركة MSM و خلاصة الشاي الأخضر).



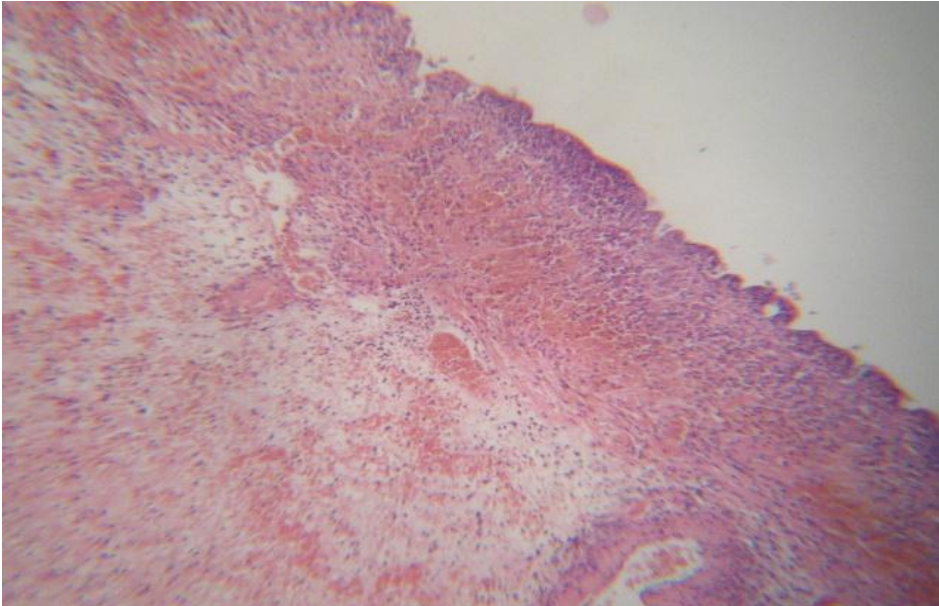
الشكل ٢٥. ارتشاح خفيف في الصفيحة المخصوصة دون وجود تقرح بدرجة تكبير ١٠. مثال عن التصنيف النسيجي ١ (مجموعة حمض الخل + مشاركة MSM و خلاصة الشاي الأخضر).



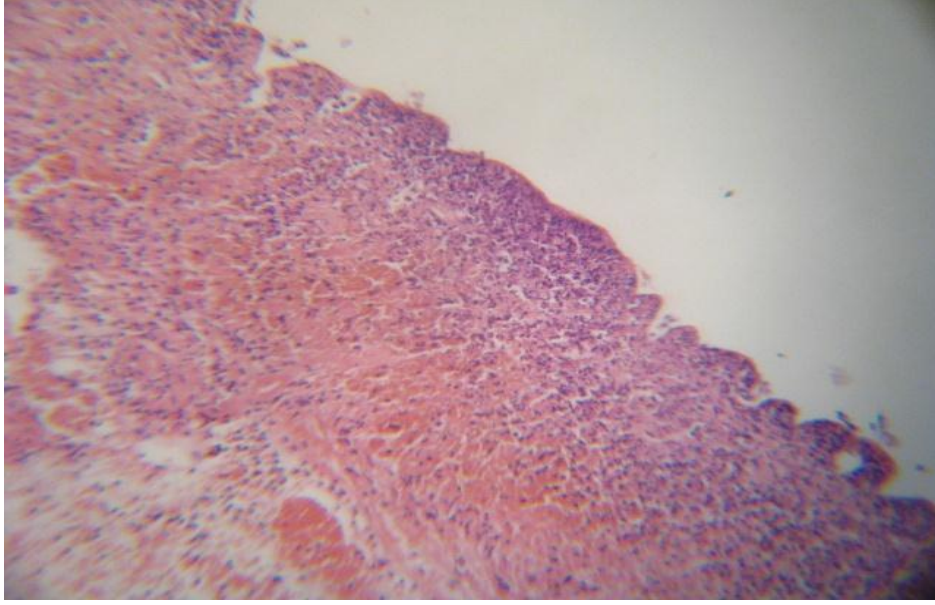
الشكل ٢٦. تقرح سطحي بؤري في المخاطية فقط بدرجة تكبير ١٠. مثال عن التصنيف ٢ (مجموعة الشاي الأخضر).



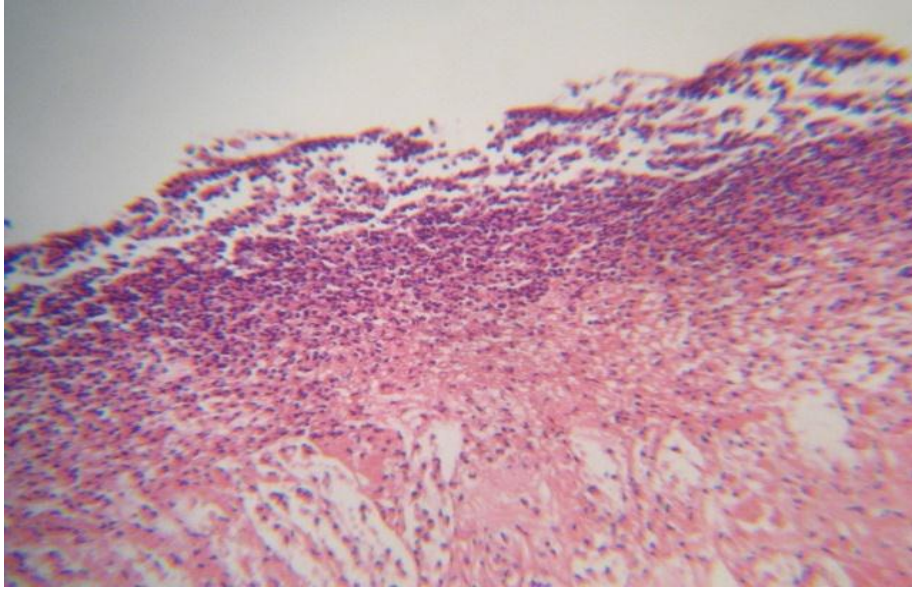
الشكل ٢٧. تقرح سطحي بؤري في المخاطية فقط بدرجة تكبير ٢٠. مثال عن التصنيف ٢ (مجموعة الشاي الأخضر).



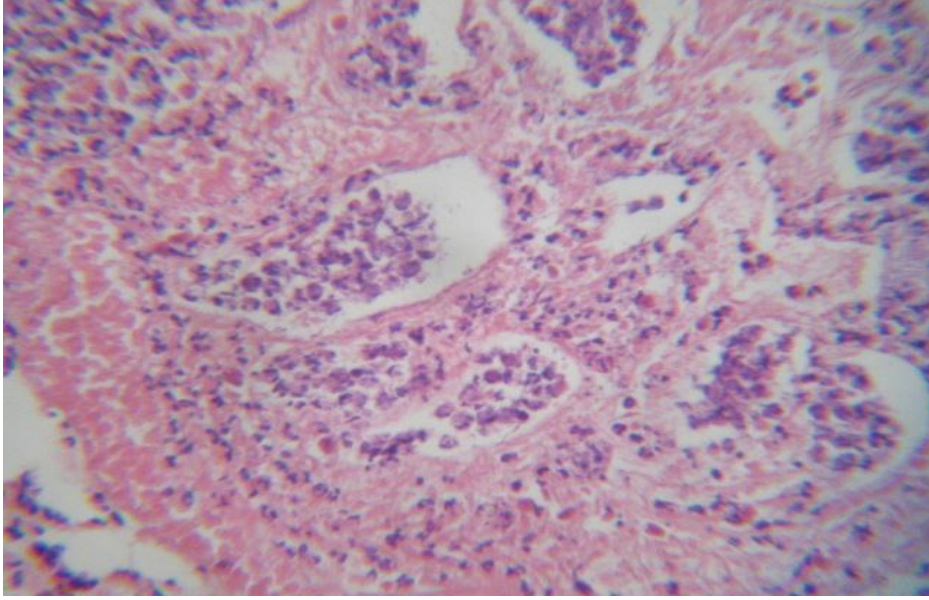
الشكل ٢٨. تقرح عميق يصل العضلية المخاطية مع وجود التهاب شديد بدرجة تكبير ١٠. مثال عن التصنيف النسيجي ٣ (مجموعة حمض الخل).



