

تأثير عقار الميترونيدازول (الفلاجيل) في كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض وفعالية ثلاثة انزيمات في مصل دم اناث الفئران البيض

عبد علي ذاكر
لمياء كاظم عبيد
ثائر عبد القادر صالح
جامعة الانبار -كلية العلوم

الخلاصة

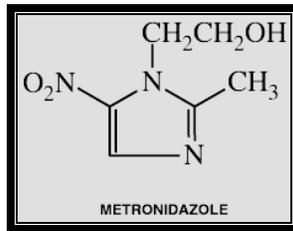
يعد عقار الميترونيدازول ومشتقاته من المضادات الحيوية التي تؤثر على الإبتدائيات والبكتيريا داخل جسم الانسان . وقد أظهرت عددا من الدراسات سمية هذا العقار للكبد وللكلية وبعض أعضاء الجسم الاخرى. الهدف من هذه الدراسة هو معرفة بعض التأثيرات الضارة المحتملة لهذا العقار في اناث الفئران البيض (Albino Female mice) البالغة. فقد تم متابعة بعض المعايير الدموية بعد تجريع المستحلب الدوائي للميترونيدازول بتركيزات مختلفة (200 و 400 و 600 ملغم/كغم/يوم) للفئران مع ماء الشرب لمدة 45 يوماً . سبب التجريع انخفاضاً معنوياً في معدلات عدد كريات الدم الحمر RBC وخلايا الدم البيض WBC وكما سبب التجريع ارتفاعاً معنوياً في فعالية الانزيم GOT وانخفاضاً معنوياً في فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alp).

الكلمات المفتاحية : ميترونيدازول ،كريات الدم الحمر ، خلايا الدم البيض ، GOT ، الفوسفاتيز القاعدي.

المقدمة

سيولة الدم) ، عند تناوله ودخوله إلى الجسم تعمل بعض الإنزيمات على تحويله إلى مركب نشط وسام للأحياء المجهرية والطفيليات مما يؤثر في حامضها النووي DNA فيمنع تكاثرها داخل الجسم ، وهو ذو وزن جزيئي 171.16 دالتون ويمتلك صيغة جزيئية $C_6H_9N_3O_3$ ، ويبين الشكل (1) تركيبه الكيميائي(3).

يعتبر عقار الميترونيدازول (Metronidazole) من المضادات الحيوية والدواء المفضل لعلاج الإصابات الطفيلية المعوية والبكتيريا اللاهوائية في الإنسان والفئران وبعض الحيوانات الاخرى وله أسماء تجارية كثيرة مثل (Flagyl ، Elyzol , Flazol ,Metrolag , Sharizol) (2,1) ، وهو ذو مذاق مر في الفم ، يعتبر من مميعات الدم (يساعد على



الشكل (1) التركيب الكيميائي لعقار Metronidazole

حرارة بلغت (25 ± 5 درجة مئوية)، ورطوبة نسبية (40 ± 7)، وضاءة (14 ساعة ضوء - 10 ساعات ظلام) ، حيث تم قياس درجة الحرارة والرطوبة النسبية بواسطة جهاز Thermohygrograph ، تم تغذية الفئران على عليفة غذائية (محضرة في المركز الوطني اعلاه)، بمعدل 25غم لكل خمس فئران في اليوم .

لقد تم حساب الجرعة على أساس الجرعة المستخدمة للإنسان البالغ وهي 125ملغم/5 مل والمثبتة على العبوة المتداولة في الصيدليات ، تمت عملية التجريع و إعطاء العقار عن طريق الفم بإستعمال الماصة الدقيقة ذات نيدل يحتوي في نهايته كرة مثقوبة من الوسط والتي من خلالها يدخل العقار إلى الفم لضمان إعطاء كمية الجرعة كاملة ، واستغرقت فترة التجريع اليومي مدة 45 يوم .

