التلوث بالرصاص وتأثيره على فعالية أنزيمات GST وALP وGPT ومستويات الأكسدة للعاملين في محطات الوقود

عمار مولى حمود ونهى عبد الزهرة رمضان ورعد عباس حمزة ورياض شفاف حسين
دائرة بحوث المواد، وزارة العلوم والتكنولوجيا

خلاصة

تمت دراسة التلوث بالرصاص على فعالية انزيم GST (كلوتاثايون- اس- ترانسفريز) وفعالية انزيم GPT (كلوتاميت بايروفيت ترانسفريز) وفعالية انزيم ALP (الانزيم الفوسفاتي القاعدي)، قياس مستوى الاكسدة في مصل الدم بمقدار ما يتكون من المالون داي الديهايد (MDA). حيث تمت الدراسة على ثلاثة مجاميع هي: المجموعة الاولى (A) تمثل مجموعة العاملين فترة العمل سنتين العدد (15) شخص في محطات الوقود، والمجموعة الثانية (B) تمثل مجموعة العاملين فترة العمل (2-4) سنة العدد (15) شخص في محطات الوقود، والمجموعة الثالثة (C) تمثل مجموعة العاملين فترة العمل (5-8) سنة فما فوق العدد (15) شخص في محطات الوقود بالإضافة الى مجموعة السيطرة العدد (15) شخص. لقد وجد ارتفاع في مستوى فعالية انزيم ALP,GPT,GST مع طول الفترة الزمنية للمتعرضين للتلوث بالرصاص وذلك يعتبر مؤشرا لحدوث أضرار في بعض أعضاء الجسم وخاصة الكبد من خلال ارتفاع فعالية انزيم GPT. اما ارتفاع GST فيعتبر دلاله على زيادة السمية في الكريات الحمراء والخلايا الحيوية وكذلك لوحظ زيادة في مستوى المالون داي الديهايد (MDA) في مصل الدم مع طول الفترة الزمنية للمتعرضين للتلوث بالرصاص.

كلمات مفتاحية: التلوث بالرصاص، أنزيمات GST، العاملين في محطات الوقود.

The Effect of Lead Pollution on GST, GPT, ALP, and Oxidant Stress in Fuel Stations

A.M.Ahmood, N.A.Ramdan, R.A.Hmza, and R.S.Hassen
Material Research Dicorate, Ministry of Science and Technology

Abstract

The study of the effect of lead pollution on the activity of GST GPT , and ALP was undertaken. Occupational workers. The spacemen of the project were divided in three groups according to their occupational period as follows: Group A: 15 workers ,period of occupation (2)yrs in Baghdad fuel station Group B: 15 workers, period of occupation(2-4) yrs in Baghdad fuel station Group C: 15 workers, period of occupation (5-8) yrs in Baghdad fuel station Another group of 15 healthy unexposed to lead were considered as control group. The results showed an elevation in the activity of all enzymes under investigation in the blood of workers. The activity was positively correlated with the period of occupation (i.e lead exposure). The elevation in GPT activity could be used as an indicator of liver damage , while elevated levels of GST occurs in all types of pollution to minimize the toxic effect of pollutant in erythrocytes and vital cells ,elevation in MDA related with the period of occupation (i.e lead exposure).

Keywords: Pollution by lead, GST enzymes, fuel stations workers.

مقدمة

الرصاص فلز ثقيل ويعد من الفلزات الثابتة في الهواء الجاف اما عند وجود الرطوبة في الجو فانه سرعان مايكون احادي اوكسيد الرصاص ثم يكون كاربونات الرصاص مع ثنائي اوكسيد الكاربون [1] . الرصاص (Pb Lead)معدن لين مرن لونه أبيض مزرق قابل للتشكل والطرق، موصل ردئ للحرارة ومقاوم للتآكل، رقمه الذري 82 ووزنه الذري 207 ووزنه النوعي 11.35 .

وفضلا عن وجود الرصاص كفلز فانه يوجد على شكل مركبات عضوية او لاعضوية وان الشكل الاكثر شيوع املأح الرصاص اللأعضوي حيث تبلغ نسبة الاملاح اللاعضوية للرصاص اكثر من 95% من الرصاص الكلي في البيئة [2] .

ان التلوث بمركبات الرصاص اللاعضوي ينتج من استنشاق كميات كبيرة من اوكسيد الرصاص خلال فترة العمل من قبل العاملين في معامل البطاريات وحقل الفخار والمطابع وصناعة الاصباغ واحيانا في اوعية حفظ الاطعمة وكمادة مانعة لفرقعة احتراق البنزين في مكائن الاحتراق الداخلي حيث يضاف بشكل مركب رابع اثيل الرصاص [3] .