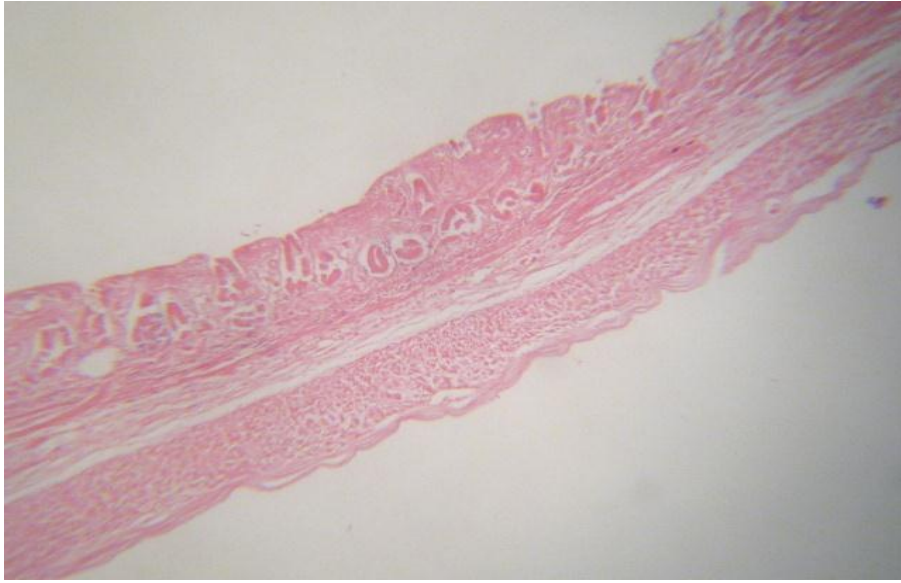
الشكل ٢٩. تقرح عميق يصل العضلية المخاطية مع وجود التهاب شديد بدرجة تكبير ٢٠. مثال عن التصنيف النسيجي ٣ (مجموعة حمض الخل).



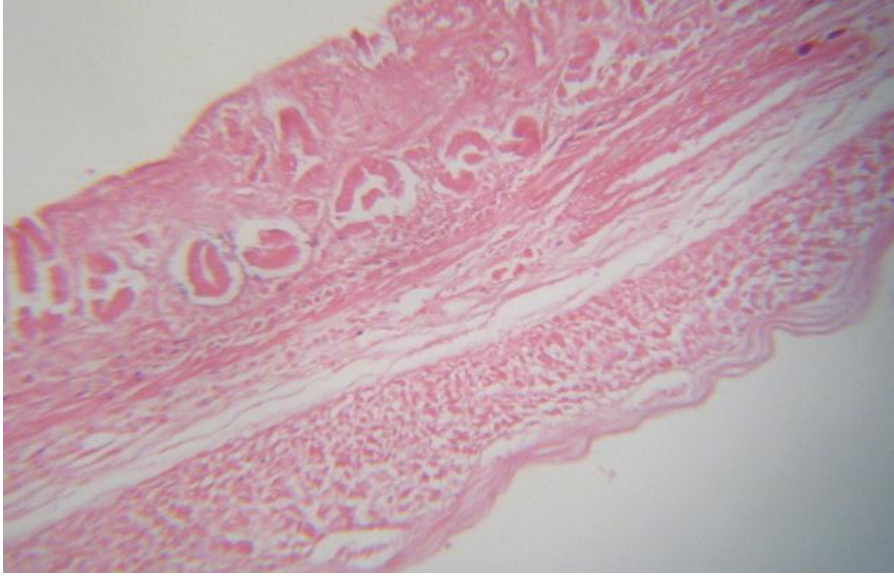
الشكل ٣٠. تقرح عميق يصل العضلية المخاطية مع وجود التهاب شديد بدرجة تكبير ١٠. مثال عن التصنيف النسيجي ٣ (مجموعة حمض الخل).



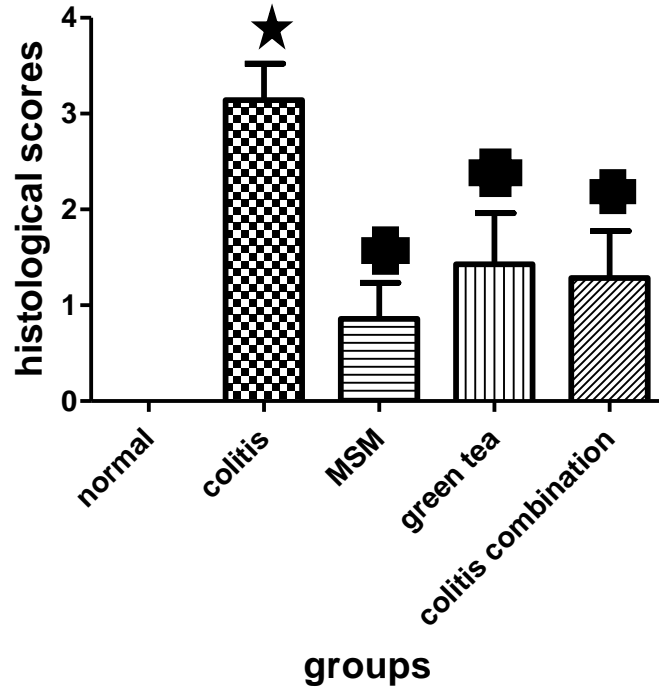
الشكل ٣١. تقرح عميق يصل العضلية المخاطية مع وجود التهاب شديد وخلايا مصورة تدخل في تركيب الرشاحة دليل تداخل مناعي خلطي بدرجة تكبير ٤٠. مثال عن التصنيف النسيجي ٣ (مجموعة حمض الخل).



الشكل ٣٢. نخر ضمن الجدار المعوي بدرجة تكبير ١٠. مثال عن التصنيف النسيجي ٤ (مجموعة حمض الخل).



الشكل ٣٣. نخر ضمن الجدار المعوي بدرجة تكبير ٢٠. مثال عن التصنيف النسيجي ٤ (مجموعة حمض الخل).



الشكل ٣٤ .

يظهر تأثير كل من MSM و خلاصة الشاي الأخضر و المشاركة بينهما على العلامات النسيجية المعتمدة للوقاية من التهاب القولون التقرحي وذلك في اليوم الرابع بعد تطبيق ١ مل حمض خل ٥%.

★ دليل وجود فرق جوهري بمقارنة المجموعة المريضة مع المجموعة الطبيعية اعتماداً على $P < 0.001$.
 ■ دليل وجود فرق جوهري بمقارنة كل من مجموعة MSM و خلاصة الشاي الأخضر و مجموعة المشاركة مع المجموعة المريضة اعتماداً على $P < 0.001$.

أظهرت الدراسة الإحصائية أن تناول جرعة ٤٠٠ ملغ /كغ من مادة MSM لمدة ٤ أيام أدى إلى تراجع معتد به إحصائياً في العلامات النسيجية المعتمدة مقارنة بالمجموعة المريضة، ونتج عن تطبيق خلاصة الشاي الأخضر بجرعة ١٠٠ ملغ/ كغ تراجع هام إحصائياً في العلامات النسيجية المعتمدة مقارنة بالمجموعة المريضة، كذلك الأمر بالنسبة لمجموعة المشاركة بين خلاصة الشاي الأخضر و MSM .

٣- نتائج معايرة مستويات الغلوتاتيون:

٣-١ -المجموعة الشاهدة الطبيعية:

كانت المستويات النسيجية للغلوتاتيون طبيعية اعتماداً على التعليمات الواردة في العتيدة.

٣-٢ -المجموعة المريضة الشاهدة :

أدى التطبيق داخل المستقيم لحمض الخل إلى تناقص معتد به إحصائياً في المستويات النسيجية لمضاد الأكسدة داخلي المنشأ (الغلوتاتيون) مقارنة بالمجموعة الشاهدة الطبيعية، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية للمجموعة المريضة مقارنة بالمجموعة الطبيعية بنقص ٨٨% .

٣-٣ -مجموعة الميتيل سلفونيل ميتان MSM :

نتج عن استخدام MSM تزايد معتد به إحصائياً في تركيز الغلوتاتيون مقارنة بالمجموعة المريضة، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية للغلوتاتيون مقارنة بالمجموعة المريضة بزيادة ٨١% .

٣-٤ - مجموعة خلاصة الشاي الأخضر:

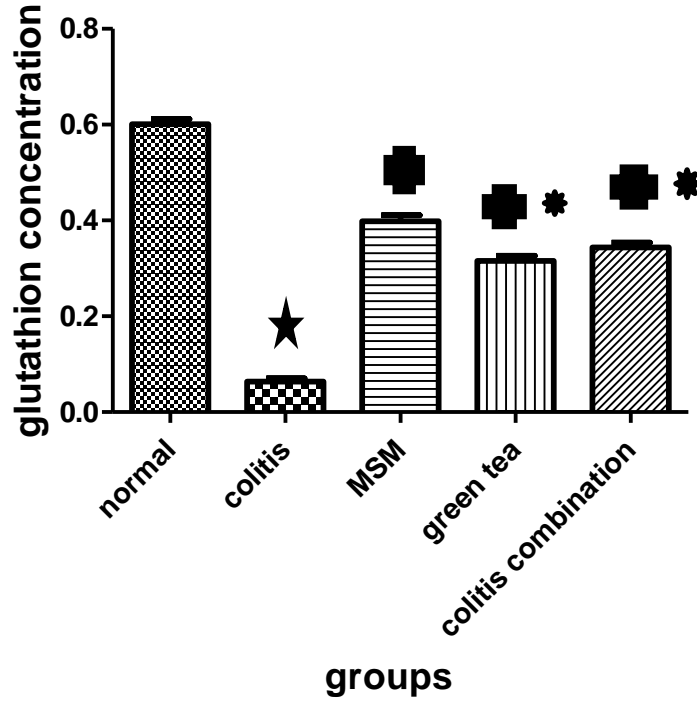
لوحظ تزايد هام إحصائياً في تركيز الغلوتاتيون عند المجموعة المطبق لديها خلاصة الشاي الأخضر مقارنة بالمجموعة المريضة، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية للغلوتاتيون مقارنة بالمجموعة المريضة بزيادة ٧٧% .