جمع عينات الدم وإجراء التحاليل

تم تخدير الحيوانات بواسطة استعمال قطعة من القطن المشبعة بالكوروفورم (Chloroform) ، ومن ثم فتح تجويف البطن لكل حيوان بشكل حرف T ، تم سحب عينات الدم من القلب مباشرة للحصول على أكبر كمية ممكنة من الدم ، وضعت عينات الدم في عبوات خاصة من نوعين ، الأولى الأتاييب ذات الغطاء الأبيض غير الحاوية على مانع تخثر أما الثانية بالغطاء الأحمر والحاوية على مانع تخثر الدم (الهيبارين) ، أجريت عليها الفحوصات المختبرية مباشرة ، حيث فحصت العينات الخاصة بكل من RBC و WBC والهيموغلوبين (Hb) باستخدام جهاز تحليل الدم الأوتوماتيكي (Ruby) . أما قياس الأنزيمات GOT و GPT و Alp في مصل الدم فقد تمت باستخدام جهاز Reflatron ، وأخذت القراءة مقدره بوحدة دولية/لتر

التحليل الإحصائي

تم تحليل البيانات إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي الشامل Social Package Statistical System (spss الاصدار (17)) . أما إختبار المتوسطات فقد تم وفق إختبار ANOVA لتحليل التباين . إختبرت معنوية الفروق بين المعدلات عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$ (لجميع التحاليل) وباستعمال إختبار L. S. D. (12) .

النتائج والمناقشة

يوضح الشكل (2) ان عقار الميترونيدازول قد سبب خفض عدد كريات الدم الحمراء ، فقد كان $8,99 \times 10^6$ كرية/ملم³

ان عقار ال Metronidazole ذو إستقطاب محب للدهون وله القابلية على الإنتشار في الأنسجة الحية بصورة جيدة إذ يتم ليض الميترونيدازول أولاً في الكبد والذي سريعاً ما يعبر حاجز الدماغ الدموي وهو ما أثبتته البحوث في حدوث بعض الحالات كأعراض جانبية للدواء ومنها التقيء وتسمم الكبد ودوار الرأس في بعض الحيوانات وكذلك الإنسان (4) ، إن ميكانيكية التأثير السام لل Metronidazole ما زالت غير معروفة ، ومع هذا فقد تم تحديد الفترة التي حدث فيها الميترونيدازول تأثيرات سمية في الجهاز العصبي للكلاب مثلاً وهي من 1-2 أسبوع (6,5) . أوضحت بعض الدراسات ان استخدام ال - Labeled C14 ميترونيدازول والتحري عنه بواسطة هذه المادة المشعة لوحظ تراكم الدواء بشكله غير المتأيض في المخيخ ومنطقة Hippocamp في أدمغة الفئران بعد تجريعها وريدياً بهذا العقار المُطَم كما أثبتت البحوث حدوث أعراض جانبية في الجهاز العصبي المركزي ترافق التعاطي لعقار الميترونيدازول وظهور التأثيرات السمية في الانسان (7،8،9،10،11) . بسبب التأثيرات السمية لهذا العقار وتعاطيه بصورة واسعة ومستمرة في مختلف أنحاء العراق كانت هذه الدراسة التي من خلالها يتم متابعة التغيرات التي تحدث في قيم بعض المعايير الخلوية الدموية وبعض الانزيمات في مصل دم إناث الفئران البيض بعد تناول الاخيرة للميترونيدازول.

المواد وطرائق العمل استخدم العقار المتداول في

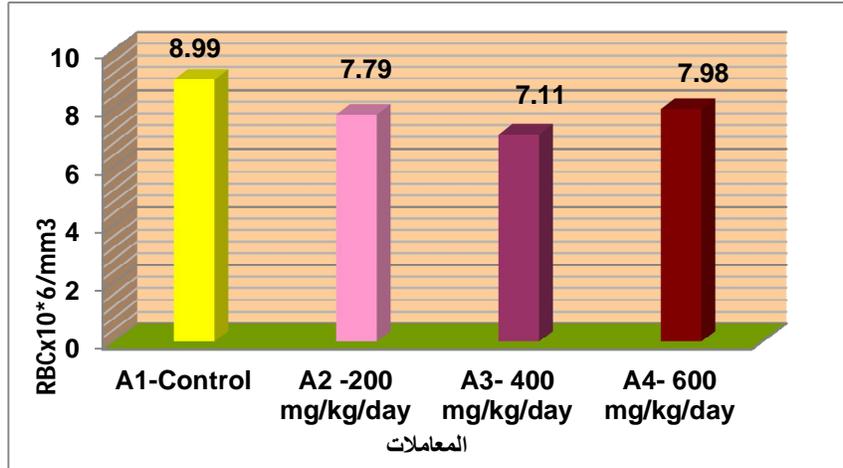
الصيدليات المحلية وبالتركيز 125ملغم/ 5 مل ، وقد أجريت التخافيف المطلوبة في تجريع إناث الفئران البيض لتكون 200 و 400 و 600 ملغم/كغم/يوم للمجاميع A2 و A3 و A4 على التوالي، وبواقع عشرة فئران للمجموعة الواحدة . وكان تجريع المعلق مع ماء الشرب. أما المجموعة الضابطة A1 فقد عوملت بالماء المقطر فقط .