البنزين هو خليط مشتق من البترول يتكون في الأساس من الهيدروكربونات ويستخدم كوقود في محركات الاحتراق الداخلي،أهم الخصائص للبنزين هو رقم الأوكتان، وهو مقياس لمقدرة البنزين على مقاومة الاحتراق المبكر .(وهذا الرقم يقاس بالنسبة إلى خليط(2,2,4-traimethylbentane) (2،2،4 ثلاثي ميثيل بينتان)أحد ايزومرات (isomer) الأوكتان والهيبتان. [4]

التسمم بالرصاص هو حالة طبية ناجمة عن زيادة مستويات من المعادن الثقيلة الرصاص في الجسم. الرصاص يتداخل مع مجموعة متنوعة من العمليات الحيوية في الجسم وسامة بالنسبة للكثير من الأجهزة والأنسجة بما في ذلك القلب ، العظام ، الأمعاء ، الكلى ، و الصحة الإنجابية والنظام العصبي.. تعارضها مع تطور الجهاز العصبي، وبالتالي سمية على وجه الخصوص إلى الأطفال. ,تتضمن الأعراض ألم في البطن، و الارتباك ، والصداع، و فقر الدم ، والتهيج، وفي الحالات الشديدة ، غيبوبة. [5]

مستوى الرصاص في الدم هو واحد في ميكروغرام لكل ديسيلتر (ميكروغرام / ديسيلتر)، المستويات المرتفعة المقبولة من الرصاص في دم البالغين أن يكون 25 (ميكروغرام / ديسيلتر) . مستوى الرصاص المقبول سابقا في دم الاطفال 10 (ميكروغرام / ديسيلتر) ، وفي عام 2012 كانت هناك توصيات للحد من هذا المستوى إلى 5 (ميكروغرام / ديسيلتر) .الأطفال بشكل خاص عرضة للآثار الصحية الناجمة عن الرصاص .[6].

السبب الرئيسي للتسمم الرصاص هو تدخلها مع مجموعة متنوعة من الانزيمات لأنها تربط مجموعات سلفاهيدريل مع العديد من الإنزيمات ويعتبر انزيم الكلوتاثايون اس ترانسفريز (GST) من الانزيمات المهمة في تقليل الخصائص السامة للمركبات الغريبة حيث يعمل هذا الانزيم على ارتباط مركب الكلوتاثايون الموجود في معظم انسجة الجسم مع الجسم الغريب وبالتالي يتحول الى مركب يطرح الى خارج الجسم . [8,7]

طرائق العمل

1. قياس فعالية انزيم كلوتاثايون – اس– ترانسفريز GST في كريات الدم الحمراء [9] .

مبدأ الطريقة : تفاعل الكلوتاثايون مع 1– كلورو–2–4– داي نايتروبنزين ليكون 2–4– داي نايترو فنيل كلوتاثايون وبقراءة عند (340nm) .تغسل كريات الدم الحمراء

بمحلول السلائين ثم يعمل هيمولأيسس ويخفف بالماء المقطر .

2. قياس فعالية انزيم كلوتاميت بايروفيت ترانسفريز GPT في بلأزما الدم [10] .

مبدأ الطريقة : تفاعل بين α– oxoglutarate مع L–alanine لينتج L–glutamate + بايروفيت ويتفاعل البايروفيت مع 2–4 دايناينترفنيل – هايدرازين يكون معقد لوني بقراءة على طول موجي (546 nm).

3. قياس فعالية الانزيم الفوسفاتي القاعدي ALP في بلأزما الدم [11].

مبدأ الطريقة : تحلل فنيل فوسفيت الى فينول + فوسفيت ويتفاعل الفينول مع امينو 4– – انتي بايرين بوجود Potassium ferro cyanite وبقراءة ند طول موجي (510nm).

4. تقدير تركيز الهيموكلوبين [12] . طريقة سيانو ميثو هيموكلوبين .
5. تفدير مستوى الأكسدة بمقدار مايتكون من المالون داي الديهايد . [13]

5. قياس مستوى الرصاص بواسطة جهاز الامتصاص الذري أللهبي .[15,14]حيث تم فصل نماذج الدم باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة بالدقيقة واخذ حجم واحد من بلازما الدم ومن ثم معاملته مع عشرة حجوم من 5% بيوتانول .

6 .تم استخدام تحليل الإحصائي Student. Test.لمقارنة مجموعة السيطرة مع المجموعة A ، B، C .

