تقصـي فعاليـة الاسـبرين وبعـض مضـادات الالتهـاب اللاسترويدية
في الخلايا الجرثومية (البكتريا)

أستاذ مساعد في كلية الطب البشري - جامعة دمشق
قسم النسج والتشريح والجنين

د. محمد عبد المحسن معارج الحجاج

ملخص

تحدث في أحيان عديدة تفاعلات دوائية مؤدية إلى تثبيط نشاط أنزيم أو مستقبل خلوي ما كما هي الحال في الارثرومايسين، سيميتيدين، سبروفلوكساسين والميترونيدازول.

ويمكن للاسبرين وبعض مضادات الالتهاب اللاسترويدية الأخرى كالاندوميتاسين والابيوبروفين، أن تتفاعل مع أدوية أخرى لزيادة فعالية هذه الأدوية في علاج أمراض محددة.

وبالإضافة إلىالدور العلاجي الأساسي للاسبرين ومضادات الالتهاب اللاسترويدية الأخرى، تشير بحوث عدّة إلى تأثيراتها الأخرى وذلك من خلال آلية خاصة.

حاولنا في هذا البحث تقصي وفحص نشاط الأسبرين والاندوميتاسين والابيوبروفين المضاد لسلالات معينة من الجراثيم في الزجاج كمرحلة أولية للانطلاق إلى تجارب لاحقة. وقد اتضح من خلال التجارب العلمية أنّ التأثير القاتل من قبل الأسبرين وكذلك الاندوميثاسين والابيويروفين للجراثيم المستخدمة بجرعة ١غم/ليتر. وتقل هذه الجرعات باستخدام المضاد الحيوي الازيتروميد المستخدم في هذه التجارب ضمن الوسط الغذائي مما يؤكد فعاليتها العلاجية والتي يمكن الاستفادة منها طبياً، ولاسيما الذين يعانون من الحساسية لمثل هذه المضادات الحيوية .

Screening The Antibacterial Activity Of Aspirin
And Some NSAIDS

Abstract

Dr. Mohamad A. M. ALHAJAJ
Department Of Anatomy. Histology And Embryology – Faculty Of Medicine – Damascus

Drug interaction are especially likely to occur with enzyme inhibitors such as erythromycin, cimetidine, ciprofloxacin and metronidazole.

Anti – inflammatory druge including aspirin, indomethacin, ibuprofen and others nonsterodial anti – inflammatory drugs (NSAIDs) maybe interacts with many drugs to increase their effect for treatment certain diseases.

Many invetigations recently indicates that aspirin and NSAIDs, in addition to their main role, play as antibacterial and anti uiral activity with special mechanisms, or when they are associates with other drugs.

In this investiagtion we had examined the activity of aspirin, indomethacin, ibuproen on certain Bacterial strains (in vitro) as start step for going on next investigation.

في الخلايا الجرثومية (المرحلة الأولى)

مقدمة

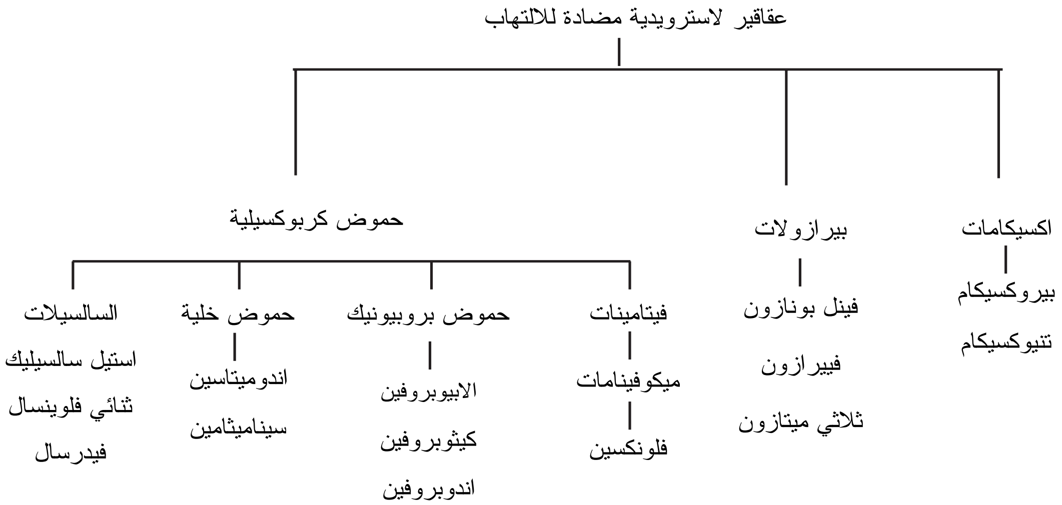
إن ما تم اكتشافه من قبل <<ستون>> عام ١٧٦٣ - دون أن يعلم - بأن السلسلات Salicylate، وهو المصطلح العام لمشتقات حمض الساليسيليك Salicylic، تخفض الحمى وتشفي من الآلام الخفيفة التي تنجم عن مجموعة من الأمراض المزمنة. ويعدُّ استيل حمض الساليسيليك الأكثر استخداماً في الوقت الحاضر ويشتهر باسمه التجاري الأسبرين Aspirin. وبالإضافة إلى آثاره في خفض درجات الحرارة، فإن الجرعات العالية (أربعة إلى ثمانية غرامات يوميا) تقلل من احمرار وتورم المفاصل الناجمة عن بعض الأمراض مثل الحمى الرثوية theumatic fever والنقرسgout وغيرها.

وللاسبرين آثار بيولوجية (حيوية) عديدة مثل استثاره فقدان حمض البول من الكلى وقتل البكتريا (الجراثيم) بالإضافة إلى منعه تخثر الدم. كذلك يستخدم الاسبرين لمنع انتقال الشوارد (الأيونات) عبر الأغشية الخلوية.

ويستخدم علماء البيولوجيا الجزيئية مركبات الأسبرين لتثبيط المورثات (الجينات) التي ترمز لبروتينات الصدمة الحرارية shock–heat ضمن الصبغيات الريشية Lampbrush chromosomes لحشرة الفاكهة Drosophila بالإضافة لما يستخدمه النباتيون لحث بعض النباتات على الإزهار.

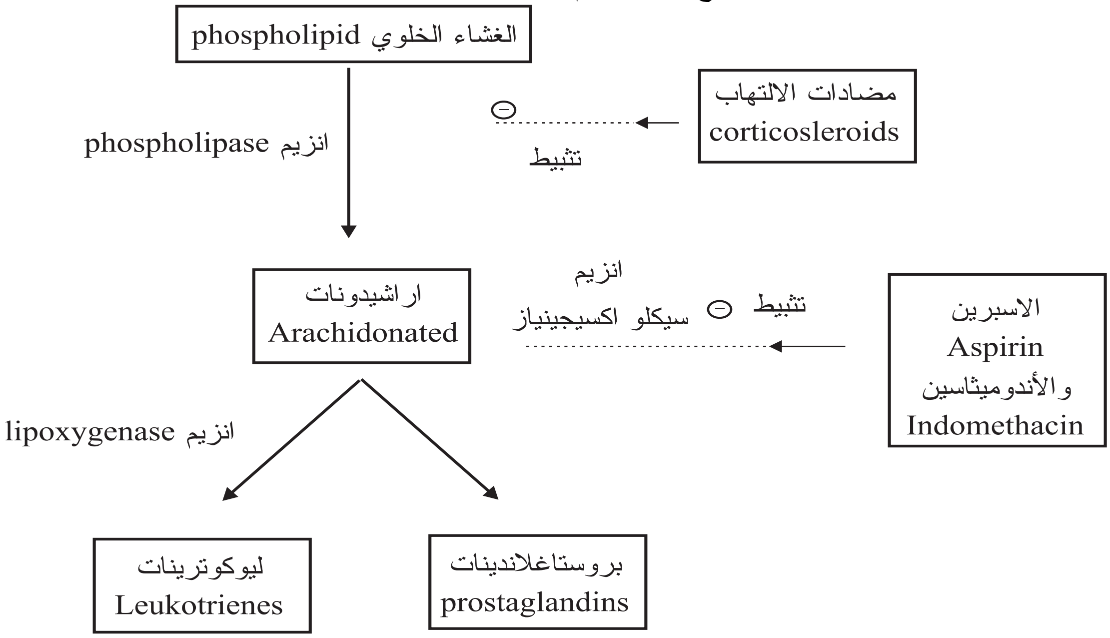
ونظراً للتأثيرات الواسعة التي يمكن أن يُسببها الأسبرين فقد جعلت تحديد آلياتها الكيميائية الحيوية عملاً معقداً، ولم يتمكن علماء الأحياء إلا في بداية السبعينيات من التوصل إلى فرضية آلية عمل الاسبرين ومشتقاته والعقاقير المشابهة له مثل الأيبوبروفين ibuprofen والاندوميتاسين indomethaein، على أساس قدرة هذه المركبات في تحديد اصطناع البروستاغلاندينات prostaglandines وهي هرمونات خلوية تؤدي دوراً مهماً في الآلام والالتهابات (٢٣).

