التعرض الزئبقي وتأثيره على الانظمة الدفاعية غير الانزيمية لدى العاملين

جعفر هاشم محسن ، عمار مولى حمود ، وفاء فاضل الطائي * ، كوثر عبد الرزاق الزبيدي

وزارة العلوم والتكنولوجيا العراقية

* قسم الكيمياء ، كلية التربية -ابن الهيثم، جامعة بغداد

الخلاصة

أصبح دور زيادة تكون الجذور الحرة والأكسدة الفوقية للدهون خلال أغلب الامراض كأساس علمي لتفسير حصول تلك الامراض وتلف الانسجة.

وفي محاولة لتسليط الضوء على العلاقة المحتملة بين بعض العوامل البايوكيميائية المستخدمة لتشخيص ومتابعة مستويات مضادات الأكسدة في مصل دم (40) عاملا من العمال المعرضين للزئبق نتيجة أشتغالهم وقد قسمت مجاميع العمال على مجموعتين حسب فترات اشتغالهم فالمجموعة الاولى(A) ضمت العاملين دون عشر سنوات والثانية (B) أكثر من عشر سنوات أما المجموعة الثالثة (C) فقد كانت من المتطوعين الاصحاء.

تم قياس مستويات بعض مضادات الأكسدة غير الانزيمية مثل (فيتامين A ، فيتامين C، فيتامينE)، باستخدام تقنية الـ HPLC وكذلك تم قياس MDA- (المالون داي الديهايد) الدليل البايوكيميائي للأكسدة الفوقية للدهون. أثبتت النتائج وجود نقص واضح لدى

مجاميع العاملين بالنسبة للفيتامينات (A,C,E) مقارنة بمجموعة السيطرة. كما وجد ارتفاع واضح في مستوى MDA في مصل دم العاملين مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما أثبتت الدراسة زيادة الجذور الحرة المسببة للتلف الحاصل في خلايا الاعضاء وعدم التوازن بين مضادات الأكسدة وفوق اكسدة الدهون مما يعطي مؤشراً على الضرر التأكسدي الناتج من التعرض للزئبق والذي يتناسب مع طول مدة التعرض.

المقدمة

التعرض لبخار الزئبقMercury Vapor Exposure

التلوث مشكلة بيئية كبيرة وقد حظيت باهتمام واسع النطاق من قبل كافة دول العالم، لعلاقتها المباشرة بالنشاط البشري وفعاليته.

لقد برزت هذه المشكلة مع ظهور عصر الصناعة إذ يعمل الإنسان على تسخير ما توصل إليه من العلم والتكنولوجيا لتيسير حياته و إذ به يواجه عدة مشاكل من أنواع التلوث منها التلوث الزئبقي، فلعدة قرون تم استخدام الزئبق في صناعة الأدوية إذ كان يدخل في العديد من المركبات الصيدلانية كمضادات البكتريا، المعقمات، مراهم الجلد والمسهلات أما في الوقت الحاضر فقد تم استبدال عنصر الزئبق في المركبات الدوائية أعلاه بعناصر أخرى لذلك أصبحت سمية هذه المواد نادرة وكما أستخدم في التطبيقات الكيميائية والكهربائية وهو عنصر ذو غموض، فشكله المعدني هو على هيئة سائل فضي جذاب يكون ساحر وخطر في الوقت نفسه(1).

أن الكيميائيين استخدموا الزئبق لعلاج المشاكل الطبية مثل الإمساك والسفلس والكثير من المشاكل المنتشرة حديثاً والمتعلقة بعلم السموم يعود سببها إلى استخدام المركبات الزئبقية العضوية في المبيدات. وخلال السنوات فإن الملوثات البيئية ستأتي من الاستخدام غير الصحيح لهذه المعادن العضوية. فالتلوث الزئبقي من المشاكل البيئية الواسعة الانتشار وهناك مصدران أساسيان للتلوث وهما المعدلات العالية من الزئبق اللاعضوي، و صناعة التعدين. بالرغم من التركيز المميت (الحاسم) لبخار الزئبق غير المعروف فإن التعرض لأكثر من (1-2mg/m3) من بخار الزئبق الأولي لساعات قليلة يسبب التهابات شعبية ورئوية وبعد ساعتين من التعرض له تظهر جروح في الرئة لتكون غشاء شفاف وأخيراً يحدث نليف رئوي واسع وإن النتائج الطبية ترتبط بالتركيز ومدتي التعرض والبقاء على قيد الحياة.