٣-٥ - مجموعة المشاركة:

تزايدت تراكيز GSH المخاطي بشكل هام إحصائياً عند المجموعة المريضة المطبق لديها مشاركة خلاصة الشاي الأخضر و MSM مقارنة بالمجموعة المريضة، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية للغلوتاتيون مقارنة بالمجموعة المريضة بزيادة ٧٩% .

الجدول ٣ : يبين تراكيز الغلوتاتيون التي حصلنا عليها في كل مجموعة والمتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري لكل مجموعة.

تركيز الغلوتاتيون نانومول / مل								
المجموعة	الجرذ ١	الجرذ ٢	الجرذ ٣	الجرذ ٤	الجرذ ٥	الجرذ ٦	الجرذ ٧	mean \pm S.E
الطبيعية	٠.٦٢٠	٠.٥٩٠	٠.٥٩٤	٠.٥٩٨	٠.٦١٢	٠.٥٩٢	٠.٦٠٠	٠.٦٠١ \pm ٠.٠١٢
المريضة	٠.٠٧١٦	٠.٠٧١٠	٠.٠٦٨٠	٠.٠٦٧٠	٠.٠٦٩١	٠.٠٦٩٨	٠.٠٦٩٠	٠.٠٦٩ \pm ٠.٠٠١
MSM	٠.٣٨٤	٠.٣٨٥	٠.٣٨٣	٠.٣٨٦	٠.٣٨٠	٠.٣٨٨	٠.٣٨٢	٠.٣٨٤ \pm ٠.٠٠١
خلاصة الشاي	٠.٣٠٥	٠.٣٠٠	٠.٣٠٤	٠.٣٠٨	٠.٣٠٦	٠.٣٠١	٠.٣٠٠	٠.٣٠٣ \pm ٠.٠٠٣
المشاركة	٠.٣٤٧	٠.٣٣٤	٠.٣٤١	٠.٣٣٠	٠.٣٣٥	٠.٣٣٠	٠.٣٤٠	٠.٣٣٧ \pm ٠.٠٠٦



الشكل ٣٥. يبين هذا الشكل تأثير كل من MSM و خلاصة الشاي الأخضر والمشاركة بينهما على المحتوى القولوني للغلوتاتيون عند الجرذان الممرض لديها التهاب القولون التقرحي باستخدام حمض الخل ٥%.
 ★ دليل وجود فرق جوهري بمقارنة المجموعة المريضة مع المجموعة الطبيعية اعتماداً على $P < 0.001$.
 ■ دليل وجود فرق جوهري بمقارنة كل من مجموعة MSM و مجموعة الشاي الأخضر ومجموعة المشاركة مع المجموعة المريضة اعتماداً على $P < 0.001$.
 * دليل وجود فرق جوهري بمقارنة كل من مجموعة خلاصة الشاي الأخضر ومجموعة المشاركة مع مجموعة MSM اعتماداً على $P < 0.001$.

وبالمقارنة بين مجموعة MSM ومجموعة الشاي الأخضر ومجموعة المشاركة، كانت مجموعة MSM أفضل من مجموعة الشاي الأخضر ومجموعة المشاركة بين MSM ومجموعة الشاي الأخضر في زيادة المستويات النسيجية للغلوتاتيون مع وجود فرق جوهري.

٤- نتائج معايرة MPO:

تم قياس مستويات MPO في الأنسجة القولونية لتقييم الفعالية المضادة للالتهاب والمضادة للأكسدة لكل من خلاصة الشاي الأخضر و MSM.

٤-١ - المجموعة الشاهدة الطبيعية :

كانت المستويات النسيجية لـ MPO طبيعية اعتماداً على التعليمات الواردة في العتيدة.

٤-٢ - المجموعة المريضة الشاهدة :

أدى التطبيق داخل المستقيم لحمض الخل إلى زيادة معتد بها إحصائياً في المستويات النسيجية لـ MPO مقارنة بالمجموعة الشاهدة الطبيعية، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية لـ MPO مقارنة بالمجموعة الطبيعية بزيادة ٦٩%.

٤-٣ - مجموعة الميتيل سلفونيل ميتان MSM :

نتج عن استخدام MSM تناقص معتد به إحصائياً في تركيز MPO مقارنة بالمجموعة المريضة، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية لـ MPO مقارنة بالمجموعة المريضة بنقص ٥٤%.

٤-٤ - مجموعة خلاصة الشاي الأخضر :

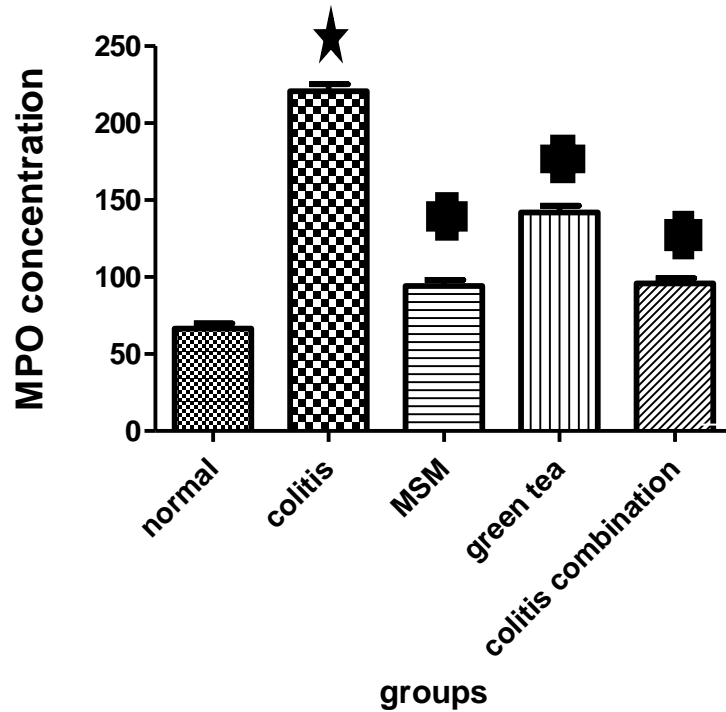
لوحظ تناقص هام إحصائياً في تركيز MPO عند المجموعة المطبق لديها خلاصة الشاي الأخضر مقارنة بالمجموعة المريضة، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية لـ MPO مقارنة بالمجموعة المريضة بنقص ٣٤%.

٤-٥ - مجموعة المشاركة:

تناقصت تراكيز MPO المخاطي بشكل هام إحصائياً عند المجموعة المريضة المطبق لديها مشاركة خلاصة الشاي الأخضر و MSM مقارنة بالمجموعة المريضة، حيث لوحظ فارق جوهري ذو دلالة إحصائية في المستويات النسيجية لـ MPO مقارنة بالمجموعة المريضة بنقص ٥٤%.

الجدول ٤: يبين تراكيز MPO النسيجية التي حصلنا عليها في كل مجموعة والمتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري لكل مجموعة.

تركيز MPO (نانوغرام/مل)								
Mean \pm SE	الجرذ ٧	الجرذ ٦	الجرذ ٥	الجرذ ٤	الجرذ ٣	الجرذ ٢	الجرذ ١	المجموعة
٦٨.١٥ \pm ١.٥٧	٦٦.٤٦	٦٩.٠٨	٦٧.٦٢	٦٥.٧٥	٦٩.٤٧	٦٩.٩٠	٦٨.٧٥	الطبيعية
٢١٩.١٨ \pm ٢.٤٢	٢٢٢.٥٤	٢١٨.٩٩	٢١٦.٧٩	٢١٨.٤١	٢٢١.٩١	٢١٩.٣٨	٢١٦.٢٢	المریضة
١٠٠.٣٥ \pm ٤.١٤	٩٩.٨٩	٩٧.٥٢	٩٦.١١	١٠٦.٥٤	١٠٥.٧٧	٩٨.٨٣	٩٧.٧٧	MSM
١٤٤.٦٣ \pm ٢.٤٤	١٤٠.٠٠	١٤٧.٠١	١٤٦.٥٩	١٤٥.١٨	١٤٣.١٢	١٤٦.١٠	١٤٤.٣٨	خلاصة الشاي الأخضر
١٠٠.٧٣ \pm ١.٨٧	١٠٠.٠٠	٩٩.٩٧	٩٨.٩٥	١٠٤.٠٢	٩٩.٢٢	١٠٠.٣٣	١٠٢.٦١	المشاركة



الشكل ٣٦: يبين هذا المخطط تأثير كل من MSM و خلاصة الشاي الأخضر والمشاركة بينهما على مستويات MPO عند الجرذان المعرض لديها التهاب القولون التقرحي باستخدام حمض الخل ٥%.
 دليل وجود فرق جوهري بمقارنة المجموعة المريضة مع المجموعة الطبيعية اعتماداً على $P < 0.001$.
 دليل وجود فرق جوهري بمقارنة مجموعة MSM ومجموعة الشاي الأخضر ومجموعة المشاركة مع المجموعة المريضة اعتماداً على $P < 0.001$.