وقد تبين حديثاً أن فرضية البروستاغلاندين التي تفسر بعض تأثيرات الاسبرين كمضادات للالتهابات لا تنجم فقط عن تثبيط البروستاغلاندين بل على طريق قطع التآثر عبر الأغشية الخلوية ومنع تنشيط الخلايا التي تتوسط المراحل الأولى من الالتهابات الحادة مثله مثل العقاقير اللاستروئيدية المضادة للالتهابات والموضح بعضها بالمخطط رقم (١).



مخطط رقم (١) يوضح بعض الأمثلة عن العقاقير اللاسترويدية كمضادة للالتهاب

ويكمن الدور الرئيسي للاسبرين والعقاقير الشبيهة كما تشير معظم الدراسات الحديثة في حصر الأنزيم الذي يعرف حالياً باسم بروستاغلاندين H سنثتاذ prostaglandin H-synthetase الذي يحول حمض اراشيندونيك إلى البروستاغلاندين، وينتج هذا الأنزيم بروستاغلاندينات ثابتة من سلسلة (F, I, E) عن طريق مركبات وسطية غير ثابتة مثل بروستاغلاندين G (PGG٢) وبروستاغلاندين H٢ (PGH٢). وقد ظهر فيما بعد أنَّ العقاقير اللاسترويدية المضادة للالتهاب nonsteroidal antiflammatory drugs (اختصاراً NSAIDs) تثبط انزيم البروستاغلاندين سنتثاز أو أنزيم السيكلواكسيجيناز Cyclooxygenase وكما هو موضح بالمخطط رقم (٢)



مخطط رقم (٢) يوضح مراحل تثبيط مضادات الالتهاب والاسبرين في تكوين البروستاغلاندينات

وتزداد يوماً بعد يوم دراسة وفهم الآليات التي تؤدي إلى التاثيرات الواسعة للاسبرين وبقية NSAIDs في الخلايا المستهدفة ولا سيما المستوى الجزيئي. فبدراسة تأثير Cr(iv) المنشط لعامل الاستنساخ النوي كابا (Kapa B) وكذلك تأثير تفاعلات الجذور الحرة Free radical reactions في تكسير سلاسل الحمض النووي DNA، فقد أكدت نتائج الرحلان الكهربائي للـ DNA المعزول من الخلايا المستهدفة أنَّ الأسبرين والديفروكسامين defroxamine تثبط تكسير سلاسل الـ DNA. وبالمقابل فإنَّ الكروميوم يحرض على تنشيط عامل الاستنساخ النووي كابا. ويقترح على هذا الأساس دراسة تأثير الكروميوم المسرطن وفعالية

الأسبرين في تثبيط هذه العملية. وكما وضحنا سابقاً أنّ الكورتيكوستيرويدات تستطيع إخماد أو كبت الالتهابات المختلفة. وتشير سلسلة من التجارب الخلوية الحيوية والبيوكيميائية إلى آلية جديدة بأن الأسبرين والاندوميثاسين لهما القابلية على تثبيط انزيم السيكلواكسيجيتاز (مخطط ٢) كذلك يؤدي الأسبرين والبيوتروفين إلى إخماد نشاط أنزيم GAP-DH (Glyceraldehyde – ٣. Phosphate dehydrogenase) بسرعة فائقة في الزجاج in vitro وذلك من خلال تحوير بروتينات في مرحلة ما بعد الترجمة.

وبالعلاقة مع هذا الموضوع فقد أكدت دراسات كثيرة أنّ الأمراض الالتهابية المزمنة مثل التهاب المفاصل (Rheumtoid arthritis) RA تسبب بإطالة إنتاج السيتوكينات cytokines ما قبل الالتهاب وتتضمن أيضاً عوامل النخر الورمي Tumer necrosis factor– TNF والانترلوكين ١ (IL-١) وقد وجد أنّ العامل النووي كابا B (NF- KB) يؤدي دوراً أساسياً في تنشيط استنساخ INFو IL-١.

ومن الملاحظ أيضاً تحضير NF-KB بواسطة عدة عوامل لتشكل دوره تنظيمية إيجابية والتي باستطاعتها البقاء وزيادة حادثة المرض. وعلى هذا الأساس يكون NF-KB والأنزيمات الداخلة في نشاطها هدفاً رئيساً في العلاج. وبهذا الصدد فقد أثبت أنّ الأسبرين وساليسيلات الصوديوم يثبطان النشاط التعبيري لـ NF-KB من خلال إيقاف أنزيم كيناز keppa – B- Kinase ١ والذي يعد مفتاح نشاط NF-KB.

وقد تم إثبات أن السكريات القشرانية glucocorticoids تكبت تعبير المورثات الالتهابية inflammatory genes- من خلال ارتباط المستقبلات السكرية بـ NF-KB وبالتالي زيادة تعبير البروتينات المثبطة لـ NF-KB.

وتشير تجارب أخرى أن مضادات الالتهاب اللاسترويدية NSAIDs كالاسبرين والاندوميثاسين تحرض الخلايا السرطانية المعدية gastric cancer cells بينما يستطيع بروتين كيناز C (PKc) ايقاف هذا التحريض من خلال تثبيط تعبير بروتين C- myc لتوسطها في زيادة تنظيم المورثة المولدة للسرطان بينما وجد أن نشاط Pkc يستطيع تعطيل تأثير NSIAD وذلك في إضعاف تعبير C-myc.

وفي التجارب المباشرة على جراثيم Helicobacter pylori لدى الأشخاص المتعاطين أو غير المتعاطين لأدوية NSAIDs أو الاسبرين ومن خلال التفاعل السلسلي للبوليمراز PCR لتقييم وجود مورثات H. Pylori (المورثات PicB, İceA, VacA, CagA) فقد أثبت عدم وجود اختلافات احصائية لمورثات الجراثيم المعزولة من المرضى المتعاطين لهذه الأدوية، وقد تبين بنفس الوقت أن ٩٦% من منقطة للـDNA والمؤلفة من ٢٩٧bp للمورثة CagA للجراثيم المعزولة من المرضى المتعاطين للأدوية NSAIDs والاسبرين قد وجدت بالمقارنة مع نفس قطعة الـ DNA (١٠٠%) من المرضى غير المتعاطين لها. وعلى هذا الأساس تم الافتراض بأن تحوير المورثة CagA باقتضاب ٤% منها ناتج عن تناول هذه الأدوية.

وبهذا الصدد، تشير التجارب على الفئران الحاملة لطفرة المورثة allel الطافرة لداء السليلات الغدي adenomatus polyposis (Apc) والتي تساهم في حدوث الأورام المعوية وذلك عند تقصي تأثير العوامل الكيميائية المانعة مثل الاسبرين والنشا المقاوم للاميلاز الفا - alpha – amylase resistant starch (RS)، فقد تبين وجود مؤشرات واضحة عبر التفاعل بين الاسبرين و RS بأن الأول يحول دون تكوين الخلايا السرطانية المعوية بمنعه تأثير المعززات السرطانية.

وفي التجارب التي أجريت على الفئران المحورة عبر المورثات trangsgenic mice وباستخدام الناقل البلازميدي لمورثة البروتين المنشط Ap-١ بوساطة الاسبستوس asbestose والذي يدعى (Ap-١-Luciferase) وبعد تعريضها لجرعات محددة من الاسبستوس فقد تبين بأن الاسبرين يثبط فعالية البروتين Ap-١ المحرّض من قبل الاسبستوس ضمن أنسجة الشعب الهوائية وبالتالي منع حادثة التسرطن الخلوية.