لقد عرف التعرض لبخار الزئبق منذ زمن بعيد وعلىالرغم من ذلك فإن التأثيرات السمية ليست مفهومة لحد الآن حيث إن العلامات السريرية للتعرض لبخار الزئبق تكون مختلفة عن التعرض لأملاح الزئبق اللاعضوي(2).

أن التسمم بالزئبق نتيجة للتلوث البيئي أصبح في الوقت الحاضر يؤلف الاهتمام الأكبر وإن تركيز الزئبق في الهواء والتربة والماء أصبح في تزايد بسبب استخدامات هذا العنصر في الزراعة والصناعة(3).

الأنظمة الدفاعية غير الأنزيمية The Non Enzymatic Defense Systems

هناك عدة أنواع من مضادات الأكسدة التي تعمل كاسحات أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) Reactive Oxygen Species) اعتماداً على تركيبها ومن أمثلتها حامض الاسكوربك فيتامين (C) الذي يعد من أهم مضادات الأكسدة المعروفة ومن أشدها فعالية واقلها سمية وهو من الفيتامينات الذائبة في الماء ويوجد في عدة أغشية وفي البلازما إذ يبلغ تركيزه الطبيعي نحو (60) مايكرومول / لتر.

إن أهميته تأتي من تفاعله مع الـ (ROS) ويتأكسد خلال مرحلة وسيطة معطياً جذراً حراً يدعى (جذر الاسكوربيل) (Ascorbyl Free Radical) ويعاد اختزاله بفعل أنزيم ديهايدرو-اسكوربيت رديكتيز (Dehydro-Ascorbate Reductase).

إن وجود الفيتامين بالحالة المؤكسدة بنسبة قليلة جداً في الحالات الاعتيادية مقارنة مع مستوى الفيتامين المختزل والذي يكون كاسحاً لـ (ROS) من خلال عمله على O_2^-, O_2^1, H_2O_2, OH وكذلك في المحاليل المائية فأنه كاسح لجذر أوكسيد النتريك أن هذا الفيتامين لايوجد في جسم الإنسان ولكن يجب تناوله عن طريق الغذاء ، هنالك دلائل قاطعة من دراسات خارج الخلية بأن فيتامين (C) له قابلية على إعادة فيتامين (E) إلى حالته المختزلة بعد أن يتكون جذر توكوفيروكسيل (Tocopheroxyl Radical) الذي يتكون عندما يثبط فيتامين (E) الأكسدة الفوقية للدهون.

أن لفيتامين (C) أهمية مثبتة في الوظيفة الحيوية وهي عمله كمساعد لعدة أنزيمات مهمة بوجود الأيونات المعدنية الانتقالية الحرة (Free Transition Metal Ions).

يعد فيتامين (E) (الفا-توكوفيرول) من أهم مضادات الأكسدة الذائبة في الدهون الموجودة في جدار الخلية وله أهمية كبيرة في كسر سلسلة تفاعل الأكسدة الفوقية.

إن الأهمية العظمى لعمل فيتامين (E) هي في تثبيط الأكسدة الفوقية وكسح جذر دهن البيروكسي ليعطي الهايدروبيروكساید الدهني وجذر التوكوفيروكسيل والأخير هو

أقل فعالية من جذر البيروكسي تجاه الحوامض الشحمية غير المشبعة المجاورة وهو بهذا يعمل كمضاد للأكسدة عن طريق كسر سلسلة الأكسدة(4).

$$\alpha\text{-TOH}+ROO^{\bullet} \longrightarrow \alpha\text{-}TO^{\bullet}+ROOH$$