تم استخدام 40 أنثى من الفئران السويسرية البيضاء سلالة Albino mice Balb -C والتي اختيرت بشكل عشوائي في هذه الدراسة بأعمار متقاربة بلغت (60 ± 3 يوم) وبمعدل وزن الجسم مقداره 28 ± 2 غم ، تم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع الى المركز الوطني للرقابة والبحاث الدوائية التابع لوزارة الصحة في بغداد ، وضعت الفئران في أقفاص بلاستيكية مفروشة الأرضية بنشارة الخشب الناعمة ، وكانت العناية بتنظيف وغسل وتعقيم الأقفاص تتم كل ثلاثة أيام ، أما الظروف البيئية للحيوانات خلال فترة التجربة كانت بدرجة

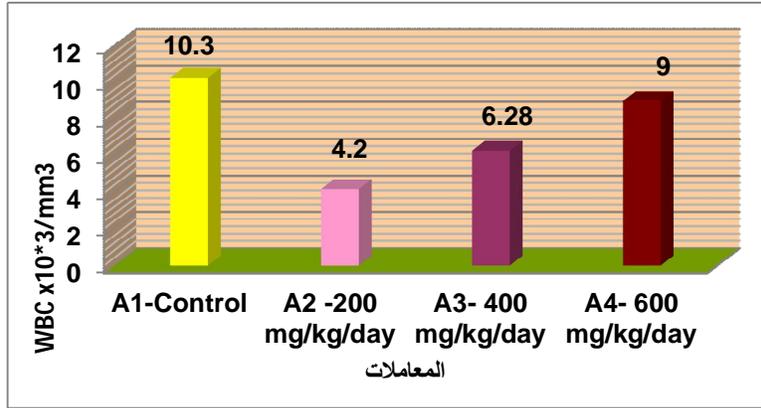
نشاط تثبيطي في نخاع العظم والاعضاء للمفاوية (2) . نتائج الدراسة الحالية تتوافق مع ما جاءت به الدراسة (13) ، والتي توصلت الى أن التجريع بعقار الميترونيدازول ولمدة شهرين لذكور الفئران السويسرية عن طريق الفم أدت الى ظهور علامات فقر الدم عليها ومنها قلة عدد كريات الدم الحمراء والبيض إضافة الى قلة النسبة المئوية للهيموغلوبين ، وفي دراسة اخرى (14) لوحظ بان اعطاء العقار بتركيز مختلفة قد سبب نقصان في وزن الطحال وتأثيرا سلبيا على اللب الابيض للطحال وتضخم في لب الغدة الصعترية. وعند معاملة الأرنب وتجريعها عضليا ونسبة 2غم/كغم/يوم ولمدة شهر واحد أدى الى الموت المباشر لعدد كبير من العينة المعاملة بالميترونيدازول وعند إجراء التشريح لهذه الأرنب لوحظ تضخم وحدث أضرار في أكبادها وتلونها في المنطقة الخارجية باللون الاصفر (15) .

في حيوانات تجربة السيطرة بينما كان $7,79 \times 10^6$ و $7,11 \times 10^6$ كرية/ملم³ عند التراكيز 200 و 400 و 600 ملغم/كغم/يوم على التوالي . كما انخفض عدد خلايا الدم البيض معنويا ، حيث كانت في حيوانات تجربة السيطرة 10300 كرية/ملم³ بينما في الحيوانات المعرضة للعقار كانت 4200 و 6280 و 9000 كرية/ملم³ عند التراكيز 200 و 400 و 600 ملغم/كغم/يوم على التوالي (الشكل 3). اما كمية الهيموغلوبين فقد انخفضت كذلك تحت تأثير العقار (شكل 4) ، فقد كانت في حيوانات تجربة السيطرة 13.07% وفي الحيوانات المعرضة بلغت النسبة 11.83 و 11.35 و 12.18 % عند التراكيز 200 و 400 و 600 ملغم/كغم/يوم على التوالي الا ان الانخفاض لم يكن معنويا .