وفي مجالات أخرى تشير بعض التجارب على أن للاسبرين تأثير مضاد للفيروسات Antiviral effect. فعلى سبيل المثال يمكن أن تكون الفيروسات المضخمة للخلايا Cytomegalo Viruses (HCMV) عوامل مرضية للتصلب العصيدي athero sclerosis لدى الإنسان باصابتها الخلايا العضلية الملساء الاكليلية وبدء التضاعف الفيروسي، والمقترن بانتاج أنواع أوكسجينية نشطة تؤدي إلى زيادة استنساخ مورثات الخلايا المتعلقة بالتصلب العصيدي وكذلك الفيروسات وبالتالي تنشيط فيروسات HCMV الكامنة latent. وبالمقابل فقد وجد أن هناك امكانية واضحة للاسبرين بأضعاف الاستنساخ المورثي للفيروسات بشكل مباشر أو غير مباشر. وبنفس السياق فقد اتضح بأن الاسبرين يؤثر على تعبير مورثات P٥٣ وذلك من خلال دراسة الأفراد المصابين بالسرطان والذين يستخدمون الاسبرين بجرعات مختلفة.

ومن المعروف حالياً بأن السيتوكينات cytokines قد تتحرر من جراء التفاعل بين الخلايا البطانية endothelid مع الخلايا الدموية البيضاء في فترة ما قبل الالتهاب والذي قد يتطور إلى التصلب العصيدي.

وقد تبين في هذا المجال بأن الاسبرين عاملاً جيداً في تدني مستوى السيتوكينات ضمن الخلايا المعالجة.

تظهر الادوية Lidocaine hydrochloride (LH) واستيل سالسيلات (AcSAL) نشاطاً مضاداً للجراثيم موجبة وسالبة الغرام (G+, G-) وتشير الدراسة الحركية Kinetic باختلاف النشاط المضاد للجراثيم من قبل LH عن ما هو في ACSAL، إذ يكون الأخير أكثر فعالية في زيادة حساسية الجراثيم المعوية E. coli والسالمونيلا Salmonella وكذلك Pseudomans aeruginosa نحو المضاد الحيوي نوفوبايوسين Novabiocin وحمض نالبديكسيك Nalidixic acid، ويكمن هذا التأثير في منع استقطاب بعض المكونات الأساسية للسطح الخلوي الجرثومي مما يؤدي إلى تغير في نفاذية الغشاء السيتوبلازمي وتترافق هذه الآلية مع نشاط المضادات الجرثومية كما هو الحال في LH و ACSAL.

وفي تجارب أخرى تم علاج إصابات حادة من قبل الجراثيم Listeria باستخدام حمض الاستيل ساليسليك (ASA) والابيوبروفين بشكل منفرد أو مجتمعين معاً بالإضافة إلى جرعات أخرى من الانترفيرون واما وعلى مجموعات مختلفة وبزمن متفاوت. وتؤكد نتائج هذه التجارب بأن ASA والابيوبروفين تمتلك نشاطاً مضاداً للجراثيم Antibacterial activity. وفي مجال آخر فقط وجد بأن الابروتيدين Ebrotidine يملك نشاطاً مضاداً لجراثيم H. pylori ويكمن هذا النشاط في تثبيط انزيم يورياز Urease وعلى الانزيمات الحالة للبروتينات Proteolytic لهذه الخلايا بالإضافة إلى عرقلة تكوين السكريات الشحمية المتعددة Lipopolysaccharide لهذه الجراثيم.

طريقة العمل:

أولاً: تم البحث باستخدام سلالات جرثومية موجبة وسالبة بصفة جرام وهي: E. coli، Pseudomonas aeruginosa، Staphylococcus، Streptococcus pyogenes.

وقد تم تنقيتها بالزراعة المتكررة للحصول على مستعمرات منفردة لكل منها وعلى أوساط غذائية ملائمة لها. وقد أخذت هذه العينات الجرثومية من قسم الجراثيم والطفيليات في كلية الطب البشري.

ثانياً: الأوساط الغذائية المستخدمة: المرق الغذي Nutrient broth، الغراء المغذي nutrient agar، وسط اختبار حساسية المضادات الحيوية Antibiotic sensitivity test، وغراء ماكونكي Macconkey agar.

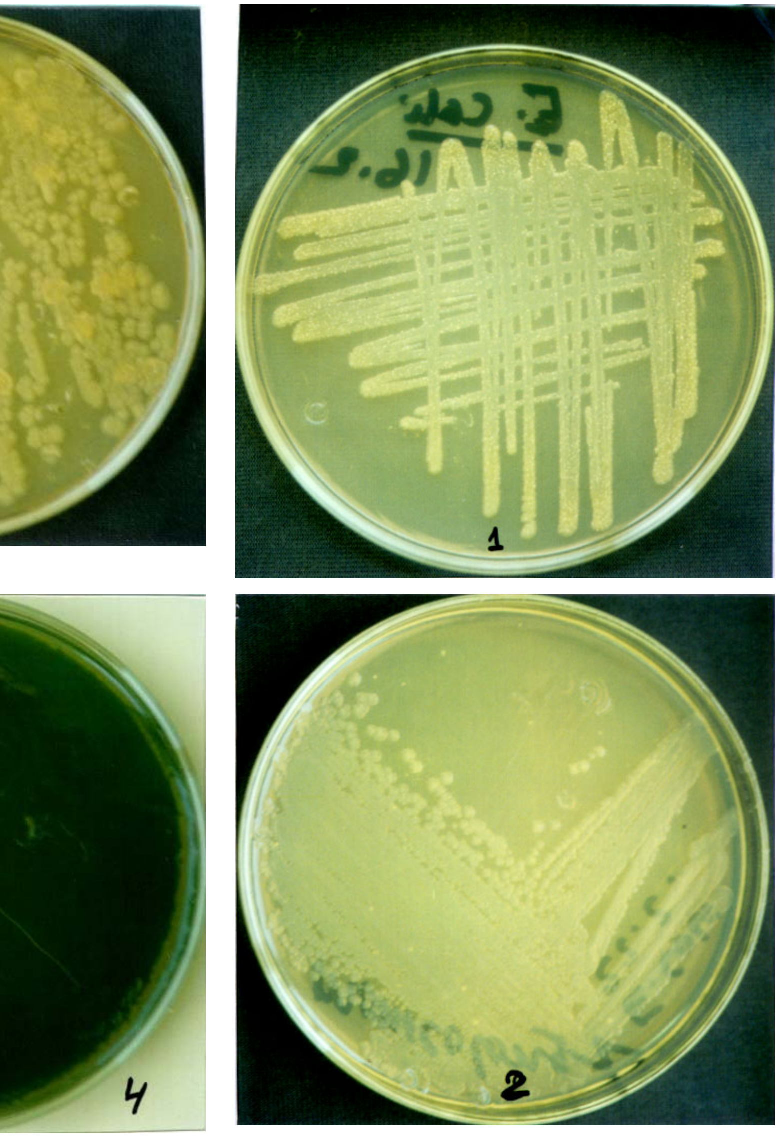
ثالثاً: الأدوية المستخدمة:

الاسبرين على شكل حمض الاستيل ساليسيليك Acetyl Salicalic acid (Acsal).

الاندوميتاسين: Indomethacin

الابيوبروفين: Ibuprofen

المضاد الحيوي: ازيتروميد Azitromed



شكل رقم (١) يوضح إحدى الطرق المستخدمة لتنقية السلالات الجرثومية

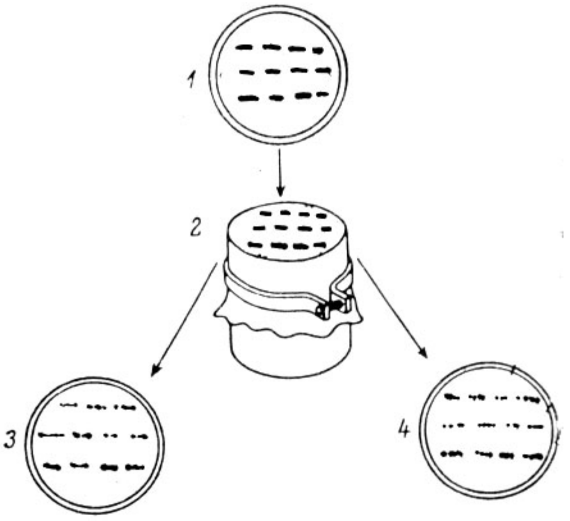
نمو جرثومي لخلايا العصيات المعوية E. coli

نمو جرثومي لخلايا السبحية Strepto coccus

مستعمرات منفردة لخلايا pseudomonas

طبق بتري لنمو جرثومي على السطح لخلايا Pseudomonas (بعد التنقية).