جذر التوكوفيروكسيل المتكون يختزل عن طريق فيتامين (C) والكلوتاثيون (GSH) أو قد يتأكسد إلى الكوينون المقابل له (Respective Quinone) وبما أن كميات الكوينون هذه موجودة بكميات قليلة جداً في دم الإنسان وأنسجته لذا فأن مسلك إعادة فيتامين (E) إلى حالته الفعالة في داخل الجسم (In-Vivo) هو أكثر وجود أو عند مقارنة فيتامين (E) مع باقي مضادات الأكسدة الكارهة للماء فأن فيتامين (E) هو أكثر تأثيرا في حماية الخلية من الأكسدة الفوقية للدهون.

$$R\text{-}OO^{\bullet}+A\text{-}H \longrightarrow R\text{-}OOH+A^{\bullet}$$

Anti oxidant. (e.g. Vitamin E)

Anti Oxidant Radical (e.g. Dehydrotocopherol)

$$A^{\bullet}+X \longrightarrow A\text{-}X$$

(e.g Tocopherol Quinone)

يحتوي فيتامين (E) على مجاميع مثيل محجوبة (Shielding Methyl Groups) مجاورة إلى مجموعة هايدروكسيل الفينول (Phenolic Hydroxyl Group) ويتمركز في الأغشية بفعل السلسلة الجانبية التي تدعى (فايتيل) (Phytyl Side Chain) وأن موقع السلسلة يكون في الجزء الكاره للماء من تركيب غشاء الخلية(5).

أن فيتامين (E) فضلاً عن خواصه ككاسح لجذر البيروكسيد فأنه يتداخل مع الـ (ROS) ويخمد (Supressing) الأوكسجين المفرد ويتدخل مع بيروكسي نايتريت.

إن تركيز فيتامين (E) في مصل الإنسان الاعتيادي بنحو (22) مايكرومول / لتر كما يوجد فيتامين (E) في الأنسجة أيضاً مثل أنسجة الكبد والكلية وغيرها من الأنسجة إذ يوجد في اللايبوبروتينات مثل (VLDL,LDL).

لقد أكد الباحثون أن فيتامين (E) له أهمية كبيرة وهو الأفضل من مضادات الأكسدة إذ أنه من مضادات الأكسدة الذائبة في الدهون في دم الإنسان.

فيتامين (A) يعد من مركبات الكاروتينات (Carotenoids) التي لها فعالية كمضاد للأكسدة وإن فاعليته الكيميائية تأتي من السلسلة الطويلة الحاوية على أواصر مزدوجة

متعاقبة والتي تكون معوضة بمختلف المجاميع. أن الـ (ROS) التـي يمكـن أن يكتسحها فيتامين (A) هي (O_2^1) وجذر البيروكسي (Peroxy Radical) (6).

الجزء العملي

1- قياس كمية فيتامين (A,C,E) في مصل الدم بتقنية الـ HPLCتم قياس كمية فيتامين (E) باستخدام الطريقة المحورة من (Deleen heer) حيث تم تحـضير محلـول مـانع الأكسدة والمحلول القياسي باستخدام طور متحرك (99%) ميثانول و (1%) ماء مقطر ، بطول موجي (287nm)، نوع العمود (ODs) C-18.(7)

أما فيتامين (C) فقد استخدم الطور المتحرك باذابة صوديوم أسيتيت و (EDTA) فـي الماء المقطر ويضبط الـ (pH) عند (6). وثبـت الطـول المـوجي عنـد (254nm) وباستخدام نفس العمود وظهر عند معدل زمن احتجاز (2.24±0.4) دقيقـة.(8) وكـذلك لفيتامين (A) استخدم الطور المتحرك (99%) ميثانول وثبـت الطـول المـوجي عنـد (330nm) وبنفس العمود وظهر عند معدل زمن احتجاز (18.57±0.45) دقيقة (9).

