# التأثير العلاجي المشترك لفيتامين د٣ و الميثوتريكسات في نموذج تجريبي لإلتهاب المفاصل الروماتويدي المحدث بالكولاجين


إعداد

أفراح عوض القرني


رسالة مقدمة لاستكمال متطلبات الحصول على درجة الماجستير

( العلوم الطبية / علم الأدوية )


إشراف

ا.د. مي عبدالعليم عبدالستّار أحمد

د.إبراهيم محمد أيوب إبراهيم

كلية الطب

جامعة الملك عبدالعزيز

المملكة العربية السعودية


١٤٤٤ هـ/ ٢٠٢٣ م

# المستخلص


يُعد التهاب المفاصل الروماتويدي التهاباً مناعياً ذاتياً مزمناً وقد يؤدي إلى انخفاض في جودة الحياة. ويعتبر الميثوتريكسات دواءً أساسياً في علاجه. وقد لُوحظ إن استخدام الميثوتريكسات وحده قد لا يعالج التهاب المفاصل الروماتويدي بشكل كامل وقد يتسبب في آثار جانبية غير مرغوب بها. ويعتبر فيتامين د٣ أحد أكثر العوامل البيئية التي تؤثّر في التهاب المفاصل الروماتويدي.حيث وُجِد أن مستويات فيتامين د٣ في الدم ترتبط بشكل عكسي مع نشاط التهاب المفاصل الروماتويدي. ولذلك فلقد كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير المشترك المحتمل لفيتامين د٣ و الميثوتريكسات في نموذج تجريبي لإلتهاب المفاصل الروماتويدي الناجم عن الكولاجين في الجرذان.

**طُرق البحث:** لقد أُستخدمت في هذه الدراسة ستة وثلاثون جرذ ويستر وقُسمت إلى ست مجموعات كل منها يتكون من ستة جرذان. المجموعة الأولى كانت بمثابة المجموعة الضابطة. تم تحصين المجموعات الخمس الأخرى داخل الأدمة بجرعتين من مستحلب الكولاجين البقري من النوع الثاني في اليوم صفر واليوم السابع. أما المجموعة الثانية كانت بمثابة المجموعة الضابطة الإيجابية لبقية المجموعات المُعالجة ،في حين تم علاج المجموعة الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة بفيتامين د٣ جرعة ١ و ٢ (١٠ ميكروغرام / جرذ و ٢٠ مايكروغرام/جرذ) , ميثوتريكسات (٢ مق/كجم/ جرذ) والعلاج المشترك (ميثوتريكسات و فيتامين د٣ جرعة ٢ ), على التوالي لمدة ثلاثين يوماً. ولقد تم تقييم درجات التهاب المفاصل مرتين أسبوعياً ، وتم جمع عينات الدم في نهاية الدراسة لتقييم البروتين التفاعلي , الاجسام المضادة للكولاجين من النوع الثاني , عامل نخر الورم ألفا, انترلوكين- ١ بيتا , انترلوكين - ٦, الالبومين , مالونديالديهيد , الجلوتاثيون, انزيم ناقلة أمين الألالين , انزيم ناقلة أمين الأسبرتات , ومستوى الكالسيوم.

**النتائج:** أظهرت النتائج أن العلاج بيفيتامين د٣ سواءاً بمفرده أو مضافاً إلى الميثوتريكسات قد قلل بشكل كبير من درجات التهاب المفاصل وكذلك مؤشرات الالتهاب ( البروتين التفاعلي , الأجسام المُضادة للكولاجين من النوع الثاني , عامل نخر الورم ألفا , انترلوكين-١ بيتا , انترلوكين-٦ )بينما تسبب بشكل كبير بزيادة الألبومين . علاوة على ذلك , فقد انخفض مؤشر الإجهاد التأكسدي (مالونديالديهيد) بشكل ملحوظ بينما زاد (الجلوتاثيون) مقارنة بالمجموعة الضابطة الإيجابية . وبالنسبة لمؤشرات وظائف الكبد ومستوى الكالسيوم فقد لوحظ انخفاضاً كبيراً في مستوياتها مقارنةً بالمجموعة الضابطة الإيجابية . علاوةً على ذلك , فقد تم تحسين معظم التغيرات النسيجية المرضية.