رابعاً: نقلت الخلايا الجرثومية للسلالات المدروسة بطريقة الطبع (Jn E. M Lederg) Replica plate procedurوقد تم تحويرها لتكون ملائمة للعمل وتتضمن طبع المستعمرات النامية على وسط غذائي ملائم على قطعة قماش من المخمل معقمة ومثبتة على اسطوانية خشبية ومن ثم تنقل المستعمرات بالطبع إلى الأوساط المعدة مسبقاً، وكما هو موضح بالشكل التالي:



شكل رقم (٢) يوضح طريقة الطبع Replia Plate procedur لنقل المستعمرات النامية .J&E.M Lederberg

طبق بتري فيه وسط غذائي ومستعمرات نامية (وسط غني).

طبع المستعمرات على قطعة القماش المثبتة على الاسطوانة.

٤- نقل المستعمرات (بالطبع) إلى وسطين مختلفين.

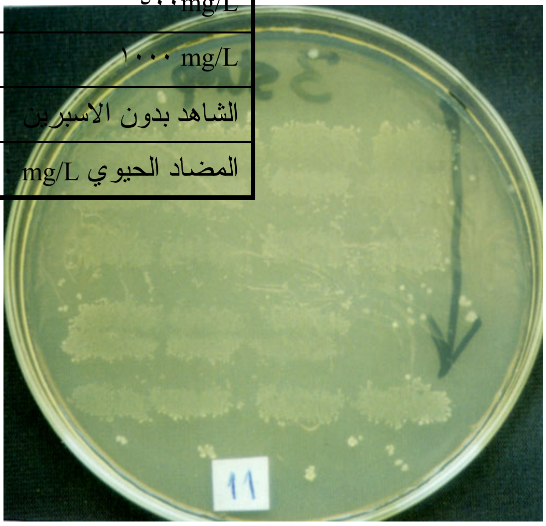
خامساً: تم تحضير أوساط غذائية مختلفة ويعتمد ذلك على التركيزات المختلفة للأدوية المستخدمة في كل تجربة وكما هو مبين ضمن جداول النتائج (ملاحظة: استخدم أكثر من ثلاثين وسطاً مختلفاً)

سادساً: تم الحفاظ على سوية درجة أيونات الهيدروجين (pH) عند إضافة الاسبرين والأدوية الأخرى إلى الأوساط الغذائية بوساطة المحلول المنظم (NaOH).

سابعاً: تم مراعاة طرق التعقيم للأوساط الغذائية ونقل المستعمرات بدقة وذلك باستخدام الصاد والموصد – Autoclave (ضغط جوي واحد وبدرجة حرارة ١٢١٥م).

النتائج:

باستخدام الأوساط الغذائية اللازمة للسلالات الجرثومية فقد تم إعداد أوساط غذائية تحتوي على تركيزات مختلفة من الاسبرين بعد التعقيم. وكما توضح الجداول رقم (١، ٢) بأنه لا يوجد تأثير للاسبرين على الجراثيم حتى تركيز ٦٠٠ L/mg، إذ يبدو النمو ضعيفاً بتركيز ٧٠٠ mg/L ويزداد التأثير من التركيز الأخير حتى ١٠٠٠ L/mg إذ يتشابه تأثيره مع تأثير المضاد الحيوي الازيتروميد وبالمقارنة مع الشاهد.



شكل رقم (٣)

٩- المستعمرات الجرثومية في الوسط المغذي الاعتيادي.

١١- وسط غذائي يحتوي على ٧٠٠ L/mg من الاسبرين ويلاحظ النمو الضعيف للمستعمرات الجرثومية.

وقد تم زيادة التركيز لكل من الاسبرين والاندوميتاسين تدريجياً فلم نلاحظ التاثير الفعال لهما وبالمقارنة مع الوسط الذي يحتوي المضاد الحيوي وكذلك الشاهد إلا بتركيز ١ غرام/لتر.

وقد استخدمنا في التجربة اللاحقة سلالات جرثومية أخرى لتقصي تأثير الاسبرين والاندوميتاسين بالمقارنة مع تأثير المضاد الحيوي والشاهد والجدول (رقم ٢) يوضح أن تأثير الاسبرين والاندومتياسين وتبركيز ١ غم/ لتر يكون مشابها تماماً لتأثير المضاد الحيوي مما يعطي استنتاجاً لا يقبل الشك بأن للاسبرين والاندوميناسين تأثيراً مضاداً للجراثيم

جدول رقم (١) يوضح تأثير التركيز المتحفظ للاسبرين على السلالات الجرثومية

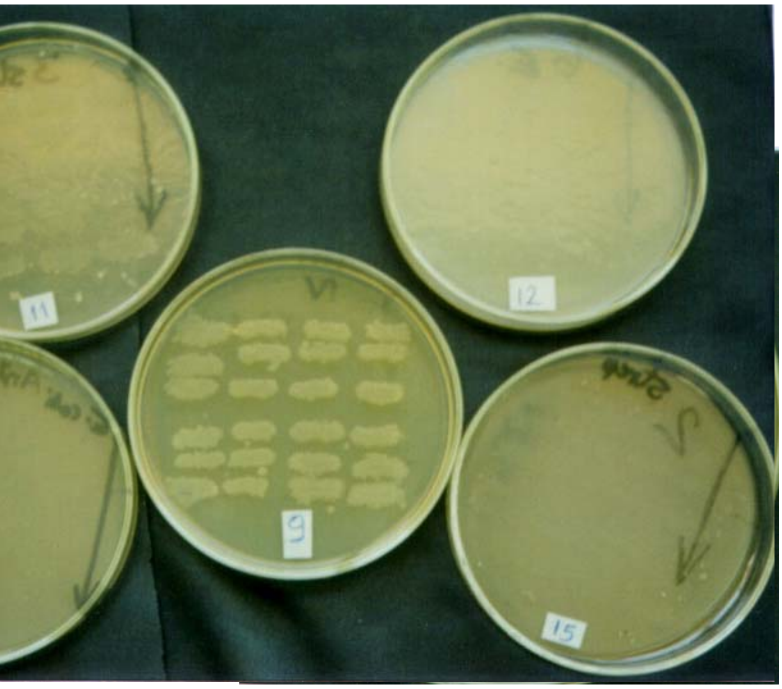
تركيز الاسبرين	نمو السلالات الجرثومية في الوسط		
	Streptococcus	E. coli	Pseudomonas
١٠٠ mg/L	+	+	+
٢٠٠ mg/L	+	+	+
٣٠٠ mg/L	+	+	+
٤٠٠mg/L	+	+	+
٥٠٠mg/L	+	+	+
١٠٠٠ mg/L	-	-	-
الشاهد بدون الاسبرين	+	+	+
المضاد الحيوي ٢٥٠ mg/L الازتروميد	-	-	-

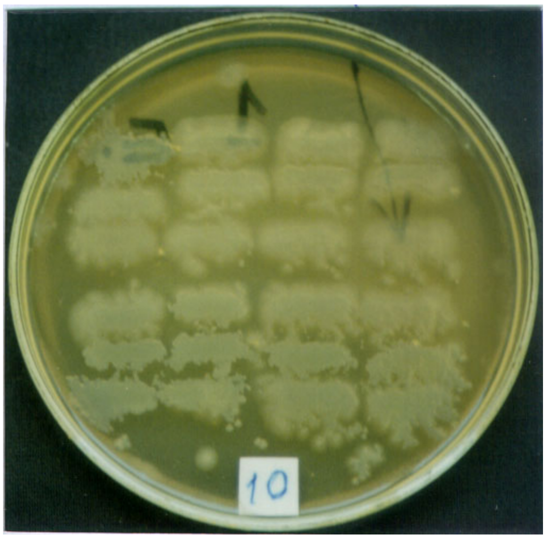
(+) يوجد نمو جرثومي.