2-تقدير مستوى الأكسدة في مصل الدم بمقدار ما يتكون من الـ MDA ، ان الملـون داي الديهايد هو من النواتج الثانوية للأكسدة الفوقية والطريقة المستخدمة هي طريقة فوقية تعتمد على التفاعل بين مركب حامض الثايوبارتيورك والمالون داي الالديهايـد ليعطـي مركباً لونياً أعلى امتصاص له في (532nm) نانوميتر وقد استخدمت طريقـة (Fong) لهذا الغرض.(10)

3- تم تقدير مستوى الزئبق في مصل الدم بطريقة التذرية الباردة وتم استخدام طريقـة Sodium Borohydride redaction وهذه الطريقة لا تستطيع ان تميـز بـين صـيغ الزئبق المتنوعة في النموذج ويقاس الزئبق ككـل باسـتخدام مـصباح بطـول مـوجي (253.7nm).(11) ولقد تم اعداد جداول احصائية وبيان الفروقات بين القـيم المعنويـة .(12)

مناقشة النتائج

يتبين من الجدول رقم (1) ان مستويات الزئبق تزداد بزيادة التعرض كمـا تـزداد بزيادة مدة العمل لمجاميع العمال مقارنة مع مجموعة السيطرة، وهذا يتفق مع نتائج

الباحثين.(13) يبين الجدول رقم (2) النقص الحاصل في معدل فيتامين (E) عند مجاميع العمال مقارنة مع مجموعة السيطرة، وذلك لأن (Vit-E) هو أحد مضادات الأكسدة الذائبة في الدهون ويعمل على حماية الدهون الموجودة في الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي وكذلك فان فيتامين (E) له تأثير على الاستجابة المناعية الخلوية (Cellular Immune Response) حيث يعمل على تقوية الحالة المناعية وأن القلة الملحوظة في (Vit-E) نتيجة التلف الحاصل فيه وتقليل الاستجابة المناعية للعاملين كما أن تأثير فيتامين (E) يمثل في تحضير الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة (T-Helper Lyphocytes) والتي تعمل على تحويل أنتاج الاجسام المضادة من نوع (Igmالى نوعIgG) ان النتائج التي توصلنا اليها في بحثنا هذا تتفق مع ما جاء في نتائج الباحثين (14).من الجدول (3) نلحظ انخفاض في مستوى معدل تركيز فيتامين (C) في مجموعة العاملين مقارنة مع مجموعة السيطرة. إذ أن الانخفاض في فيتامين (C) مع طول المدة الزمنية لمجموعة العاملين كان واضحا.أن الدور المهم لفيتامين (C) كمادة مضادة للتأكسد ولا سيما في الوسط المائي كون هذا الفيتامين ذائب في الماء أي ينتشر بشكل أكبر وأوسع من بقية الفيتامينات الأخرى المضادة للتأكسد وله دور في منع الاكسدة وازالة الجذر الحر منه وارجاع فيتامين (E) الى الشكل الفعال. ولقد أكدت الدراسات على ان المعالجة بفيتامين (C) ومادة (Desferrioxamine) معاً يقلل من الإجهاد التأكسدي وكذلك يحافظ فيتامين (C) على الكلوتاثايون (الذي يحتوي على مجاميع (-SH) والمهمة في تقليل الأكسدة في الدم. ولفيتامين (C) أهمية في امتصاص جذر البيروكسيل في الطور المائي من (Thiol) والتوكوفيرول والبليروبين وحامض اليوريك فضلاً عن ذلك مساهمة فتيامين (C) في عملية تمثيل الحديد. (15)

من الجدول رقم (4) نلحظ انخفاض في مستوى تركيز فيتامين (A) بالنسبة لمجموعة العاملين مقارنة مع قيم السيطرة ونجد انخفاضا في مستوى فيتامين (A) مع طول المدة الزمنية للتعرض.

ان لفيتامين (A) عدة وظائف ومنها المشاركة في عملية الابصار بالتفاعل مع بروتين (Opsin) مكوناً الارجوان البصري ويعد ضرورياً في تكوين الكاربوهيدرات المخاطية

المكونة للمادة المخاطية لافراز الطبقة الطلائية والتي توفر الحماية للقنوات الجسمية مثل القنوات التنفسية والبولية والتناسلية وكذلك ملتحمة العين والقرنية واللثة.

وللفيتامين دور في تكوين عدد من الهرومونات مثل الكورتزون (Cortisone) و الـذي تفرزه غدة الأدرينالين والتي لها دورا في تمثيل الدهون والكاربوهيدرات وكذلك لفيتامين (A) أهمية في تقليل مستوى الأكسدة ويعد من الفيتامينات المضادة للاكسدة.