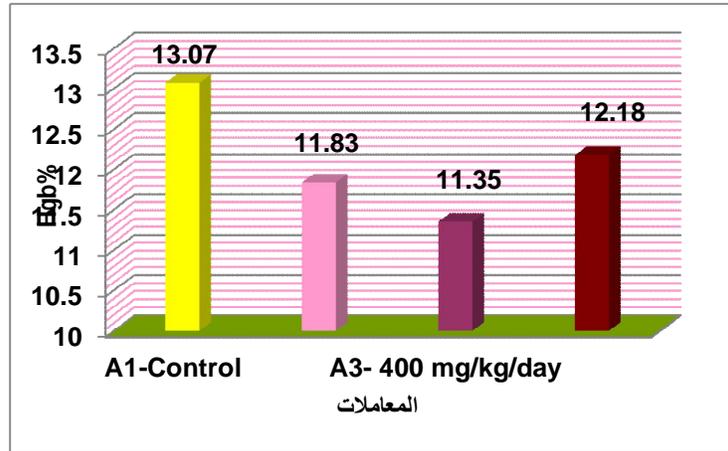
ان سبب الاختلاف في المعايير الدموية قد يعود الى تأثير عقار الميترونيدازول على بعض المسارات الايضية الخاصة بتصنيع كريات الدم البيض او الحمر او زيادة فعالية او تخليق العوامل المؤثرة في انتاج الكريات او الهيموغلوبين ، وقد ينشأ هذا التأثير من خلال التأثير على الانسجة ذات العلاقة المسؤولة عن الاداء الوظيفي لها، فقد وجد ان لهذا العقار



شكل (2) تأثير عقار الميترونيدازول على عدد كريات الدم الحمر RBC في دم إناث الفئران البيض مقارنة بمعاملة السيطرة .



شكل (3) تأثير عقار الميترونيدازول على عدد خلايا الدم البيض WBC في دم إناث الفئران البيض مقارنة بمعاملة السيطرة .



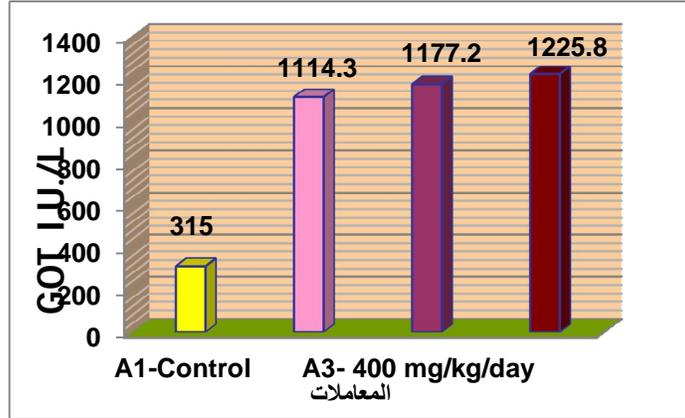
شكل (4) تأثير عقار الميترونيدازول على نسب معدلات الهيموكلوبين المنوية في دم إناث الفئران البيض مقارنة بمعاملة السيطرة .