المناقشة :discussion

يعتبر التهاب القولون التقرحي المحدث باستخدام حمض الخل عند الجرذان واحداً من الطرق المعيارية للحصول على طراز تجريبي للأمراض المعوية الالتهابية، حيث أثبتت العديد من الدراسات أن حمض الخل يؤدي إلى بدء التهاب قولون عند الجرذان مشابه لبدائته عند البشر لأنه يسبب زيادة في النفوذية الوعائية و ارتشاح مطول للمعدلات و إنتاج متزايد للوسائط الالتهابية المشاركة في إحداث التهاب القولون التقرحي (٢١). كما يؤدي إلى إنتاج مفرط للجذور الحرة التي تساهم في إحداث الإصابة الخلوية و النخر عن طريق العديد من الآليات متضمنة الأكسدة الفائقة peroxidation للشحوم الغشائية و تمسخ البروتينات denaturation و ضرر DNA (١٠٤)، إضافة إلى تفعيل عوامل الانتساخ النووية والإنتاج اللاحق للسيتوكينات الالتهابية وتعزيز تفعيل الكريات البيضاء وتعجيل الاستماتة الخلوية (٩١).

أدى استخدام حمض الخل في دراستنا إلى حدوث إسهال مدمى من الناحية السريرية، وأظهرت نتائج الفحص العياني حدوث وذمة و نزوف و التهاب و قرحات عند ٨٥.٧% من الجرذان، ونخر شديد في المخاطية القولونية عند ١٤.٣% من الجرذان المطبق لديها حمض الخل مقارنة بالمجموعة الشاهدة الطبيعية. أما الفحص النسيجي فقد أثبت حدوث ارتشاح للمعدلات و البلاعم إلى النسيج المخاطي والذي يمثل المرحلة المبكرة من الالتهاب والأداة النسيجية الأكثر أهمية في تشخيص التهاب القولون التقرحي، فبمجرد وصول المعدلات إلى المخاطية المعوية تقوم بإنتاج الوسائط قبل الالتهابية مثل السيتوكينات cytokines و الانترلوكين ١ وعامل النخر الورمي TNF α التي تحرض المعدلات و الوحيدات و البلاعم من أجل المحافظة على الالتهاب من خلال إنتاج جذر فوق الأكسيد والوسائط الشحمية و البروتياز protease المسؤولة عن الإصابة النسيجية (١٠٥)، وحمض النتريك NO و الليكوترينات leukotrienes و الترومبوكسان thromboxane و العامل المنشط للصفائح (١٠٦).

كما لوحظ أيضاً وجود تقرحات عميقة وصلت إلى الطبقة العضلية المخاطية عند ٨٥.٥% من الجرذان إضافة إلى تآكلات و نخر شديد على طول الجدار المعوي عند ١٤.٥% من الجرذان المريضة. وبذلك أدى التطبيق داخل المستقيم لحمض الخل إلى إحداث إصابة نسيجية شديدة عن طريق تحرر الوسائط الالتهابية و الجذور الحرة وقد توافقت نتائجنا مع نتائج Mahgouba وزملائه حيث طبقوا ٢ مل حمض خل ٣% حجم/حجم في ٠.٩% سيروم

ملحي داخل المستقيم و أظهرت نتائج الفحص العياني و النسيجي لديهم وجود مخاطية متورمة و متوذمة و نازفة و متنخرة مقارنة بالمجموعة الطبيعية (١٠٧) .

كما توافقت نتائجنا مع Zeng وزملائه حيث أدى تطبيق حمض الخل إلى ارتشاح الخلايا الالتهابية (٧) . كذلك أثبت Ghatule وزملاؤه أن تطبيق حمض الخل قد أدى إلى زيادة في الضرر المخاطي القولوني إضافة إلى حدوث تنخرات وتقرحات (١٠٨).

نتج عن تطبيق حمض الخل في دراستنا أيضاً تناقص في مستويات GSH النسيجية بالمقارنة مع المجموعة الطبيعية بنسبة ٨٨ % . وقد أشارت الدراسات إلى أن نفاذ الغلوتاتيون يعتبر حدثاً هاماً في الضرر القولوني والذي يمكن أن يكون كنتيجة لتعزيز إنتاج الجذور الحرة أو/ و يمكن أن يمثل اضطراباً نوعياً بسبب إضعاف فعالية أنزيم تخليق GSH (٤١).

كذلك تزايدت مستويات MPO النسيجية عند تطبيق حمض الخل بالمقارنة مع المجموعة الطبيعية بنسبة ٦٩ %، حيث تتناسب مستويات MPO بشكل مباشر مع تركيز المعتدلات في النسيج الملتهب. لذلك يعد قياس فعالية MPO معياراً كمية وحساسة للالتهاب المعوي الحاد وطريقة لتقييم نجاعة الأدوية في النموذج الحيواني للالتهاب المعوي و مشعراً لتدفق المعتدلات إلى النسيج المعدي الملتهب التي تحفز تحرر الجذور الحرة التي يمكن أن يكون لها تأثيرات سمية على ثملات residues الحموض الدهنية في الليبيدات الغشائية (١٠٩). تطابقت نتائجنا مع نتائج Cetinkaya ؛ حيث أدى تطبيق حمض الخل لديهم إلى مخاطية قولونية نازفة ومتقرحة إضافة إلى زيادة MPO وإنقاص GSH (١١٠).

أثبتت عدة دراسات تورط الأنواع الأوكسجينية التفاعلية والأنواع النتروجينية كوسائط في إحداث التهاب القولون، وهذا ماوجهنا إلى دراسة تأثير مضادات الأوكسدة في الوقاية من التهاب القولون التقرحي مثال MSM و خلاصة الشاي الأخضر (١١١).

ميثيل سلفونيل ميتان MSM هو مركب عضوي كبريتي طبيعي يعرف بخواصه المضادة للأوكسدة والمضادة للالتهاب (٨٨). و قد أكدت دراستنا على قدرة MSM في الوقاية من التهاب القولون المحدث تجريبياً من خلال الفحوص العيانية والنسيجية وتناقص مستويات MPO النسيجية (واصمة الالتهاب الحاد) بنسبة ٥٤ % مقارنة مع المجموعة المريضة وزيادة مستويات GSH النسيجية بنسبة ٨٢ % مقارنة بالمجموعة المريضة . فقد أدى تطبيق MSM إلى تراجع هام إحصائياً من الناحية النسيجية والعيانية في التقرحات السطحية والعميقة وجميع حالات النخر واقتصرت الموجودات على وجود وذمة واحمرار و ارتشاح خفيف للخلايا

الالتهابية و بالتالي إنقاص تحرر الوسائط الالتهابية والجذور الحرة . كما أدى استخدام MSM إلى الوقاية من نفاذ الجلوتاثيون وإعادته إلى حدود المستويات الطبيعية في حالته المرجعة (٢١). وهذا يقترح الفعل المضاد للأكسدة للـ MSM، ذلك لأن الجلوتاثيون يلعب دوراً هاماً في المحافظة على حالة أكسدة – إرجاع في الخلايا من خلال العديد من الآليات وتشمل: كنس المستقبلات الأكسجينية التفاعلية و المحافظة على أنزيم GSH peroxidase. في دراستنا، نتج عن استخدام MSM أيضاً تناقص في مستويات MPO البلازمية و بالتالي إنقاص ارتشاح المعتدلات في النسيج القولوني والتخفيف من الضرر القولوني وهذا يقترح الفعل المضاد للالتهاب لـ MSM. و قد تطابقت نتائجنا مع نتائج الدراسة الوحيدة التي سبقتنا وهي دراسة Amirshahrokhi (٩٩)، الذي لاحظ أن لجرعة ٤٠٠ مغ/كغ من MSM دوراً في الوقاية من التهاب القولون التقرحي، وعزى ذلك إلى دور MSM المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب من خلال قدرته على إحداث تراجع هام إحصائياً في العلامات العيانية والنسجية المعتمدة و زيادة مستويات GSH و تناقص مستويات MPO النسجية في المخاطية القولونية.

برهن العديد من التجارب أن لمادة MSM تأثيراً مضاداً للأكسدة وكانساً للجذور الحرة من خلال تثبيط السيتوكينات قبل الالتهابية وزيادة (الجلوتاثيون glutathione) إضافة إلى إنقاص إنتاج ROS والواصمات الحيوية قبل الالتهابية و إنقاص واصمات الشدة التأكسدية (٨٧)، مثل Malondialdehyde (٩٢)، وزيادة الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل SOD و CAT (٨٨) catalase).

وأثبتت دراسات أخرى أن MSM يثبط إزفاء translocation الوحيدة p56 للعامل النووي (NF)-k β إلى النواة ليقفل بذلك من الأحداث المترافقة مع الالتهاب الموضعي و الجهازى (٨٧).

وقد أشارت عدة أبحاث إلى أنه يمكن أن تعزى تأثيرات MSM إلى احتوائه على الكبريت sulfur الذي يملك تأثيراً مضاداً للالتهاب (٨٧). حيث يعتبر الكبريت المكون الرئيسي للحموض الأمينية مثل الميثيونين والسيستئين التي تساهم في المحافظة على سلامة الأجهزة الخلوية من خلال التأثير على حالة الخردلة redox الخلوية والسعة الخلوية لإزالة سمية المركبات السامة والجذور الحرة و ROS (١١٢). و تشمل تأثيرات الكبريت المضادة للأكسدة: خلط المعادن و كنس الأنواع الأكسجينية التفاعلية و تصليح الجزيئات المتضررة بواسطة الشدة التأكسدية (١١٣)، و المساهمة في التفكك الأنزيمي للمستقلبات الأكسجينية بالإضافة إلى دوره في تثبيط ضرر DNA المتواسط بالنحاس والحديد من خلال الارتباط

بالمعدن (١١٤)، كما يدخل في تركيب مضادات الأكسدة داخل الخلية (الغلوتاتيون) والتورين taurine (١١٥).