وكما هو معلوم فأن بيتا-كاروتين (β-Carotene) يعتبر المولد لفيتامين (A) وهو أيضاً من المواد المضادة للأكسدة ويوجد بيتا-كاروتين في (LDLc) مع فيتـامين (E) وبـذلك فهو يمنع أكسدة (LDLc).

كما يوصي بتناول فيتامين (A) لما له من أهمية في الحفاظ على شبكة العـين وملتحمـة العين والقرنية من الاضرار التي تلحق بالعين. وكذلك لفيتامين (A) دور في رفع مستوى (apo-A) ومن ثم رفع (HDLc) في الدم(16).

يبين الجدول رقم (5) أن هنالك زيادة في معدل مستويات الأكسدة الفوقية للدهون لمجاميع العمال مقارنة مع مجموعة السيطرة. إذ أستطاع الباحثون تفسير ميكانيكية الزيـادة فـي معدل الأكسدة الفوقية للدهون بسبب ارتفاع في مستويات الـ (ROS) وهـي مولـدات للجذور الحرة وسوف يحصل زيادة في التلف الحاصل في الخلايا ويسرع مـن عمليـة انتقال االالكترونات والأكسدة الفوقية للدهون في الأنسجة البيولوجية داخل الخلية الحيـة. وأن هذه النتائج تتفق مع بحوث أخرى وعند زيادة هذه الأكسدة فـان الجـذور الحـرة المتولدة والمتزايدة تؤدي الى التلف الكثيرمن الأغشية الخلوية والنهايات العـصبية فـي الدماغ. (18،17)

المصادر

1-Kostgniak,P. (1998)N-Y-State-Dent.J.Apr.,64(4):40-3.
2-Asano,S.and ETO,Ki . (2000) Review Articale: Acutein organic mercury vapor Inhaltion Poisoning Patnoi-int. Mar 50(3):169-74.
3-Berlin,.M.; Frazaker,J.and Nordber,G. (1989) Arch Envir-Health (18)719.
4-Bendich,A.; Machlin, L.J.; Seandurra,O.;Burtion,G.W. and Wayner,D.M.(1989) Frce Rad. Biol.Med., 2:419.

5-Weber,P.;Bendich,A. and Schalch,W. (1996) Journal of vitamin and Nutrition Research,66:19.
6-Mangles, A.; Block,G.; Frey,G.;,Pattwrson,B.; Taylok, P.; Norkus,E. and Levender,O.(1993) Jornal of Nutrition, 123:1054
7-Chow,F. and Omaye,S. (1983) Lipids. 18:837.
8-Rose,R. and Nohrwold,D.(1981) Anal. Biochem. 114:140-145.
9-Mcclean, S.R., Ruddel, M.and Gross,E. (1982) Clin. Chem. 28:693-696.
10-Fong,K.; Mc Cay,P.and Poyer,J. (1973)J. Bio.Chem.,248:7792-7.
11-Lawrenge,A.Kaplan(1987) Clinical chemistry Toranto.pp406.
12-George,A. Freguson,(1981) Statistical analysis in physiology and education, 5th-Mc Graw-Hill Book Company.
13-Lecnaphkivi, M.(1989) Renal function and long term low mercury vapor exposure Archives of Environmental Health May Dune 44 (3): 146-149.
14-Restek,.S.; Moncilvic,B.; Trosic,I.; Piasek,M. and Samarzija,M.(1996) Am. J.Bio.Chem.,47:8.
15-Halliwell,B.and Gutteridge,J.S. (1988) Human Toxical.7:7-13.
16-Mandel,N.and Chon,V. The phamacological basis of therapeytics 6th ed. NewYork.1980.Part5 Vitamins.
17-Strubelet,O.; Kremer,J.;Tilse,A.; Keogh,J. and Younes, M. (1996).J. Toxical Environ.Health .,Feb23:47(3):267-283.
18-Taraza,C.; Mohra, M.; Vargolici,B.; Dinu,V. (1997) Rom.J.Intern. Med ., 35 :890.