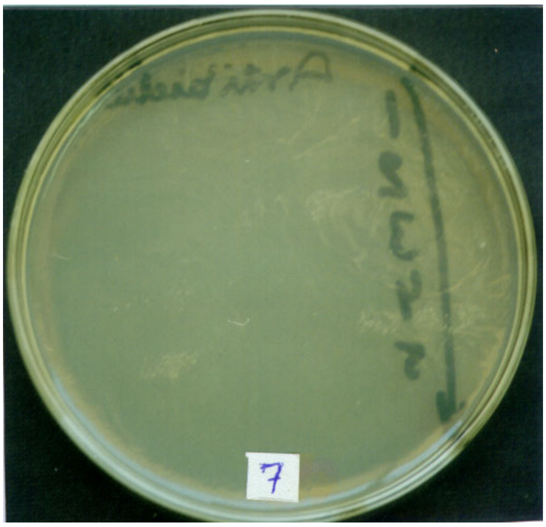
(±) نمو جرثومي ضعيف.

(-) لا يوجد نمو جرثومي.

وقد لوحظ من خلال العمل بأن هناك مستعمرات لجراثيم Streptococcus تنمو بشكل بطيء في الوسط الذي يحتوي على المضاد الحيوي ازيتروميد بتركيز ١٠٠٠ L/mg وبعد عزلها وزراعتها في الوسط الاعتيادي فقد تم تحضير اربعة أوساط غذائية مختلفة تحتوي الاسبرين والاندوميتاسين والمضاد الحيوي كل على انفراد وكما هو موضح في الجدول (٢، ٣) فقد وجد أن مقاومة الجراثيم للمضاد الحيوي تبدو واضحة بتركيز ٠,٥ غم/لتر وبالمقابل لا تستطيع هذه الجراثيم النمو في وسط يحتوي على الاسبرين أو الاندوميتاسين كل على انفراد.







شكل رقم (٥)

١١- وسط غذائي يحتوي على تركيز ٧٠٠ L/mg من الاسبرين ويلاحظ النمو الضعيف.

٩- المستعمرات الجرثومية على الوسط الغذائي الاعتيادي (الشاهد).

١٢- وسط غذائي يحتوي على ١ غم/لتر من الاندوميتاسين ويلاحظ عدم وجود النمو الجرثومي.

١٤- وسط غذائي يحتوي على ١ غم/لتر من المضاد الحيوي أزترومايد (لا يوجد نمو جرثومي).

١٥- وسط غذائي يحتوي على ١ غم/لتر من الاسبرين ويلاحظ عدم وجود نمو جرثومي.

شكل رقم (٤)

٨- لا يوجد نمو للمستعمرات في وسط يحتوي على الاسبرين بتركيز ١ غم/لتر.

١٠- النمو الجرثومي على الوسط الشاهد.

٧- لا يوجد نمو للمستعمرات على الوسط الذي يحتوي المضاد الحيوي أريترومايد.

جدول رقم (٢)

تأثير التراكيز العالية للأسبرين والاندوميتاسين على الجراثيم بالمقارنة مع المضاد الحيوي

السلالة الجرثومية	الأوساط الغذائية			
	الغراء المغذي + الاسبرين ١غم/لتر	الغراء المغذي + الاندوميتاسين ١غم/لتر	الغراء المغذي + المضاد الحيوي ارترومايد ١غم/لتر	الشاهد (الغ المغذي فقط)
Streptococcus (R)	-	-	-	±
Streptococcus (S)	-	-	-	+
E. Coli	-	-	-	+
Pseudomonas	-	-	-	+
Staphylo coccus	-	-	-	+

(R) الخلايا الجرثومية المقاومة للمضاد الحيوي الازيتروميد Azitromed.

(S) الخلايا الجرثومية الحساسة للمضاد الحيوي الازيتروميد Azitromed.

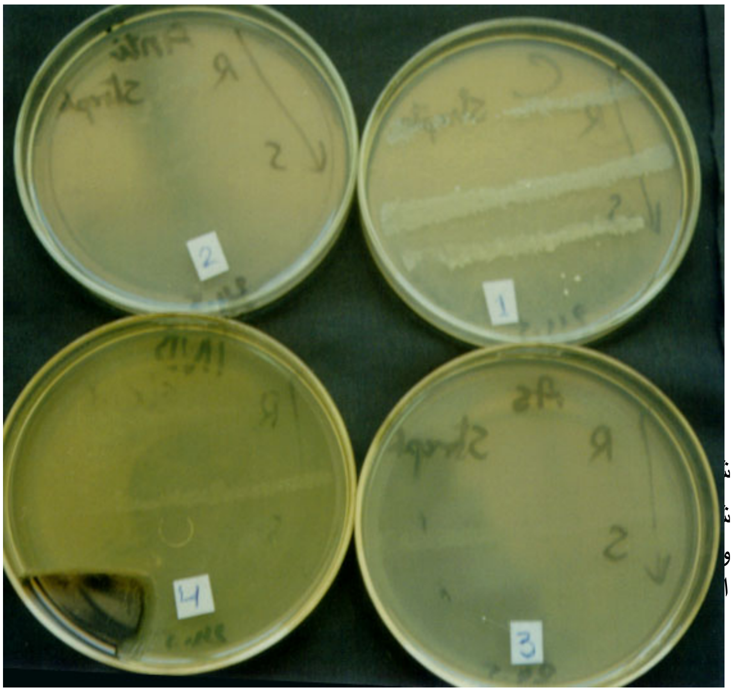
وقد لوحظ أن الخلايا المقاومة للمضاد الحيوي (R) تنمو على الوسط الاعتيادي بشكل ضعيف وهذا ما شوهد في الأوساط الأخرى مما يستدعي الانتباه بأن هذه الخلايا قد تنقصها عمليات استقلابية تأكسدية بالإضافة لمقاومتها للمضاد الحيوي.

جدول رقم (٣)

يوضح تأثير التراكيز المختلفة للاسبرين والاندوميتاسين والمضاد الحيوي على السلالات الجرثومية المقاومة

السلالة الجرثومية	تأثير الاسبرين بتركيز			تأثير الاندوميتاسين بتركيز			النمو الجرثومي وعدم وجود المضاد الحيوي ازيتروميد ١٠٠٠ mg/L	الشاهد (الوسط المغذي فقط)
	٣٠٠ mg/L	٦٠٠ mg/L	١٠٠٠ mg/L	٣٠٠ mg/L	٦٠٠ mg/L	١٠٠٠ mg/L		
Streptococcus R	+	+	-	+	+	-		+
Streptococcus S	+	-	-	+	+	-	-	+

ولكي يكون العمل أكثر اتساعاً كلما أمكن فقط استخدمنا مضاد الالتهاب لاستروئيدي الايبوبروفين Ibuprofen ودراسة تأثيره على ثلاث سلالات جرثومية (جدول رقم ٤) وبتركيزات مختلفة وكما هو موضح فإن التركيز المنخفض غير مؤثر على النمو الجرثومي بينما غير أن تركيز ١ غم/لتر يكفي لأن يقضي على النمو على الإطلاق (شكل رقم ٨).



شكل رقم (٧)

شكل يوضح مستوى النمو الجرثومي على أوساط غذائية تحتوي على مواد مختلفة كالتالي:

الوسط الاعتيادي (الشاهد) ويلاحظ النمو الجرثومي.