أكدت نتائج بحثنا على فعالية خلاصة الشاي الأخضر في الوقاية من التهاب القولون التقرحي المحدث بواسطة حمض الخل وهذا ما لوحظ بواسطة الفحص العياني والنسجي للمخاطية القولونية الذين أثبتنا فعالية خلاصة الشاي الأخضر في إحداث تراجع هام إحصائياً في حالات التقرح الشديد والنخر والالتهاب. كما أدى تطبيق خلاصة الشاي الأخضر إلى تناقص مستويات MPO النسيجية وزيادة مستويات GSH وهذا يقترح الفعل المضاد للالتهاب والمضاد للأكسدة لخلاصة الشاي الأخضر. وقد توافقت نتائجنا مع دراسة Mochizuki الذي أدى استخدام خلاصة الشاي الأخضر لديه إلى تناقص مستويات MPO النسيجية (١١٦).

كذلك وجد Kumar أن خلاصة الشاي الأخضر تملك فعالية مضادة للأكسدة من خلال إنقاص تشكيل نواتج الأكسدة الفائقة للشحوم وبالتالي التخفيف من الضرر التأكسدي (١١٧). لذا يمكن أن يعزى التأثير المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب لخلاصة الشاي الأخضر وفق العديد من الدراسات إلى احتوائها على عديدات الفينول وخاصة الكاتشينات catechins و أهمها EGCG (٨٢).

حيث تعمل الكاتشينات على كنس الجذور الأكسجينية و النتروجينية الحرة (١١٨) مثال فوق الأكسيد والهيدروكسيل و جذور البيروكسيل peroxy والجذور الحرة الشحمية و البيروكسي نترت (٨٢)، عن طريق منح ذرة هيدروجين الهيدروكسيل الفينولي أو الالكترولون إلى الجذر الحر (١١٩).

تمنع الكاتشينات تراكم ROS من خلال تثبيط أنزيم الكزانتين أكسيداز XO وهو أنزيم يقوض البورينات لإنتاج حمض البول و ROS وبالتالي تمنع تشكيل الجذور الحرة. كما تزيد الكاتشينات من مضادات الأكسدة داخلية المنشأ لتتقصد من الأذى التأكسدي حيث يمكن أن تزيد من فعالية glutathione peroxidase و SOD و الكاتلاز catalase. كما تمنع نفاذ مضادات الأكسدة الداخلية المنشأ مثل α -tocopherol و β - carotene (٨٢).

و تعمل على خلب الشوارد المعدنية (مثال: الحديد والنحاس) (١١٩) لتشكل معقدات معطلة تمنع توليد الجذور الحرة (١٢٠).

تقترح العديد من الدراسات أن فاعلية الكاتشينات الكانسة للجذور الحرة تعود بشكل مباشر إلى البنية الكيميائية لكل مركب، حيث أن جزء الغالات gallate يتأسر على الموضع ٣ من الحلقة C و مجموعة catechol (3,4-dihydroxyl) على الحلقة B و مجموعات الهيدروكسيل على الموقع ٥ و ٧ على الحلقة A (شكل بنية الكاتشينات).

وبالمقارنة بين أنواع الكاتشينات لوحظ أن EGCG و ECG لها فعالية أكبر في كنس الجذور الحرة مقارنة بالكاتشينات الأخرى و يعود ذلك إلى وجود مجموعة الغالات على حلقة C. الاختلافات في الفعالية المضادة للأكسدة لـ EGCG و ECG قليلة، فالاختلاف الوحيد بينهما في البنية هي مجموعة orthohydroxyl على الموضع ٥ للحلقة B و الجذور الحرة المكتنفة وطريقة الاستعمال. كذلك الحلقة A مهمة في بنية الكاتشينات لفعاليتها المضادة للأكسدة حيث يحدث أكسدة و نزع كربوكسيل للحلقة A بعد التفاعل مع بيروكسيد الهيدروجين (٨٢). لاحظنا أن للمشاركة بين خلاصة الشاي الأخضر و MSM دوراً في الوقاية من التهاب القولون التقرحي المحدث عند الجرذان باستخدام حمض الخل ذلك من خلال إحداث تراجع معتد به إحصائياً للعلامات النسيجية و العيانية والمعايير الكيميائية المعتمدة. ونعتقد أن هذه هي الدراسة الأولى.

حيث أدت المشاركة بين MSM و خلاصة الشاي الأخضر إلى تناقص المستويات النسيجية لـ MPO بنسبة ٥٤% مقارنة مع المجموعة المريضة وزيادة المستويات النسيجية لـ GSH بنسبة ٧٩% مقارنة مع المجموعة المريضة.

لكن بالمقارنة بين مجموعات الدراسة، تبين أن MSM أفضل من خلاصة الشاي الأخضر ومن المشاركة بينهما في زيادة المستويات النسيجية للغلوتاتيون مع وجود فرق جوهري ويمكن أن يعزى ذلك إلى احتواء MSM على الكبريت الذي يعزز الدفاع داخل الخلوي المضاد للأكسدة

(الغلوتاتيون) وذلك لأنه يدخل في تركيب الحموض الأمينية التي تعتبر المصدر الأساسي للغلوتاتيون (١١٣).

الاستنتاجات :Conclusions

MSM مادة طبيعية فعالة آمنة ضئيلة الآثار الجانبية، لها تأثير وقائي من التهاب القولون التقرحي المحدث تجريبياً عند الجرذان، يعود إلى فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب. كذلك تملك خلاصة الشاي الأخضر تأثيراً وقائياً عائداً إلى فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب ، ولكن فعاليتها أقل مقارنة بميتيل سلفونيل ميثان أو بالمشاركة بينهما.

المقترحات والتوصيات Suggestions and :Recommendations

نقترح توسيع البحث في آلية MSM الوقائية من التهاب القولون التقرحي وإجراء دراسات
لإمكانية استخدامها في المعالجة أيضاً نظراً لأمانها وآثارها الجانبية القليلة.
وكذلك إيجاد مواد طبيعية أخرى يمكن أن تساهم في الوقاية من التهاب القولون التقرحي وتكون
ذات هامش أمان عالٍ.

الملخص:

التهاب القولون التقرحي هو عبارة عن اضطراب معوي متعدد العوامل مجهول السبب يتصف بحدوث شدة تأكسدية و ارتشاح الكريات البيض و تنظيم صاعد للسيتوكينات الالتهابية. الهدف من الدراسة اختبار التأثيرات الوقائية لمادة ميتيل سلفونيل ميتان و خلاصة الشاي الأخضر من التهاب القولون المحدث عند الجرذان باستخدام حمض الخل وهو نموذج من الأمراض المعوية الالتهابية. ميتيل سلفونيل ميتان هو مركب عضوي كبريتي يتواجد بشكل طبيعي في النباتات الخضراء و يملك تأثيرات مضادة للالتهاب و مضادة للأكسدة. تحتوي خلاصة الشاي الأخضر مركبات بولي فينولية وخاصة الكاتشينات التي لها تأثيرات مضادة للالتهاب و مضادة للأكسدة من خلال إزالة الجذور الحرة و زيادة الدفاع المضاد للأكسدة الداخل خلوي. أحدث التهاب القولون عن طريق تطبيق ١ مل حمض الخل ٥% داخل القولون. وفي اليوم الرابع بعد إحداث التهاب القولون تم استئصال القولون القاصي من أجل العلامات العيانية والنسجية والكيميائية الحيوية مثال مستويات الغلوتاتيون و MPO. أظهرت نتائجنا أن كلاً من ميتيل سلفونيل ميتان و خلاصة الشاي الأخضر والمشاركة بينهما قد أنقصت من الضرر القولوني العياني والمجهري بسبب تطبيق حمض الخل كما أنقصت وبشكل هام إحصائياً مستويات MPO القولونية بينما زادت مستويات الغلوتاتيون مقارنة بمجموعة حمض الخل.

Abstract

Ulcerative colitis is a multifactorial intestinal disorder of unknown etiology, characterized by oxidative stress, leukocyte infiltration and upregulation of inflammatory cytokines.

The purpose of the study was to examine the protective effects of methylsulfonylmethane and green tea extract on acetic acid induced colitis in rats, a model for inflammatory bowel disease. Methylsulfonylmethane is an organosulfur compound, naturally occurring in green plants and it has anti-inflammatory and antioxidant effects. Green tea extract contains polyphenolic compounds especially catechins which have anti-inflammatory and antioxidant effects by removing free radicals and increasing intracellular antioxidant defense. Colitis was induced by intracolonic administration of 1 ml of 5% of acetic acid. On the fourth day after the induction of colitis, the distal colon was resected for macroscopic score, histopathological and biochemical such as myeloperoxidase and glutathione levels. Our results showed that methylsulfonylmethane, green tea extract and their combination decreased macroscopic and microscopic colonic damage scores caused by administration of acetic acid, also significantly reduced colonic levels of myeloperoxidase while increased the levels of glutathione compared to acetic acid-induced colitis group.