جدول رقم (1) يحدد معدل الانحراف القياس والمعدل ومستوى الدلالة لتركيز الزئبق عند مجموعة السيطرة ومجاميع العمال.

المجاميع	العدد	± S.D	Mean معدل الـــــ Hg (µg/dL)	T
Control C	15	0.357	0.1065	--
A	15	0.869	1.948	P<0.001
B	15	0.972	5.497	P<0.001

A=مجموعة العمال (من سنة الى 10 سنوات)

B=مجموعة العمال (من 11 سنة فما فوق)

جدول رقم (2): يحدد معدل الانحراف القياسي والمعدل ومستوى الدلالة لتركيز فيتامين (E)عند مجموعة السيطرة ومجاميع العمال.

المجاميع	العدد	± S.D	Mean معدل الـ E (mg/dL)	T
Control C	15	0.16	1.24	--
A	15	0.21	0.926	P<0.05
B	15	0.28	0.833	P<0.001

A=مجموعة العمال (من سنة الى 10 سنوات)

B=مجموعة العمال (من 11 سنة فما فوق)

C=مجموعة السيطرة.

جدول رقم (3):يحدد معدل الانحراف القياسي والمعدل ومستوى الدلالة لتركيز فيتـــامين (C) عند مجموعة السيطرة ومجاميع العمال.

المجاميع	العدد	± S.D	Mean معدل الـ (Vit-C) (mg/dL)	T
Control C	10	0.1	1.94	--
A	10	0.19	1.54	P<0.05
B	10	0.24	0.78	P<0.001

A=مجموعة العمال (من سنة الى 10 سنوات)

B=مجموعة العمال (من 11 سنة فما فوق)

C=مجموعة السيطرة.

جدول رقم (4)يحدد معدل الانحراف القياسي والمعدل ومستوى الدلالة لتركيز فيتـــامين (A) عند مجاميع السيطرة ومجاميع العمال

المجاميع	العدد	± S.D	Mean معدل ال (Vit-A) (µg/dL)	T
Control C	10	10.2	65.20	--
A	10	12.4	43.92	P<0.05
B	10	13.5	38.04	P<0.001

A=مجموعة العمال (من سنة الى 10 سنوات)

B=مجموعة العمال (من 11 سنة فما فوق)

C=مجموعة السيطرة.

جدول رقم (5)يحدد معدل الانحراف القياسي والمعدل ومستوى الدلالـــة (MDA) عنـــد مجموعة السيطرة ومجاميع العمال.

المجاميع	العدد	± S.D	Mean معدل الـ (MDA) (n mol /dL)	T
Control C	10	0.92	10.05	--
A	10	1.20	16.11	P<0.05
B	10	2.73	33.87	P<0.001

A=مجموعة العمال (من سنة الى 10 سنوات)

B=مجموعة العمال (من 11 سنة فما فوق)

C=مجموعة السيطرة.

Effect of Mercury Exposure on the Non Enzymatic Defense System in Workers

J.H.Muhsen* , A.M. Ahmood*, W.F. AL-Taie , K.A.AL-Zbaidi***
***Ministry Of Science And Technology .**
**** Department Of Chemistry,College Of Education Ibn – AlHaitham University Of Baghdad.**

Abstract

The role of free radical generation and lipid peroxidation in most diseases as a scientific explanation for development and destractive process in biological tissues is confirmed. In this study, an attempt to shed light on the possible relation between some biochemical parameters as a marker for antioxidant in sera of (40)workers in the field of mercury was investigated. The workers were divided into two groups according to the period of occupation.

Group A	Occupation period <10
Group B	= >10
Group C	Healthy control, non exposed to Hg

Some non- enzymatic antioxidant were investigated in sera of all subjects included in the study (i.e. vit A, Vit C, and Vit E) using HPLC technique, MDA was determined and used as a biochemical marker of LPO(Lipid Peroxidiation) .

The results indicate lower levels of all vitamins in sera of workers compared to control group. An elevation of MDA was recorded in all workers compared with healthy controls. The destructive role of free radicals to human organize was confirmed , also leads to imbalance between antioxidants and LPO due to mercury exposure which positively correlate with duration of industrial occupation.