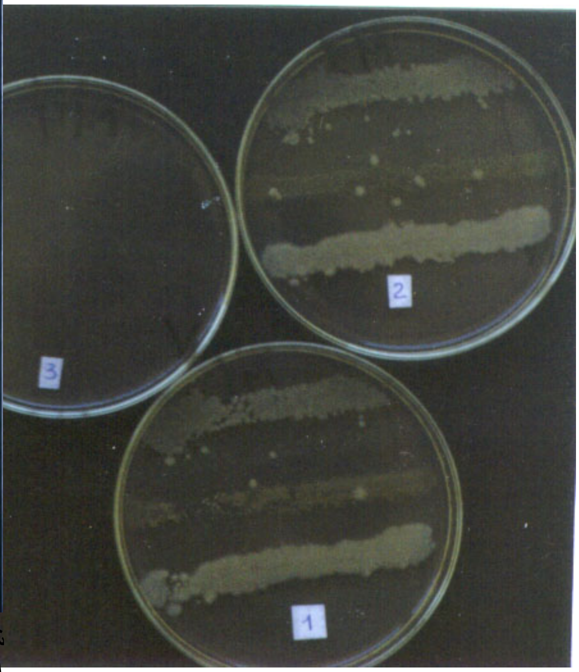
وسط غذائي يحتوي على المضاد الحيوي ازيتروميد بتركيز ١غم/لتر ويلاحظ عدم وجود النمو.

وسط غذائي يحتوي على الاسبرين بتركيز ١غم/لتر ويلاحظ عدم وجود نمو جرثومي.

وسط غذائي يحتوي على الاندوميتاسين بتركيز ... ويلاحظ عدم وجود النمو الجرثومي.

جدول رقم (٤) يوضح تأثير الايبوبروفين على السلالات الجرثومية بتركيزات مختلفة

السلسلة الجرثومية	تركيز الايبوبروفين Ibuprofen			الشاهد
	٣٠٠ mg/L	٥٠٠ mg/L	١٠٠٠ mg/L	
المعوية E. coli	+	+	-	+
العقدية Staphylococcus	+	+	-	+
بسيدوموناس Pseudomonas	+	+	-	+

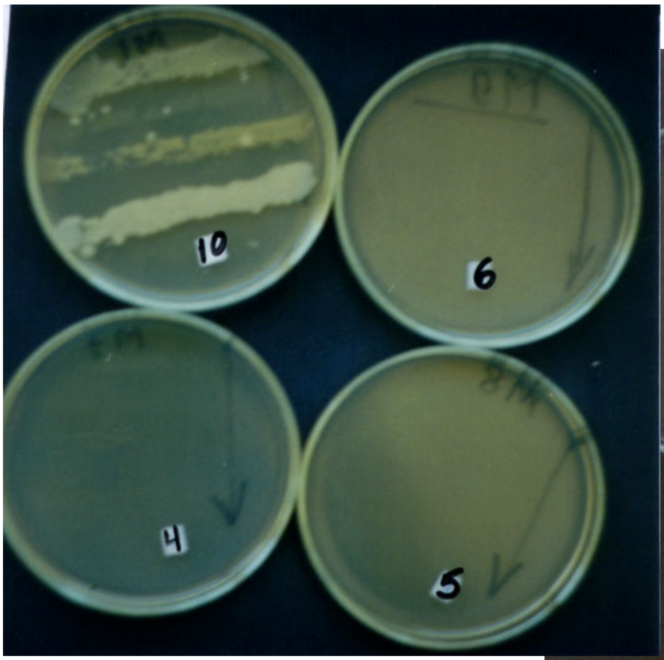


شكل رقم (٨)

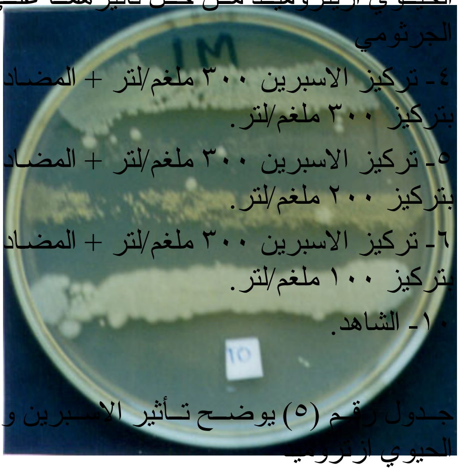
١ - وسط يحتوي على الابيوبروفين ٣٠٠ mg/L.

٢- وسط يحتوي على الابيوبروفين ٥٠٠ mg/L.

١٠- الوسط الشاهد (بدون أي مادة مضافة).



شكل رقم (٩) يوضح التفاعل بين الاسبرين والمضاد الحيوي ازيتروميد من خلال تأثيرهما على النمو الجرثومي



٤- تركيز الاسبرين ٣٠٠ ملغم/لتر + المضاد الحيوي بتركيز ٣٠٠ ملغم/لتر.

٥- تركيز الاسبرين ٣٠٠ ملغم/لتر + المضاد الحيوي بتركيز ٢٠٠ ملغم/لتر.

٦- تركيز الاسبرين ٣٠٠ ملغم/لتر + المضاد الحيوي بتركيز ١٠٠ ملغم/لتر.

١٠- الشاهد.

ولغرض تحديد التفاعل بين الاسبرين والمضاد الحيوي والاسبرين سوية وبتراكيز مختلفة (جدول رقم (٥) وكما هو مبين بالجدول رقم (٦) فقد اتضح بأن دمج الاسبرين بتركيز منخفض مع المضاد الحيوي ازيتروميد بتركيز منخفض أيضاً يؤدي الى عرقلة النمو بفعالية جيدة.

جدول رقم (٥) يوضح تأثير الاسبرين والمضاد الحيوي ازيتروميد

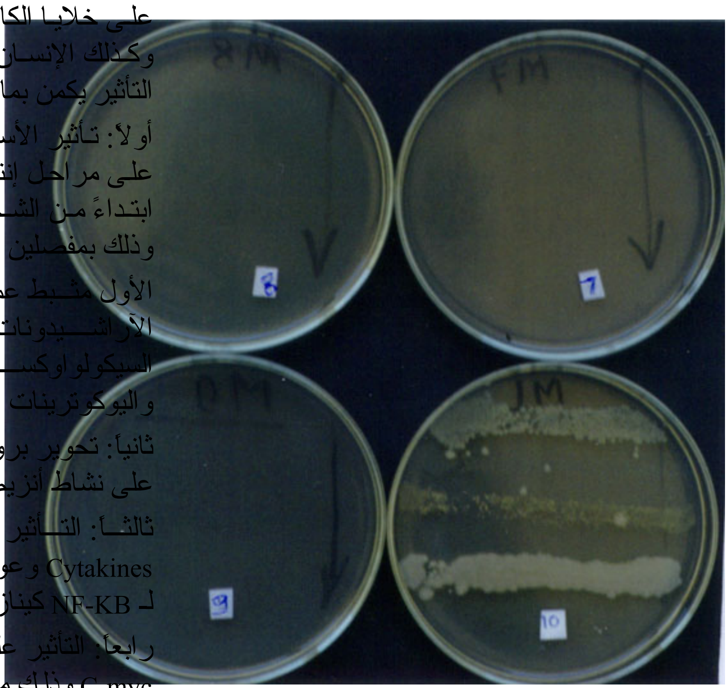
السلالات الجرثومية	الاسبرين ٣٠٠ mg/L المضاد الحيوي ١٠٠mg/L	الاسبرين ٣٠٠ mg/L المضاد الحيوي ٢٠٠ mg/L	الاسبرين ٣٠٠ mg/L المضاد الحيوي ٣٠٠ mg/L	الش
E. coli	-	-	-	+
Staphylococcus	-	-	-	+
Pseudomonas	-	-	-	+

ويلاحظ من الجدول (٥) الاسبرين عاملاً مساعداً حتى بتركيز ٣٠٠ ملغم/لتر سوية مع المضاد الحيوي ازيتروميد بتركيز منخفض (١٠٠ ملغم/لتر) والتي لم تكن كافية لوحدها في إيقاف النمو الجرثومي. باعتقادنا يؤكد ذلك على دور الاسبرين في تغيير نفاذية السطح الخلوي الجرثومي مما يساعد إلى الدخول السريع

للمضاد الحيوي إلى داخل الخلية الجرثومية. مؤدياً إلى إعاقة نموها ضمن آلية تأثير المضاد الحيوي على البروتينات الخلوية المختلفة.

وفي التجارب الأخيرة فقد تم دمج الابيوبروفين والاسبرين والمضاد الحيوي ازيتروميد واضافتها إلى الوسط الغذائي وبتركيزات مختلفة وكذلك تم دمج الابيوبروفين والاسبرين والابيوبروفين والمضاد الحيوي ازيتروميد كل على حده (جدول رقم ٦).