:Keywords الكلمات المفتاحية

التهاب القولون التقرحي (UC) ulcerative colitis

ميثيل سلفونيل ميثان methylsulfonylmethane

خلاصة الشاي الأخضر green tea extract

مضاد التهاب anti- inflammatory

ومضاد للأكسدة anti oxidant

:References المراجع

- 1- Kelly, D., Wood, R., Enders, A., Bailay's Text Book Of Microscopic Anatomy. 18th ed: Williams and Wilkins, Baltimore; 1984. P. 565.
- 2- Cohn SM, Birnbaum EH. Colon: Anatomy and Structural Anomalies. In: Yamada T, Alpers DH, Kalloo AN, Kaplowitz N, Owyang C, Powell DW, editors. Textbook Of Gastroenterology. 5th ed: Wiley- Blackwell; 2009. p. 1369.
- 3- Eroschenko Vp. Difor's Atlas Of Histology With Functional orrelations. 11th ed: Williams & Wilkins, Baltimore; 2008. P. 302-303.
- 4- Kathleen A, Jurenka JS. Inflammatory bowel disease part 1: ulcerative colitis- pathophysiology and conventional and alternative treatment options. Alternative medicine review. 2003; 8(3):247.
- 5- Lichtenstein GR. Medical Therapy of Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterology Clinics of North America 2004; 33: xv-xvi.
- 6- Langholz E. Review: Current trends in inflammatory bowel disease: the natural history. Therapeutic advances in gastroenterology. 2010; 3(2):77-86.
- 7- Zeng C, Xiao J-H, Chang M-J, Wang J-L. Beneficial effects of THSG on acetic acid-induced experimental colitis: involvement of upregulation of PPAR- γ and inhibition of the Nf-Kb inflammatory pathway. Molecules. 2011; 16(10):8552-68.

- 8- Parker JN, Parker PM. The 2002 official patient's sourcebook on ulcerative colitis. ICON Health Publications; 2002. P.11.
- 9- Zonderman J, Vender RS. Understanding crohn disease and ulcerative colitis: University Press of Mississippi, Jackson; 2000. P. 14-34.
- 10- Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins basic pathology. 9th ed: Elsevier; 2013. P. 58.
- 11- Danese S, Sans M, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors. Autoimmunity reviews. 2004; 3(5):394-400.
- 12- Cronin CC, Shanahan F. Understanding symptoms and signs in inflammatory bowel disease. In: Targan SR, Shanahan F, Karp LC, editors. Inflammatory bowel disease from bench to bedside. 2nd ed: Springer; 2003. P. 253 - 4.
- 13- Dassopoulos T, Hanauer S. Presentation and Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease. In: Cohen RD, editor. Inflammatory bowel disease diagnosis and therapeutics: Human press, Totowa; 2003. P. 88.
- 14- Warner AS, Barto AE. 100 Questions and Answers About Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. 2nd ed: Jones and Bartlett Publishers, Sudbury; 2010. p. 2-22.
- 15- Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. The American journal of gastroenterology. 2004; 99(7):1371-85.
- 16- Kirsner JB. Inflammatory Bowel Disease (Crohn's Disease, Ulcerative Colitis) In: Kiple KF, editor. The Cambridge Historical

Dictionary of Disease Cambridge: Cambridge University Press; 2003. P.175.

17- Lashner BA. Ulcerative Colitis. In: Koch TR, editor. Colonic disease: Human Press, Totowa; 2003. P.482.

18- Pavlick KP, Laroux FS, Fuseler J, Wolf RE, Gray L, Hoffman J, et al. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in inflammatory bowel disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002; 33(3):311-22.

19- Kraneveld AD, Rijnierse A, Nijkamp FP, Garssen J. Neuro-immune interactions in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: future therapeutic targets. *European journal of pharmacology*. 2008; 585(2):361-74.

20- Montgomery S, Lambe M, Wakefield A, Pounder R, Ekbom A. Siblings and the risk of inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2002; 37(11):1301-8.

21- Hagar HH, Medany AE, Eter EE, Arafa M. Ameliorative effect of pyrrolidinedithiocarbamate on acetic acid-induced colitis in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2007; 554: 69–77.

22- Seguí J, Gironella M, Sans M, Granell S, Gil F, Gimeno M, et al. Superoxide dismutase ameliorates TNBS-induced colitis by reducing oxidative stress, adhesion molecule expression, and leukocyte recruitment into the inflamed intestine. *Journal of leukocyte biology*. 2004; 76(3):537-44.

23- Nakamura RM, Matsutani M, Barry M. Advances in clinical laboratory tests for inflammatory bowel disease. *Clinica chimica acta*. 2003; 335(1):9-20.

- 24- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*. 2002; 82(1):47-95.
- 25- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*.2006; 160: 1-40.
- 26- Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J*. 1997; 11: 118-24.
- 27- Ridnour LA, Isenberg JS, Espey MG, Thomas DD, Roberts DD, Wink DA. Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005; 102(37):13147-52.
- 28- Valko M, Morris H, Mazúr M, Raptá P, Bilton RF. Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2001; 1527(3):161-6.
- 29- Seril DN, Liao J, Yang G-Y, Yang CS. Oxidative Stress and Ulcerative Colitis: Experimental Evidence and Implications for Treatment. In: Singh KK, editor. *Oxidative stress Disease and cancer*. Covent Garden: Imperial College Press; 2006. P. 579-86.
- 30- Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in biochemical sciences*. 2000; 25(10):502-8.
- 31- Martin AR, Villegas I, La Casa C, de la Lastra CA. The cyclo-oxygenase-2 inhibitor, rofecoxib, attenuates mucosal damage

- due to colitis induced by trinitrobenzene sulphonic acid in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2003; 481: 281-91.
- 32- Pabuçcuoğlu A, Konyalıoğlu S, Baş M, Meral GE. The in vitro effects of *Hypericum* species on human leukocyte myeloperoxidase activity. *Journal of ethnopharmacology*. 2003; 87(1):89-92.
- 33- Wang X, Zhao L, Han T, Chen S, Wang J. Protective effects of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside, an active component of *Polygonum multiflorum* Thunb, on experimental colitis in mice. *European journal of pharmacology*. 2008; 578(2):339-48.
- 34- Awaad AS, El-Meligy RM, Soliman GA. Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2013; 17(1):101-24.
- 35- Kim DY, Won SJ, Gwag BJ. Analysis of mitochondrial free radical generation in animal models of neuronal disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002; 33(5): 715-23.
- 36- Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*. 2004; 266(1-2):37-56.
- 37- Sas K, Robotka H, Toldi J, Vécsei L. Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. *Journal of the neurological sciences*. 2007; 257(1):221-39.
- 38- Sanz A, Barja G. Estimation of the rate of production of oxygen radicals at mitochondria. *Handbook of models for the study of Human Aging*. 2006; 16:183-9.

- 39- Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000; 29(3):222-30.
- 40- Oz HC, Chen TS, McClain CJ, de Villiers wJC. Antioxidants as novel therapy in a murine model of colitis. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2005; 16: 297–304.
- 41- Loguercio C, D'Argenio G, Delle Cave M, Cosenza V, Della Valle N, Mazzacca G, et al. Glutathione supplementation improves oxidative damage in experimental colitis. *Digestive and liver disease*. 2003; 35(9):635-41.
- 42- Tuzun A, Erdil A, Inal V, Aydın A, Bağcı S, et al. Oxidative stress and antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Clinical Biochemistry*. 2002; 35: 569-72
- 43- Kruidenier L, van Meeteren ME, Kuiper I, Jaarsma D, Lamers CB, Zijlstra FJ, et al. Attenuated mild colonic inflammation and improved survival from severe DSS-colitis of transgenic Cu/Zn-SOD mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003; 34(6):753-65.
- 44- Di Paola R, Mazzon E, Patel NS, Genovese T, Muià C, Thiemermann C, et al. Beneficial effects of GW274150 treatment on the development of experimental colitis induced by dinitrobenzene sulfonic acid. *European journal of pharmacology*. 2005; 507(1):281-9.
- 45- Nadege B, Patrick L, Rodrigue R. Mitochondria: from bioenergetics to the metabolic regulation of carcinogenesis. *Frontiers in Bioscience*. 2009; 14(11):4015-34.

- 46- Kaser A. Role of Epithelial Cells in inflammatory bowel disease. In: Mayerle J, Tilg H, editors. Clinical update on inflammatory disorders of the gastrointestinal tract Basel: Karger. Frontiers of Gastrointestinal Research; 2010. p. 108
- 47- Gewirtz AT, Liu Y, Sitaraman SV, Madara JL. Intestinal epithelial pathobiology: past, present and future. Best practice & research clinical gastroenterology. 2002; 16(6):851-67.
- 48- Patel B, Schutte R, Sprus P, Doyle J, Jewel L, Fedorak RN. Potato glycoalkaloids adversely affect intestinal permeability and aggravate inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis. 2002; 8(5):340–6.
- 49- Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. Gastroenterology. 2004; 126(6):1620-33.
- 50- Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. The Lancet. 2003; 361(9356):512-9.
- 51- Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. Gastroenterology. 2008; 134(2):577-94.
- 52- Geier MS, Butler RN, Howarth GS. Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics. International journal of food microbiology. 2007; 115(1):1-11.
- 53- Scherl EJ, Swaminath A, Bosworth B, Jacob V, Lukin DJ. Ulcerative Colitis: Optimizing mesalamine strategies. 2012.
- 54- Mahadevan U. Medical treatment of ulcerative colitis. Clin Colon Rectal Surg. 2004; 17(1):7-19.