7. جمع النماذج من محطات بنزين مختلفة من بغداد وقد تم تقسيمها الى عدة مجاميع

حيث تمثل A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين .العدد 15

حيث تمثل B مجموعة العاملين فترة العمل من– 4 (2) سنة العدد 15

حيث تمثل C مجموعة العاملين فترة العمل من – 8 (5) سنة العدد 15

مجموعة السيطرة .العدد 15

النتائج والمناقشة

من الجدول (1) نلاحظ ارتفاع في مستوى الرصاص لمجموعة A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين فرق معنوي*P<0.05 بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونجد ارتفاع في مستوى الرصاص لمجموعة B مجموعة العاملين فترة العمل من(2– 4) سنة فرق معنوي عالي جدا**P<0.001 بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونلأحظ ارتفاع في مستوى الرصاص لمجموعة C مجموعة العاملين فترة العمل من (5 – 8) سنة فرق معنوي عالي جدا**P<0.001 بالمقارنة مع قيم السيطرة

التاثيرات السمية للرصاص تكون عادة نتيجة تكوين اواصر تساهمية مع مجاميع (SH–) في الجزيئات الحيوية وخاصة مركب الكلوتاثايون الموجودة في معظم انسجة الجسم. [17,16]

جدول (1). مقدار التلوث بالرصاص في بلازما الدم مجموعة العاملين في محطات البنزين

المجموعات	Pb (µg/dL)			
	العدد	المعدل	S.D	T.Test
السيطرة	**15**	**2.31**	**1.24**	-------
A	**15**	**70.2**	**7.72**	P<0.05*
B	**15**	**114.4**	**9.33**	P<0.001**
C	**15**	**150.8**	**11.86**	P<0.001**

* تبين فرق معنوي

** تبين فرق معنوي عالي جدا

حيث تمثل A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين .

حيث تمثل B مجموعة العاملين فترة العمل من(2– 4) سنة

حيث تمثل C مجموعة العاملين فترة العمل من (5 – 8) سنة

جدول (2). مقدار فعالية الانزيم GST في مجموعة العاملين في محطات البنزين

المجموعات	GST (U/Hb)			
	العدد	المعدل	S.D	T.Test
السيطرة	**15**	**0.23**	------	-------
A	**15**	**0.39**	**0.05**	P<0.05*
B	**15**	**0.52**	**0.09**	P<0.001**
C	**15**	**1.82**	**0.12**	P<0.001**

* تبين فرق معنوي

** تبين فرق معنوي عالي جدا

حيث تمثل A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين، B مجموعة العاملين فترة العمل من(2– 4) سنة، و C مجموعة العاملين فترة العمل من (5 – 8) سنة

من الجدول (2) نلاحظ ارتفاع في مستوى فعالية انزيم GST (كلوتاثايون – اس– ترانسفريز) لمجموعة A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين فرق معنوي *P<0.05بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونجد ارتفاع في مستوى فعالية انزيم GST لمجموعة B مجموعة العاملين فترة العمل من(2– 4) سنة فرق معنوي عالي جدا **P<0.001بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونلأحظ ارتفاع مستوى فعالية انزيم GST لمجموعة C مجموعة العاملين فترة العمل من (5 – 8) سنة فرق معنوي عالي جدا **P<0.001 بالمقارنة مع قيم السيطرة .

انـزيم [GST] يلعـب دورا اساسـيا فـي تخفيـف الخصائص السامة للمركبات الغريبة حيث يرتبط GSH مع الاجسام الغريبـة بواسطة هذا الانزيم وعندما تزداد الاجسام الغريبة(Xanthobiotics) والتي تشمل الملوثات الصناعية والجذور الحرة ، تزداد فعالية انزيم GST للتخلص من تلك الاجسام الغريبـة ويوجد هذا الانـزيم بشكل كبير في الكبد.[19,18].

جدول (3). مقدار فعالية الانزيم GPT في مجموعة العاملين في محطات البنزين

المجموعات	GPT (U/L)			
	العدد	المعدل	S.D	T.Test
السيطرة	**15**	**10.2**	**1.32**	-------
A	**15**	**14.8**	**2.12**	P<0.05*
B	**15**	**22.5**	**4.21**	P<0.001**
C	**15**	**48.2**	**7.20**	P<0.001**

* تبين فرق معنوي

** تبين فرق معنوي عالي جدا

حيث تمثل A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين و B مجموعة العاملين فترة العمل من (2– 4) سنة و C مجموعة العاملين فترة العمل من (5–8) سنة.