تجربة السيطرة و 91,3 و 137,7 و 148,5 وحدة دولية/لتر في الحيوانات المعرضة الى العقار بتركيز 200 و 400 و 600 ملغم/كغم/يوم على التوالي. إن ميكانيكية عمل الميترونيدازول تتضمن عملية اختزال مجموعة النتروز Nitroreduction والذي يولد قابلية إرتباط electrophiles ، والتي تؤدي بالتالي الى الارتباط بال DNA الذي قد يسبب حدوث مستويات من بالطفرات المؤثرة في الايض تحت تأثير التراكم الدوائي للميترونيدازول في أماكن مهمة كالكلب والكلى والدماغ ، وان هذه التأثيرات قد تكون سببا مهما في تغيير فعالية الانزيمات او التأثير في معدل انتاجها ، كما أثبتت البحوث الخاصة بمسببات السرطان ان التعرض الطويل للميترونيدازول لكل من الجرذان والفئران والهامستر وبمختلف التركيزات ادت الى حدوث أورام

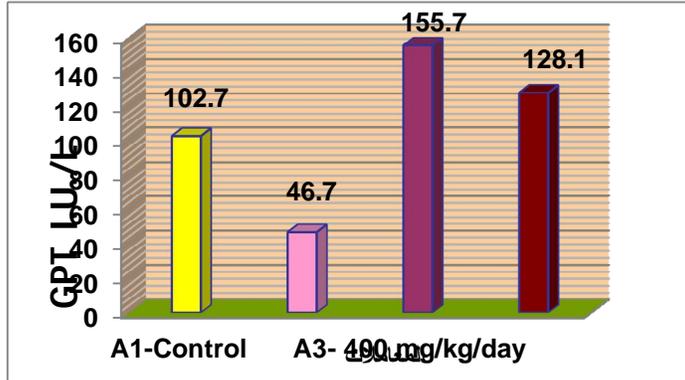
ان فعالية الانزيمين الناقلين للامين GOT و GPT وانزيم الفوسفاتيز القاعدي Alp هي الاخرى اظهرت تغيرا في فعاليتها عند تجريع اناث الفئران عقار الميترونيدازول (الاشكال 5 و 6 و 7). فقد كانت فعالية الانزيم الناقل للامين GOT 315 وحدة دولية/لتر في حيوانات تجربة السيطرة بينما بلغت 114,3 و 1177,2 و 1225,8 وحدة دولية/لتر في الحيوانات المعرضة الى 200 و 400 و 600 ملغم/كغم/يوم على التوالي، بينما كانت فعالية الانزيم GPT في حيوانات تجربة السيطرة 102,7 وحدة دولية/لتر في حين كانت 155,7 و 128,1 وحدة دولية/لتر في الحيوانات المعرضة الى 400 و 600 ملغم/كغم/يوم على التوالي . اما انزيم الفوسفاتيز القاعدي فقد بلغت فعاليته 153.7 وحدة دولية/لتر في حيوانات

عقار الميترونيدازول في جسم الحيوان ، سواء كان ذلك ارتفاعا
أم انخفاضاً فكلها قد تعتبر مؤشرات لحدوث خلل في وظائف
الكبد او في بعض وظائف الاعضاء الاخرى .

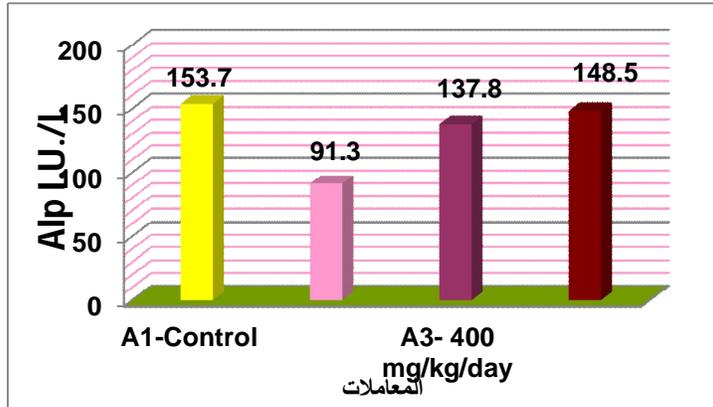
سرطانية وفي أماكن مختلفة من الجسم ومعظمها من الاورام
كانت في الكبد والرئة وخاصة في إناث الفئران والجرذان
والهامستر (6) ، وعليه فإن الإختلاف الحاصل في أنزيمات الكبد
المفحوصة من خلال عينات الدم تعد مؤشرات لأيض واستقلاب



شكل (5) تأثير عقار الميترونيدازول على فعالية أنزيم GOT في مصلى إناث الفئران البيض مقارنة بمعاملة السيطرة .



شكل (6) تأثير عقار الميترونيدازول على فعالية أنزيم GPT في مصلى إناث الفئران البيض مقارنة بمعاملة السيطرة .