- 55- Campregher C, Gasche C. Aminosalicylates. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*.2011; 25: 535-46.
- 56- Khanna R, Marshall JK. Conventional medical management of ulcerative colitis: Sulfasalazine and 5-Aminosalicylates. In: Baumgart DC, editor. *Crohn's disease and ulcerative colitis*: springer; 2012. p. 453-7.
- 57- Sparrow MP, Lim W-C, Hanauer SB. Mesalazine for maintenance therapy in ulcerative colitis – how much, how long? In: Jewell DP, Mortensen NJ, Steinhart AH, Pemberton JH, Warren BF, editors. *Challenges in inflammatory bowel disease* 2nd ed: Black well publishing; 2006.p. 119.
- 58- Levy LC, Siegel CA. State of the Art Medical Treatment of the Adult Patient with IBD: The mesalamine-based therapies. In: Cohen RD, editor. *Inflammatory bowel disease diagnosis and therapeutics*. 2nd ed: Human press; 2011.p. 60- 1.
- 59- Katz JA. Treatment of inflammatory bowel disease with corticosteroids. *Gastroenterology clinics of North America*.2004; 33:171–89.
- 60- Daperno M, Sostegni R, Rocca R, Rigazio C, Scaglione N, Castellino F, et al. Medical treatment of severe ulcerative colitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2002; 16(s4):7-12.
- 61- Levesque BG, Loftus EV. Conventional medical management of Ulcerative Colitis: Azathioprine. In: Baumgart DC, editor. *Crohn's disease and ulcerative colitis*: springer; 2012.p. 473- 8.
- 62- Kverka M, Rossmann P, Tlaskalova-Hogenova H, Klimesova K, Jharap B, de Boer N, et al. Safety and efficacy of the

immunosuppressive agent 6-thioguanine in murine model of acute and chronic colitis. *BMC gastroenterology*. 2011; 11(1):47.

63- Friedman S. General principles of medical therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2004; 33:191-208.

64- Loftus CG, Egan LJ, Sandborn WJ Cyclosporine, tacrolimus, and mycophenolate mofetil in the treatment of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology clinics of North America*. 2004; 33:141-69.

65- Baumgart DC. Conventional Medical Management of Ulcerative Colitis: Tacrolimus. In: Baumgart DC, editor. *Crohn's disease and Ulcerative colitis* Springer; 2012. p. 487-8.

66- Kaur IP, Kuhad A, Garg A, Chopra K. Probiotics: delineation of prophylactic and therapeutic benefits. *Journal of medicinal food*. 2009; 12(2):219-35.

67- Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? Best practice & research clinical gastroenterology. 2003; 17(5):711-24.

68- Sandborn WJ, Targan SR. Biologic therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2002; 122(6):1592-608.

69- Reinisch W, Van Assche G, Befrits R, Connell W, D'Haens G, Ghosh S, et al. Recommendations for the treatment of ulcerative colitis with infliximab: a gastroenterology expert group consensus. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2012; 6(2):248-58.

70- Mc Dermott E, Murphy S, Keegan D, O' Donoghue D, Mulcahy H, Doherty G. Efficacy of Adalimumab as a long term

maintenance therapy in ulcerative colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2013; 7(2):150-3.

71- Biondi A, Zoccali M, Costa S, Troci A, Contessini-Avesani E, Fichera A. Surgical treatment of ulcerative colitis in the biologic therapy era. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2012; 18(16):1861.

72- Xu C, Wang Y, Guo J, Liu J, Feng J. Comparison of age-related differences in expression of antioxidant enzyme mRNA and activity in various tissues of pigs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2007; 147(3):445-51.

73- Esworthy RS, Aranda R, Martín MG, Doroshov JH, Binder SW, Chu F-F. Mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2001; 281(3):G848-G55.

74- Chen J, He Z, Liu H, Cha C. Electrochemical determination of reduced glutathione (GSH) by applying the powder microelectrode technique. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2006; 588(2):324-30.

75- Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica chimica acta*. 2003; 333(1):19-39.

76- Nieto N, Torres M, Fernandez M, Giron M, Rios A, Suarez M, et al. Experimental ulcerative colitis impairs antioxidant defense system in rat intestine. *Digestive diseases and sciences*. 2000; 45(9):1820-7.

77- Sinija V, Mishra H. Green tea: Health benefits. *Journal of nutritional and environmental medicine*. 2008; 17(4):232-42.

78- Namita P, Mukesh R, Vijay KJ. *Camellia Sinensis* (green tea): a review. *Global J Pharmacol*. 2012; 6:52-9

79- Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke Ch. *Physicians' Desk Reference (PDR) For Herbal Medicines*. Medical Economics Company. 2000. p. 369-71.

80- Furuse M, Adachi N, Tomonaga S, Yamane H, Denbow DM. Central functions of green tea components. In: Mckinley H, Jamieson M, editors. *Handbook of green tea and health research*. New York: Nova Biomedical. ; 2009. p. 1-2.

81- Sharma V, Bhattacharya A, Kumar A, Sharma H. Health benefits of tea consumption. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2007; 6(3):785-92.

82- Sutherland BA, Rahman R, Appleton I. Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2006; 17(5):291-306.

83- Buzzini P, Vignolini P, Goretti M, Turchetti B, Branda E, Marchegiani E, et al. Green tea catechins: A class of molecules with antimicrobial activity. In: McKinley H, Jamieson M,

editors. Handbook of Green Tea and Health Research. New York: Nova biomedical; 2009. p.26.

84- Kim YH, Kim DH, Lim H, Baek D-Y, Shin H-K, Kim J-K. The anti-inflammatory effects of methylsulfonylmethane on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2009; 32(4): 651-6.

85- Givan A, Grothe H, Loewenschuss A, Nielsen C. Infrared spectra and ab initio calculations of matrix isolated dimethyl sulfone and its water complex. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2002; 4(2):255-63.

86- Horvath K, Noker P, Somfai-Relle S, Glavits R, Financsek I, Schauss A. Toxicity of methylsulfonylmethane in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2002; 40(10):1459-62.

87- Kalman DS, Feldman S, Scheinberg AR, Krieger DR, Bloomer RJ. Influence of methylsulfonylmethane on markers of exercise recovery and performance in healthy men: a pilot study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2012; 9(1):1-11.

88- Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Alternative medicine review*. 2002; 7(1):22-44.

89- Mohammadi S, Najafi M, Hamzeiy H, Maleki-Dizaji N, Pezeshkian M, Sadeghi-Bazargani H, et al. Protective effects of methylsulfonylmethane on hemodynamics and oxidative stress in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *Advances in pharmacological sciences*. 2012; 2012.

90- Marañón G, Muñoz-Escassi B, Manley W, García C, Cayado P, de la Muela MS, et al. The effect of methyl sulphonyl methane supplementation on biomarkers of oxidative stress in sport horses following jumping exercise. *Acta Vet Scand*. 2008; 50(1):45.

91- Kim L, Axelrod L, Howard P, Buratovich N, Waters R. Efficacy of methylsulfonylmethane (MSM) in osteoarthritis pain of the knee: a pilot clinical trial. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2006; 14(3):286-94.

92- Nakhostin-Roohi B, Niknam Z, Vaezi N, Mohammadi S, Bohlooli S. Effect of single dose administration of methylsulfonylmethane on oxidative stress following acute exhaustive exercise. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2013; 12(4):845-53.

93- Caron J, Monteagudo L, Sanders M, Bannon M, Deckers PJ. Methyl sulfone manifests anticancer activity in a metastatic murine breast cancer cell line and in human breast cancer tissue-part 2: human breast cancer tissue. *Chemotherapy*. 2013; 59(1):24-34.

- 94- Magnuson B, Appleton J, Ryan B, Matulka R. Oral developmental toxicity study of methylsulfonylmethane in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2007; 45(6):977-84.
- 95- Bohlooli S, Mohammadi S, Amirshahrokhi K, Mirzanejad-asl H, Yosefi M, Mohammadi-Nei A, et al. Effect of methylsulfonylmethane pretreatment on aceta-minophen induced hepatotoxicity in rats. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2013; 16(8):896.
- 96- S F, JR W. Acetic acid. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 2002.
- 97- Cheryan M. Acetic Acid Production. *Applied Microbiology: Industrial*. 2009:145.
- 98- Sano K-i, Uchida H, Wakabayashi S. A new process for acetic acid production by direct oxidation of ethylene. *Catalysis surveys from Asia*. 1999; 3(1):55-60.
- 99- Amirshahrokhi K, Bohlooli S, Chinifroush M. The effect of methylsulfonylmethane on the experimental colitis in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*. 2011; 253(3):197-202.
- 100- Medhi B, Prakash A, Avti P, Saikia U, Pandhi P, Khanduja K. Effect of Manuka honey and sulfasalazine in combination to promote antioxidant defense system in experimentally induced ulcerative colitis model in rats. *Indian journal of experimental biology*. 2008 ;46(8):583
- 101- Akerboom T, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in enzymology*. 1980; 77: 373-82.