من الجدول (3) نلاحظ ارتفاع في مستوى فعالية انزيم GPT (كلوتاميت بايروفيت ترانسفريز) لمجموعة A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين فرق معنوي *P<0.05بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونجد ارتفاع في مستوى فعالية انزيم GPT لمجموعة B مجموعة العاملين فترة العمل من(2– 4) سنة فرق معنوي عالي جدا **P<0.001بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونلأحظ ارتفاع مستوى فعالية انزيم GPT لمجموعة C مجموعة العاملين فترة العمل من (5 – 8) سنة فرق معنوي عالي جدا **P<0.001بالمقارنة مع قيم السيطرة

تزداد فعالية انزيم GPT كلوتاميت بايروفيت الناقل والذي يوجد بنسبة كبيرة في انسجة الكبد لهذا يعتبر كدليل مهم في الكشف عن أي ضرر يصيب الكبد. [20]

جدول رقم (4) مقدار فعالية الانزيم ALP في مجموعة العاملين في محطات البنزين

المجموعات	ALP (KingU/dL)			
	العدد	المعدل	S.D	t-test
السيطرة	15	11.42	1.42	-------
A	15	15.26	2.42	P<0.05*
B	15	26.70	5.26	P<0.001**
C	15	42.10	8.41	P<0.001**

* تبين فرق معنوي

** تبين فرق معنوي عالي جدا. وتمثل A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين و B مجموعة العاملين فترة العمل من (2- 4) سنة و C مجموعة العاملين فترة العمل من (5-8) سنة.

من الجدول (4) نلاحظ ارتفاع في مستوى فعالية انزيم ALP (الانزيم الفوسفاتي القاعدي) لمجموعة A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين فرق معنوي*P<0.05 بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونجد ارتفاع في مستوى فعالية انزيم ALP لمجموعة B مجموعة العاملين فترة العمل من- 4 (2) سنة فرق معنوي عالي جدا**P<0.001 بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونلأحظ ارتفاع مستوى فعالية انزيم ALP لمجموعة C مجموعة العاملين فترة العمل من (5 - 8) سنة فرق معنوي عالي جدا**P<0.001 بالمقارنة مع قيم السيطرة .

ارتفاع مستوى فعالية انزيم ALP مع طول الفترة الزمنية للتعرض لملوثات الرصاص حيث يعتبر انزيم ALP كدليل مهم في الكشف عن الاضرار التي تتعرض لها انسجة العظام وخاصة في احتمال ترسب الرصاص في نخاع العظم [21، 22].

جدول رقم (5) مقدار مستوى الأكسدة MDA في مجموعة العاملين في محطات البنزين

المجموعات	MDA (nmol/gmHb)			
	العدد	المعدل	S.D	t.test
السيطرة	**15**	**0.45**	**0..17**	-------
A	**15**	**0.66**	**0.58**	P<0.05*
B	**15**	**1.64**	**0.76**	P<0.001**
C	**15**	**1.87**	**0..87**	P<0.001**

* تبين فرق معنوي

** تبين فرق معنوي عالي جدا

حيث تمثل A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين و B مجموعة العاملين فترة العمل من (2- 4) سنة و C مجموعة العاملين فترة العمل من (5-8) سنة.

من الجدول رقم (5) نلاحظ ارتفاع في مستوى الأكسدة بقدار مايتكون من المالون داي الديهايد MDA لمجموعة A مجموعة العاملين فترة العمل سنتين فرق معنوي*P<0.05 بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونجد ارتفاع في مستوى الأكسدة بقدار مايتكون من المالون داي الديهايد MDA لمجموعة B مجموعة العاملين فترة العمل من- 4 (2) سنة فرق معنوي عالي جدا**P<0.001 بالمقارنة مع قيم السيطرة . ونلأحظ ارتفاع مستوى فعالية انزيم MDA لمجموعة C مجموعة العاملين فترة العمل من (5 - 8) سنة فرق معنوي عالي جدا**P<0.001 بالمقارنة مع قيم السيطرة [23] .

ألاستنتاجات

1. نستنتج من البحث ارتفاع في مستوى الرصاص مع طول الفترة الزمنية لتعرض العاملين في محطات الوقود و ارتفاع في مستوى الفعالية النوعية لانزيم GST مع طول الفترة الزمنية لتعرض العاملين في محطات الوقود .
2. ارتفاع في فعالية الانزيم GPT مع طول الفترة الزمنية للتعرض لملوثات مركبات الرصاص ارتفاع في فعالية انزيم ALP مع طول الفترة الزمنية للتعرض لملوثات الرصاص.
3. ارتفاع في مستوى الأكسدة بقدار مايتكون من المالون داي الديهايد MDA مع طول الفترة الزمنية لتعرض العاملين في محطات الوقود .