**الخلاصة:** أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن لفيتامين د٣ تأثيرًا مفيدًا يعتمد على الجرعة والوقت في علاج التهاب المفاصل الروماتويدي.وقد يكون هذا مُرتبطًا بكونه مضاداً للالتهابات ومضاداً للأكسدة. ولقد كان للعلاج بفيتامين د٣ والميثوتريكسات تأثيراً ذا دلالةٍ معنويةٍ أكثر من العلاج بأيّهما على حده مما يلقي الضوء إلى أهمية القيام بالمزيد من الدراسات التجريبية والسريرية لتحديد دور فيتامين د٣ في منع أو علاج التهاب المفاصل الروماتويدي.



**الكلمات المفتاحية: التهاب المفاصل الروماتويدي , التهاب المفاصل المستحدث بالكولاجين , ميثوتريكسات , فيتامين د٣ , التوتر التأكسدي , الالتهاب**

# Potential Combined Therapeutic Effect of Vitamin D3 and Methotrexate in an Experimental Model of Collagen-Induced Rheumatoid Arthritis

**By**

**Afrah Awadh Alqarni**

**A Thesis Submitted for the Requirements of the Degree of Master**

**(Medical Science/Pharmacology)**

**Supervised By**

**Prof. Dr. Mai Abdul-Alim Abdul-Sattar Ahmad**

**Dr. Ibrahim Mohammed Ayoub Ibrahim**

**FACULTY OF MEDICINE**

**KING ABDULAZIZ UNIVERSITY**

**SAUDI ARABIA**

**1444 H / 2023 G**

## Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic autoimmune inflammatory disorder that is associated with decreased quality of life. Methotrexate (MTX) is a cornerstone disease-modifying anti-rheumatic drug. Unfortunately, using MTX alone may not fully manage RA and may cause undesirable side effects. Vitamin D3 (V.D3) is one of the most related environmental factors influencing the development of RA in which serum levels of V.D3 correlate negatively with RA activity. So, **the aim of the present study** was to investigate the potential combined effect of V.D3 and MTX in an experimental model of collagen-induced rheumatoid arthritis in rats.

**Methods**: Thirty-six Wistar rats were divided into (6) groups; 6 rat each. Group I served as control. The other five groups were immunized intradermal with 2 doses of bovine type II collagen emulsion on day 0 and day 7. Group II served as positive control, group III, IV, V and VI were treated with V.D3 (10 μg/rat &20 μg/rat), MTX (2mg/kg) and combined (V.D3 20 μg/rat & MTX), respectively for 30 days. Arthritis score was evaluated twice weekly, blood samples were collected at the end of the study to assess C-reactive protein (CRP), anti-type II collagen antibodies (anti-CII), tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interleukin 1-beta (IL-1β), interleukin 6 (IL-6), albumin, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), aspartate aminotransferase (AST), alanine Aminotransferase (ALT) and calcium level. In addition to histopathology analysis.

**Results:** The present findings showed that treatment with V.D3 either alone or in combination with MTX significantly decreased arthritis scores as well as the inflammatory markers (CRP, anti-CII, TNF-α, IL-1β, IL-6) with a significant increase in albumin. Moreover, the oxidative stress marker MDA was significantly decreased while GSH increased as compared to the positive control. For the liver function markers (AST and ALT) and calcium level, a significant decreased were observed when compared to the positive control. Furthermore, most of the histopathological changes were improved by either or combined treatment.

**Conclusion**: Vitamin D3 showed a dose and time-dependent beneficial effect in the management of RA. This could be related to anti-inflammatory and anti-oxidant effect. Combined therapy of V.D3 and MTX have potentiated the anti-arthritic effect than either treatment alone. This may shed the light on the importance of more experimental and clinical studies to establish the role of V.D3 in treating RA.



**Keywords:** Rheumatoid arthritis, Collagen induced arthritis, Methotrexate, Vitamin D3, Oxidative stress, Inflammation