- 102- Nair S, Singh SV, Krishan A. Flow cytometric monitoring of glutathione content and anthracycline retention in tumor cells. *Cytometry*. 1991; 12(4):336-42.
- 103- Roelofs JJ, Rouschop KM, Leemans JC, Claessen N, de Boer AM, Frederiks WM, et al. Tissue-type plasminogen activator modulates inflammatory responses and renal function in ischemia reperfusion injury. *Journal of the American society of nephrology*. 2006; 17(1):131-40.
- 104- Maity S, Ukil A, Karmakar S, Datta N, Chaudhuri T, Vedasiromoni JR, et al. Thearubigin, the major polyphenol of black tea, ameliorates mucosal injury in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *European journal of pharmacology*. 2003; 470(1):103-12.
- 105- D'Ovidio V, Aratari A, Viscido A, Marcheggiano A, Papi C, Capurso L, et al. Mucosal features and granulocyte–monocyte-apheresis in steroid-dependent/refractory ulcerative colitis. *Digestive and liver disease*. 2006; 38(6):389-94.
- 106- Andreadou I, Papalois A, Triantafillidis JK, Demonakou M, Govosdis V, Vidali M, et al. Beneficial effect of a novel non-steroidal anti-inflammatory agent with basic character and antioxidant properties on experimental colitis in rats. *European journal of pharmacology*. 2002; 441(3):209-14.
- 107- Mahgoub AA, El-Medany AA, Hager HH, Mustafa AA, El-Sabah DM. Evaluating the prophylactic potential of zafirlukast against the toxic effects of acetic acid on the rat colon. *Toxicology letters*. 2003;145 (1):79-87.

- 108- Ghatule R, Shalini G, Gautam M, Singh A, Joshi V, Goel R. Effect of Azadirachta indica leaves extract on acetic acid-induced colitis in rats: Role of antioxidants, free radicals and myeloperoxidase. Asian pacific journal of tropical disease. 2012; 2: S651-S7.
- 109- Mustafa A, El-Medany A, Hagar HH, El-Medany G. Ginkgo biloba attenuates mucosal damage in a rat model of ulcerative colitis. Pharmacological research. 2006; 53(4):324-30.
- 110- Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Ciralik H, Kantarceken B, Buyukbese MA. Beneficial effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats. The Tohoku journal of experimental medicine. 2005; 206(2):131-9.
- 111- Luk HH, Ko JK, Fung HS, Cho CH. Delineation of the protective action of zinc sulfate on ulcerative colitis in rats. European journal of pharmacology. 2002; 443(1):197-204.
- 112- Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. Sulfur containing amino acids and human disease. Biomedicine & pharmacotherapy. 2004; 58(1):47-55
- 113- Atmaca G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. Yonsei medical journal. 2004; 45(5):776-88.
- 114- Battin EE, Brumaghim JL. Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. Cell biochemistry and biophysics. 2009; 55(1):1-23.
- 115- Métayer S, Seilliez I, Collin A, Duchêne S, Mercier Y, Geraert P-A, et al. Mechanisms through which sulfur amino acids

control protein metabolism and oxidative status. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2008; 19(4):207-15.

116- Mochizuki M, Hasegawa N. Protective effect of (-)-epigallocatechin gallate on acute experimental colitis. *Journal of health science*. 2005; 51(3):362-4.

117- Kumar PV, bricey AA, selvi VVt, Kumar CS, Ramesh N. Antioxidant effect of green tea extract in cadmium chloride Intoxicated Rats. *Pelagia research library*. 2010; 1(2):9-13.

118- Perron NR, Brumaghim JL. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*. 2009; 53(2):75-100.

119- Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010; 15(10):7313-52.

120- Camargo AEI, Daguer DAE, Barbosa DS. Green tea exerts antioxidant action in vitro and its consumption increases total serum antioxidant potential in normal and dyslipidemic subjects. *Nutrition research*. 2006; 26(12):626-31.

قائمة الجداول :List of tables

- الجدول ١: نتائج الفحص العياني ٥١
- الجدول ٢: نتائج الفحص النسيجي..... ٥٨
- الجدول ٣: تراكيز الغلوتاتيون في كل مجموعة..... ٧١
- الجدول ٤: تراكيز MPO في كل مجموعة..... ٧٤

قائمة الأشكال List of figures

- الشكل ١: طبقات جدار القولون ٧
- الشكل ٢: إنتاج ROS و RNS في المتقدرة..... ١٦
- الشكل ٣: سبل تشكل الأنواع التفاعلية..... ١٧
- الشكل ٤: ثمرة الشاي الأخضر..... ٢٩
- الشكل ٥: أوراق الشاي الأخضر..... ٣٠
- الشكل ٦: البنية الكيميائية للكاتشينات..... ٣٢
- الشكل ٧: تأثيرات البولي فينولات..... ٣٣
- الشكل ٨: مثال عن التصنيف العياني ٠..... ٥٣
- الشكل ٩: مثال عن التصنيف العياني ١..... ٥٣
- الشكل ١٠: مثال عن التصنيف العياني ٢..... ٥٤
- الشكل ١١: مثال عن التصنيف العياني ٢..... ٥٤
- الشكل ١٢: مثال عن التصنيف العياني ٣..... ٥٥
- الشكل ١٣: مثال عن التصنيف العياني ٥..... ٥٥
- الشكل ١٤: مثال عن التصنيف العياني ٦..... ٥٦

- الشكل ١٥ : تأثير MSM والشاي على الموجات العيانية.....٥٧
- الشكل ١٦ : جدار قولوني طبيعي بتكبير ٥.....٥٩
- الشكل ١٧ : جدار قولوني طبيعي بتكبير ٢٠.....٦٠
- الشكل ١٨ : جدار قولوني طبيعي بتكبير ١٠.....٦٠
- الشكل ١٩ : جدار قولوني طبيعي بتكبير ٢٠.....٦١
- الشكل ٢٠ : ارتشاح خفيف في الصفحة المخصصة بتكبير ٥.....٦١
- الشكل ٢١ : ارتشاح خفيف في الصفحة المخصصة بتكبير ١٠.....٦٢
- الشكل ٢٢ : ارتشاح خفيف في الصفحة المخصصة بتكبير ١٠.....٦٢
- الشكل ٢٣ : ارتشاح خفيف في الصفحة المخصصة بتكبير ٢٠.....٦٣
- الشكل ٢٤ : ارتشاح خفيف في الصفحة المخصصة بتكبير ٥.....٦٣
- الشكل ٢٥ : ارتشاح خفيف في الصفحة المخصصة بتكبير ١٠.....٦٤
- الشكل ٢٦ : تقرح سطحي بؤري بتكبير ١٠.....٦٤
- الشكل ٢٧ : تقرح سطحي بؤري بتكبير ٢٠.....٦٥
- الشكل ٢٨ : تقرح عميق بتكبير ١٠.....٦٥

- الشكل ٢٩: نقرح عميق بتكبير ٢٠.....٦٦
- الشكل ٣٠: نقرح عميق بتكبير ١٠.....٦٦
- الشكل ٣١: نقرح عميق بتكبير ٤٠.....٦٧
- الشكل ٣٢: نخر ضمن الجدار المعوي بتكبير ١٠.....٦٧
- الشكل ٣٣: نخر ضمن الجدار المعوي بتكبير ٤٠.....٦٨
- الشكل ٣٤: تأثير MSM والشاي على الموجودات النسيجية.....٦٩
- الشكل ٣٥: تأثير MSM والشاي على تركيز الغلوتامين.....٧٢
- الشكل ٣٦: تأثير MSM والشاي على تركيز MPO.....٧٤

List of abbreviations قائمة الاختصارات

الاختصار	المصطلح
UC	Ulcerative colitis
ROS	Reactive oxygen species
RNS	Reactive nitrogen species
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
MAdCAM	Mucosal addressin cell adhesion molecule
ICAM-1	Intracellular adhesion molecule -1
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
NF-K β	Nuclear transcription factor- kappa β
PMNs	Poly morpho nuclears
NADPH	Nicotine adenine dinucleotide phosphate
SOD	Superoxide dismutase
MPO	myeloperoxidase
NO	nitric oxide
iNOS	inducible nitric oxide synthase
MDA	Malondialdehyde
ASA - 5	5-aminosalicylic acid
AZA	Azathioprine
6-MP	mercatopurine - 6
6-TG	6-thioguanine
6-TGN	6-thioguanine nucleotides
CAT	Catalase
ECG	Epicatechin gallate
EC	epicatechin
EGC	Epigallo catechin
EGCG	Epigallo catechin gallate
LDL	low density lipoprotein
DMSO	dimethyl sulfoxide

:الملحق Appendix

تم نشر مقالة انكليزية بعنوان :

**reduced oxidative Methylsulfonylmethane and green tea extract
stress and inflammation in an ulcerative colitis.**

في مجلة Asian journal of pharmaceutical and clinical research

وتمت الموافقة على نشر مقالة انكليزية أخرى بعنوان :

**Evaluating the prophylactic potential of methylsulfonylmetane
against acetic acid-induced colitis in rats.**

في مجلة International journal of pharmaconosy and phytochemical
research