شكل (7) تأثير عقار الميترونيدازول على فعالية أنزيم Alp في مصلى إناث الفئران البيض مقارنة بمعاملة السيطرة .

- المصادر
- 8- Rogulja, P.V., Kovac, W., Schmid, H.(1970). Metronedazole-En cephalopthie der Ratte. Acta Neuropathol (Berlin) 25:35-45,1973.
 - 9- Saxon, B., Magne, M.L.(1993). Reversible central nervous system toxicosis associated with metronidazole therapy in three cats. Prog Vet Neurol 4:25-27,1993.
 - 10- Wright, K.H., Tyler, J.W.(2003). Recognizing metronidazole toxicosis in dogs. Vet Med 98:410-418,2003.
 - 11- Sohrabi, D., Alipour, M. and Awasat Mellati A., (2007). Effect of Metronidazole on spermatogenesis, plasma Gonadotrophins and Testosterone in Male Rats. Iranian Journal of pharmaceutical Research ,6(4):279-283.
 - 12- SPSS Release (17). Software for Personal Computers. (2011).
 - 13- Francis J.C., Roe D.M., D. Sc., F.R.C. Path. Independent Consultant in Toxicology. (1983). Safty of Nitromidazoles . www.google.com.
 - 14- Fararjeh, M., Mohammad K. M., Bustanji, Y.B., Alphatib, H. and Abdalla, S. . (2008). Evaluation of immunosuppression induced by metronidazole in Balb/c mice and human peripheral blood lymphocytes. International Immunopharmacology . 8 , 341- 350.
 - 16- Yobs A.R., CLARK JW. Jr., Schroeter A. L., Post, W. E. Jr, and Field F. W.. (1966). Effect of a Nitro-imidazole on primary experimental syphilis in Rabbits. Br J vener Dis. (1966), 42(2): 122-124.
 - 1- Loesche, W. J. : Syed , S. A.: Morrison ,E. C.: Laughon , B. and Grossman , N . S., Treatment of periodontal infections due to anaerobic bacteria with short-term treatment with metronidazole . Journal of Clinical Periodontology 1981: 8: 29-44
 - 2- El-Nahas, AF, El-Ashmawy IM. Reproductive and cytogenetic toxicity of metronidazole in male mice. Pharmacol Toxicol 2004;5:226 – 31.
 - 3- Evans, J., Levesque D., Knowles K., Longshore R., and Scott Plummer. (2003). Diazepam as a Treatment for Metronidazole Toxicosis in Dogs: A Retrospective study of 21 cases. Jvet Intern Med 2003.17:304-31
 - 4- Olson, E.J., Morales S.C., McVey A.S., and Hayden D.W. (2005). Putative Metronidazole Neurotoxicosis in cat. published by SAGE. <http://www.sagepublication.com/content/42/665>.
 - 5- Alvarez , RS., Richardson DA., Bent DA., Ostregard DR: Central nervous system toxicity related to prolonged metronidazole therapy. AmJ obstet Gynecol 145:640-641,1983.
 - 6- Finegold, SM. Metronidazole. Ann Intern Med 1980.,93:585-587.
 - 7- Kusumi, R.K., Pouffe, J.F., Wyatt, R.H., Fass, R.J. (1980). Central nervous system toxicity associated with metronidazole therapy. Ann Intern Med 93:59-60,1980.

EFFECT OF METRONIDAZOLE (FLAGYL) ON RBC, WBC AND ACTIVITY OF THREE ENZYMES IN THE BLOOD SERUM OF ALBINO FEMALE MICE

ABED.A. THAKER, LAMIA . ALLHEBI THAER. A. SALIH

E.mail: thakerscianb@yahoo.com

ABSTRACT

Metronidazole is a drug used against bacteria and protozoa in the body. The toxicity of metronidazole to kidney, liver and other organs has been shown in some studies. The purpose of this study was to examine the effects of metronidazole (200,400 and 600 mg/kg /day) with drinking water for 45 days on some blood parameters in mature female mice (albino). Metronidazole caused a significant decrease in RBC, WBC and in the activity of Alkaline phosphatase, and caused a significant increase in the GOT activity.