المراجع

1. Guidotti, T.L, Ragain, L. (2007). "Protecting children from toxic exposure: three strategies". Pediatric clinics of North America 54 (2): 227–35,
2. UNEP United Nation Environmental Protection-Unicef Low Level Lead Exposure Harms Children: A Renewed Call for Primary Prevention" . Center for Disease Control and Prevention Retrieved 5 January 2012
3. UNEP- United Nation Environmental Protection -Unicef, (1997) Childhood, Lead Poisoning Information of Advocacy and Action .
4. Gossel, T.A. and Bricker, J.D., (1994) " Principle of Clinical Toxicology " , 3rd ed.New York, pp: 1914-6.
5. Mañay, N; Cousillas, AZ; Alvarez, C; Heller, T (2008). "Lead contamination in Uruguay: the "La Teja" neighborhood case". Reviews of environmental contamination and toxicology . Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 195 : 93–115.
6. Timbrell, JA,. (2008). "Biochemical mechanisms of toxicity: Specific examples". Principles of Biochemical Toxicology, 4th edition .
7. Farmand F, Ehdaie A, Roberts C.k, Sindhu Rk (2005): Lead-induced deregulation of superoxidedismutases, catalase, glutathione peroxidase,and guanylate cyclase. Environ Res 98: 33-39
8. Flora, SJ; Mittal, M; Mehta, A (2008). "Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy". The Indian journal of medical research 128 (4): 501–23.

9. Carmaagal, F., Sine ،P., and Rapin, J. Clin. (1981)determination of Glutathione -S- transferas in erythrocyte. Chem. Acta. 117: 209-217.
10. Reitman , S., and Frakel, S., Amer.J.Clin.Path1957: 28:56.
11. Beifeld,A., Gold Bery, D., (1971).assy of alkaline phosphates in plasma . Enzyme 12:561.
12. Kind, P.R.,king,E.G.J.Clin.Path. (1954) assay of hemoglobin in blood. :7:322.
13. AOhkawa, H., Ohishi, N., and Tagi, K. (1979).determination malondialdehyde in biological fulide. Anal. Biochem, 95:351-358.
14. 14-Makarem , A., " Clinical Chemistry Priciple and Techniques " 2nd Ed. Henry, R.F., Cannon , D.C. and Winkelman , J.W.(eds) . 1974; 1128-1135.
15. Kellner, R., Merment, J.M., Otto, M., and Widmer, H.M., (1998) " Analytical Chemistry" New York, pp: 525-30.
16. Abd El RA, Maged M, Yassin, Nahed M, Aasi A, Rokaya M (2007). Blood, Serum Glucose and Renal Parameters in Lead-Loaded Albino Rats and Treatment with Some Chelating Agents and Natural Oils. Turk. J. Biol., 31(25): 25-34.
17. Abdel-Razik H, Farrag A, Mahdy K, Gamal H, Rahman A, Mostafa M 2007). Protective Effect of Nigella sativa Seeds Against Lead-induced Hepatorenal Damage in Male Rats. P. J. Biol. Sci. 10(17):2809-2816.
18. 18- Olagoke, O. (2008). Lipid Peroxidation and Antioxidant Defense Enzymes in *Clarias gariepinus* as Useful Biomark-ers for Monitoring Exposure to Polycyclic Aromatic Hydro-carbons. *MSc Theses, University of Lagos, Lagos, Nige-ria.*70..
19. Singh , P., Janeck, J.srivastar, K., and Zimninak, P., J. Biol . Chem. 2002; 277(6):19232-9.
20. Sundberg, K., Preij.K., Seidel.A., and Jeranstrom, B., Chem. Res. Toxiical . 2002; 15(2):170-9.
21. Doherty, V.F.,Ogunkuade, O.O. and Kanife, U.C.(2010). Biomarkers of Oxidative Stress and Heavy Metal Levels as indicators of Environmental Pollution in Some Selected Fishes in Lagos, Nigeria. *American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science.* 7 (3): 359-365 .
22. Itoch, S., Nagoka, S., Mukai,K., Ikesu, S., and Kaneko,Y.(1994)Lipds , 29:799.
23. Inci E.-Ilhan,B. Cadir,M. Koyuncu.(2008) Level of oxidative stress and damage in erythrocytes in apprentices indirectly exposed to lead. Pediatrics International 50, 45-50.