وكما هو موضح فإن النتيجة تؤكد بأن خلط الابيوبروفين والاسبرين بتركيز ٥٠٠ ملغم/لتر لكل منهما كافية لإعاقة النمو الجرثومي ولهما نفس تأثير المضاد الحيوي المستخدم بتركيز ١٠٠ ملغم/لتر مضافاً إلى الاسبرين والابيوبروفين. كذلك لوحظ بأن الابيوبروفين يكون مساعداً للمضاد الحيوي في عرقلة النمو الجرثومي وبتركيز منخفض للأخير (١٠٠ ملغم/لتر) وهذا التأثير مشابه إلى حد كبير تأثير الاسبرين وكما هو موضح بنتائج التجربة السابقة.



شكل رقم (١٠)

٧- الابيوبروفين ٣٠٠ ملغم، الاسبرين ٣٠٠ ملغم وازيتروميد ١٠٠ ملغم/لتر.

٨- الابيوبروفين ٥٠٠ ملغم، الاسبرين ٥٠٠ ملغم الازيتروحيد ١٠٠ ملغم/لتر.

٩- الابيوبروفين ٥٠٠ ملغم + الاسبرين ٥٠٠ ملغم في اللتر.

١٠- الشاهد.

جدول رقم (٦)

تأثير الابيوبروفين والاسبرين والمضاد الحيوي (ازيترميد) على السلالات الجرثومية

السلالات الجرثومية	الابيوبروفين ٣٠٠ mg/L الاسبرين ٣٠٠mg/L الازيتروميد ١٠٠ mg/L	الابيوبروفين ٥٠٠ mg/L الاسبرين ٥٠٠ mg/L الازيتروميد ١٠٠ mg/L	الابيو... mg/L الاسبر... mg/L
E. coli	-	-	-
Staphylloouccus	-	-	-
Pseudomonas	-	-	-

الاستنتاجات

لقد حددت آليات مختلفة التأثير الأسبرين ومضادات الالتهاب اللاسترويدية وبتعرض غالبيتها لآلية التأثير على خلايا الكائنات الحية الراقية لحيوانات التجربة وكذلك الإنسان وتتفق معظم التجارب على أن هذا التأثير يكمن بما يلي:

أولاً: تأثير الأسبرين ومضادات الالتهاب الستروئيدية على مراحل إنتاج البروستاغلانيدات والليوكوترينات ابتداءً من الشحوم الفسفورية Phospholids الغشائية وذلك بمفصلين أساسين:

الأول منيط عمل أنزيم الفوسفوليباز في إنتاج الآراشيدونات والثاني في عرقلة أنزيمات السيكولواوكسيجيناز لإنتاج البروستاغلاندينات والليوكوترينات على التوالي.

ثانياً: تحوير بروتينات خلوية محددة من خلال التأثير على نشاط أنزيم GAP-DH.

ثالثاً: التأثير الواضح على إنتاج السيتوكينات Cytakines وعوامل النخر الورمي والنشاط التعبيري لـ NF-KB كيناز C (PKC) وغيرها.

رابعاً: التأثير على تعبير مورثات محددة مثل المورثة C-myc وذلك من جراء التدخل المباشر في عمليات التنظيم المورثي.

أما فيما يتعلق بخلايا طلائعيات النوى وتحديداً الجراثيم (البكتريا) والفيروسات، فإن الآليات المقترحة لتأثير الأسبرين ومضادات الالتهاب اللاسترويدية فهي متباينة وغير محددة ويكتنفها الغموض في أحيان كثيرة. ويمكن وضع أهمها على النحو التالي:

التأثير المباشر على مكونات المادة الوراثية (DNA) وتحديداً على اقتضابها كما يحدث لجراثيم H.Pylori مما يدل على أن الأسبرين تأثير مطفر، ويعتمد ذلك على الجرعات المستخدمة والمستمرة.

يتدخل الأسبرين في زيادة أو تثبيط التعبير المورثي لدى الفيروسات والجراثيم ولاسيما في عرقلة المورثات المتحكمة في التضاعف الفيروسي كما هو في فيروسات HCMV أو في خلايا التدخل في نشاط الخلايا الجرثومية الانقسامي.

يتضمن التأثير أحياناً التدخل في نفاذية السطح الخلوي مما يؤدي إلى زيادة حساسية الجراثيم (Salmonella, E. cali) Pseudomonas نحو المضادات الحيوية المختلفة ويمكن أن نستنتج في ذلك التفاعل بين الأسبرين والمضادات الحيوية المختلفة وكما اتضح هذا في البحث الماثل لاسيما التفاعل بين الأسبرين والمضاد الحيوي ضد خلايا Streptococcus, Staphellococus, E. coli .

التأثير المباشر للأسبرين وبعض مضادات الالتهاب اللاسترويدية على البروتينات الخلوية كما هو الحال في تأثيرها على الأنزيمات الحالة للبروتينات أو في مثبط أنزيم اليوراز بالإضافة إلى عرقلة السكريات الشحمية المتعددة والتي تدخل بطبيعة الحال ضمن مكونات السطح الخلوي الجرثومي لموجبه وسالبه الجرام (G^-, G^+).

ومما هو موضح أعلاه ومن خلال النتائج التي عرضت في هذا العمل فإنه يمكن القول أن تأثير الأسبرين تحديداً يكمن في عرقلة بناء الحمض النووي الريبي منقوص الأكسيجين (DNA) يشكل مباشر أو غير مباشر وذلك من جراء عرقلة عمل الأنزيمات اللازمة لذلك. وبهذا الصدد يمكن الاعتقاد بأن التأثير قد يتناول العوامل التي تتدخل في منظمات التعبير المورثي عوامل استقلابية للجراثيم المتخصصة في التحريض الانقسامي أو من خلال عوامل استقلابية أخرى كالادينوسين أحادي الفوسفات الحلقي (CAMP).

المستعمرات المقاومة للمضاد الحيوي (الازتروميد) كان نموها على الوسط الغذائي (N. Agar) ضعيفاً كما هو مبين في الصور وبالإضافة إلى ذلك فإن تأثير تركيز الأسبرين المنخفض أشد مما هو في الحالة الطبيعية مما يدل وجود سبب آخر قد يكون مرافقاً لتأثير الأسبرين ويعتقد أن هناك علاقة بين ما يشبه بطفرة وراثية لعمليات الأكسدة والمشابهة لطفرات من الخمائر، تدعى Petite. وتحتاج إلى تحري أكثر وقد تكون مشروع بحث في هذا السياق.

التوصيات

من خلال النتائج الماثلة في هذا العمل بأن للأسبرين والأيبوبروفين تأثيراً واضحاً كمضاد جرثومي يشكل مباشر أو بشكل غير مباشر وذلك في تفاعلها مع المضاد الحيوي (الازترومبد) ولكي تستكمل المراحل اللاحقة للعمل نوصي بما يلي:

الانتقال إلى دراسة هذه التأثيرات على الكائنات الحية (in vivo) مباشرة وتوسيع هذه الدراسة لأنواع جرثومية مرضية متنوعة ويمكن التعاون في ذلك مع مخابر أخرى ضمن الكلية أو خارجها.

إمكانية حصر بعض آليات التأثير وذلك من خلال إجراء تحاليل بيوكيميائية وتحديد أنزيمات محددة مثل الأنزيمات الحالة للبروتينات Proteotylic أو من خلال تحديد سوية cAMP على سبيل المثال لا الحصر، وذلك من أجل معرفة آلية التعبير المورثي وتأثيرها على عمليات النسخ وما يتعلق بالانقسام الخلوي.

توسيع هذه الدراسة مستقبلاً على المستوى الجزيئي وتحديداً على عمليات بناء الـ (DNA) من خلال دراسة أنزيمات البوليمراز أو في عزل وتحليل الـ DNA لأنواع جرثومية معرضة لمثل هذه المواد (الأسبرين ومضادات لاستروبدية أخرى) ومقارنتها بنفس الأنواع غير المعرضة لها.

توسيع البحث على مضادات الالتهاب اللاستروبدية الأخرى وعلى مستويات تركيز مختلفة وبالعلاقة مع مضادات حيوية واسعة التأثير على سلالات جرثومية أخرى. قد يساعد ذلك على تقليل جرعة المضادات الحيوية بالترافق مع الأسبرين وأدوية مضافة لاسيما في الحالات المرضية التي تتلاءم مع الحساسية نحو المضادات الحيوية في الجرعات العالية.

المراجع

Al Rayyes O, Ahren B; Floren CH: Enhancement of low density lipoprotein catabolism by non steroidal anti – inflammatory drugs in cultured HepGs cells. Eur J pharmucol ١٩٩٩ May ٢٠; ٣٧٢ (٣): ٣١١-٨.

Anastasio GD; Cornell Ko; Manscer D: Drug interaction, keeping it straught. Am Fam physician; ١٩٩٧ Sep ١. Vol ٥٦ issue ٣ P٨٨٣-٨, ٨٩١-٤.

Beales IL; Effect of cytokines on acid Secretion and gastrin secretion in Helicobacter pylori infection and aspirin – induced gastritis. Scand J Gastroenterol; ١٩٩٨ Nov; ٣٣ (١١): ١٢٣٠-٢.

Belosillo B; Pique M, et al. Aspirin and Salicylate induee apoptosis and activation of caspases in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. Blood ١٩٩٨ Aug ١٥; ٩٢ (٤): ١٤٠٦ – ٤.

Crocker JF; et al: Effect of antipyretic on mortality due to influenza Bvirus in mous model of Reyes Syndrome. Clin invest Med. ١٩٩٨ Aug-Oct; ٢١ (٤-٥): ١٩٢-٢٠٢.

Esposito AL, Aspirin impairs antibaeterial mechanisms in Experimental Pneumococcal Pneumonia. Am Rev Respire Dis; ١٩٨٤ vol ١٣٠ issue ٥ P ٨٥٧-٦٢ USA.

Hockertz S; Heckenberger R: Treatment of an acute Bacterial infection with a combination of acetylsalicylic acid/ ibuprofen and interferon gamma. Arzneimittel forschung; ١٩٩٦ Oct. vol ٤٦ issue ١٠ P ١٠١٢-٥.

Horn JR; Hansten PD. Drug interaction with antibacterial agents. J Fam Pract ١٩٩٥; ٤١: ٨١-٩٠.

Hook DW; Handing JJ: Inactivalion of glyceraldhyde ٣- phosphate by suger, prednisolone ٢١ hemisuccinate, Cyanate and other small molecules. Biochim Biophys acta ١٩٩٧ Dec ٣١; ١٣٦٢ (٢-٣): ٢٣٢-٤٢.

Ikonomidis I, Andreotti F, Ecomomou E, et al. Encreased prioflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. Circulation ١٩٩٩ Aug ٢٤; ١٠٠ (٨): ٧٩٣-٨.

Iamandesun IB, Contribution to the study of the Favouring role of chronic urinary infections in indueing and starting drug – allergic type reactions. Med Interne; ١٩٩٠ Jan – Mar Vol ٢٨ issue I P ٥٣-٦٠.

Jue DM, Jeon KI; Jeong JY: Nuclear factor Kappa B (NF-Kappa B) pathway as thearpeutic target in rheumatoid arthritis.

J Korean Med Sci ١٩٩٩ Jun; ١٤ (١٣): ٢٣١-٨.

Kabakus N, Kalkan A, Felek S, Yilmas B et al. Effect of antibiotics and anti – enflammatory agents on purified protein derivative respone in the rat. Scand Jin ted Dis ١٩٩٩; ٣١ (٢): ١٦٩-٧١.

Katter E; Weissman G. Steroids, Aspirin and inflammation. Inflammation ١٩٧٧ Dec vol ٢ issue ٤ P ٢٩٥-٣٠٧.

Konturek PC, Brzozowski T, et al, Activation of genes for spasmolytic petide, transforming growth factor alpha and for cycloxygenase ١،٢ during gastric adaptation to aspirin damage in rates. Aliment – pharmacol – ther. ١٩٩٨ Aug; ١٢ (٨): ٧٦٧-٧٧.

Lederberg J, Lederberg E. Replica Plating and selection of bacterial mutants. J Bacteriol Vol ٦٣ N٣ P. ٣٩٩-٤٦٦.

Li L, Kelly LK, AyubK, Graham DY, Go MF. Genotype of Helicobacter pylori obtained from gastric ulcer patient taking or nontaking NSAIDs Am J Gastroenterol ١٩٩٩ Jun; ٩٤ (٦): ١٥٠٢-٧.

Monica Cheesbrough. Medical lab. Manual for tropical countries; Vol ١١ Microbiology; First Edition ١٩٨٤, Tropical Health Technology, England.

Mavletova DA, Dvorkin GA, Transcription of mdr١ multidrug resistance gen in Lim ١٢١٥ cell culture – Effect of heat shock and aspirin. Dokll Akad Nouk ١٩٩٧ Dec; ٣٥٧ (٦): ٨٣٢-٤.

Newmark HL; Bertagnolli MM. Aspirin and Colon Cancer Prevention (letter) Gastro enterology, ١٩٩٨ Oct; ١١٥ (١٤): ١٠٣٦.

O'neill – EA: Anew target for aspirin. Nature ١٩٩٨ Nov ٥; ٣٩٦ (٦٧٠٦): ١٥-١٧.

Ohswka S; Ohta M, Masuda K; Arakawa Y; Kaned T; Kato N. Lidocaine hydrocloride and Acetylsalicylate kill bacteria by disrupting the bacterial membrane potential in different ways. Microbiol lmmunol; ١٩٩٤ Vol ٣٨ issue ٦ P ٤٢٩-٣٤.

R. K. Murray; P. A. Mayes; D. K. Granner; V. W. Rodwell; Harper's Biochemistry, ١٩٩١, Middle East Edition.

Reuter JD, Myc A, Hayes MM, Gan Z, et al., Inhibition of viral adhesion and infection by sialic acid – conjugated dendritic polymerases. Bioconjug Chem ١٩٩٩ Mar – Apr, ١٠ (٢): ٢٧١-٨.

Ruschoff J; Wallinger S, et al: Aspirin suppresses the mutator phenotype associated with hereditary non polyposis colorectal cancer by genetic selection. Proc – Natl – Acad – Sci – USA. ١٩٩٨ Sep ١٥; ٩٥ (١٩): ١١٣٠١-٦.

Reuter BK; Davies NM; Wallace JL. Nonsteroidal anti – inflammatory drug enteropathy in rates: role of permeability, bacteria

and enterohepatic circulation. Gastroenterology. ١٩٩٧ Jan; ١١٢ (١): ١٠٩-١٧.

Shi X, Ding M, Ye J, Wong S and other. J inorg Biochem ١٩٩٩ may ٣٠; ٧٥(١): ٣٧-٤٤. Cr (iv) Causes activation of nuclear transcription factor – Kappa B, DNA strand breaks and d G hydroxylation via free radical reaction.

Squires RF; Saederup E: Indomethacin / ibuprofen like Anti – inflammatory agent Selectively potentiale the gamma – aminobutyric acid – antagonistic effect of several norfloxacin – like quinolon antibacterial agents on [٣٥ S] t-butylbicyclo phosphooro thionat binding. Mol pharmacol; ١٩٩٣ May. Vol ٤٣ issue ٥.

Speir E, et al, Aspirin attenuate cytomegalovirus infectivity and gene expression mediated by cyclooxyganase – ٢ in coronary artery smoth muscle cells. Circ Res. ١٩٩٨ Jul ٢٧; ٨٣ (٢): ٢١٠-٦.

Saldi M. Broncaspin in the therapy of pedialric diseases of the respiratory tract. Minerva Med ١٩٨١ Feb ٢٨. Vol ٧٢ Issue ٧ P ٤٣٥-٤٢.

Systemic Antifungal Drugs. Med Lett Drugs Ther; ١٩٩٧ Sep ١٢ Vol ٣٩ Issue ١٠٠٩ P ٨٦-٨. USA (Journal Article).

Yin MJ; Yamamoto Y; Gaynor RB. The Anti – inflammatory agents aspirin and Salicylate inhibit the activity of (I Kappa) B Kinase – beta. Nature ١٩٩٨ Nov ٥; ٣٩٦ (٦٧٠٦): ٧٧-٨٠.