دراسة تأثير التدخين على تركيز **(MDA)**، و **فيتامين (E)** وبعض العناصر الحيوية للجسم

جعفر هاشم محسن* د.جميل موسى د. قاسم كاظم محمد*** حليمة جابر محمد***

حنان فاضل عباس*

*وزاره العلوم والتكنولوجيا الجامعة ألمستنصريه ** جامعة الكوفة***

الخلاصة:

اهتمت هذه الدراسة بإلقاء الضوء على العلاقات المحتملة بين الدليل الكيميائي الحياتي لعملية الأكسدة الفوقية للدهون (المالون ثنائي الالدهايد MDA) ، فيتامين (E) والعناصر الأساسية(Fe, Cu) وتأثير التدخين في مصل دم (60) من المدخنين ، وقد قسمت مجاميع المدخنين إلى مجموعتين حسب فترات التدخين.

أما المجموعة الثالث فقد كانت من المتطوعين الأصحاء غير المدخنين. تم قياس معدل الأكسدة الفوقية للدهون بمقدار ما يتكون من المالون ثنائي الالدهايد ولوحظ ارتفاع في مستوى إل (MDA) حيث بلغت (48) نانومول/100 مل، لمجاميع المدخنين مقارنةً مع مجموعة السيطرة التي بلغ فيها مستوى إل (9.6) (MDA) نانومول/100 مل، وأيضاً تم قياسي تركيز فيتامين (E) وأظهرت الدراسة إن نقصاً واضحاً في تركيز فيتامين (E) لدى المدخنين مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما تم قياس مستويات بعض العناصر الأساسية(Fe, Cu) وقد وجد إن هناك زيادة حاصلة في تركيز الحديد والكالسيوم والنحاس لمجاميع المدخنين مقارنة بمجموعة السيطرة. المقدمة:ئج الدراسة دور الأكسدة الفوقية للدهون والجذور الحرة في التلف الحاصل في خلايا الأعضاء التي تتأثر بالتدخين وهذا يقترن بالقلة في مستويات الأنظمة الدفاعية من مضادات الأكسدة لدى المدخنين.

المقدمة:

يعد التدخين من المشاكل الاقتصادية والصحية للإنسان، و خاصة سرطان الرئة [1]و أمراض القلب وأمراض الكبد وتشير منظمة الصحة العالمية إلى موت شخص كل ست ثوان ونصف بسبب التدخين[2].فقد وجد أن التدخين يتسبب في زيادة السمية لكثير من الأدوية بسبب تحفيزه لبعض الأنزيمات التي تتعامل مع هذه الأدوية بالكبد و يتسبب أيضا في إضعاف قدرة الكبد على التخلص من المادة الضارة التي تدخل الجسم ومن الممكن أن تؤثر أيضا في مستوى الأدوية التي يتناولها المريض لعلاج مرض الكبد. وكذلك وجد ارتباط بين التدخين و سرطان الكبد.ويزيد التدخين أيضا من شدة التهاب الكبد الناتج عن الفيروسات كما في مرضى الالتهاب الفيروسي المزمن نوع "سى" و ينعكس ذلك على مستوى إنزيمات الكبد فنجدها أعلى لدى المرضى المدخنين مقارنة بغيرهم من غير المدخنين. وقد وجد أن درجة الالتهاب و مرحلة التليف الناتج عن الفيروس الكبد ي "سى" أشد في المدخنين عن غيرهم . ومن المعروف أن المدخنين لا يعانون من نقص الهيموكلوبين و ذلك لاستمرار إنتاجه في النخاع بسبب إحساس الأنسجة بنقص في الأوكسجين. أن المعادن الثقيلة تُسبّبُ ضرر بالغ بشكل ملحوظ على الصحةِ الإنسانيةِ في الحقيقة وضّحتْ بَعْض البحوث تأثير بَعْض المعادنِ الثقيلةِ تكون سامّةِ [2,3] يدخل الحديد في تركيب الهيموكلوبين لذا فان مستوى الحديد بالدم يكون مرتفعا لدى المدخنين. ومن المعروف أيضا أن الحديد سام للكبد إذا ارتفعت مستوياته في الأنسجة. ومرضى ألالتهاب الفيروسي "سى" المدخنين يستجيبون بنسبة أقل للعلاج بمضادات الفيروس.لذا على مريض الكبد أن يتوقف عن التدخين حيث تعتبر من الخطوات العلاجية الهامة التي لا تكلف وربما تقلل من الحاجة إلى بعض الأدوية الأخرى وأيضا فان التوقف عن التدخين يزيد من نسب نجاح العلاج بمضادات الفيروس مثل الانترفيرون يحتوي دخان السكائر خليطا ((Mixture كيميائيا معقدا للغاية وخطيرا على صحة الإنسان وعلى كافة عناصر البيئة ، فهو يحتوي على أكثر من 3800 مادة كيميائية سامة ، ومن أهمها نذكر أول أكسيد الكربون CO وكبريتيد الهيدروجين H_2S والأمونيا NH_3والفورمالدهايد HCHO والأسيتالدهايد CH_3CHO وسيانيد الهيدروجين [4] HCN]، بالإضافة إلى طائفة كبيرة من الأحماض المختلفة ، من أهمها حامض الكربونيك H_2CO_3 وحامض النيتريك HNO_3 وحامض الخليك CH_3COOH وحامض الفورميك [5] HCOOH].

طريقة العمل:

1- تقدير مستوى الأكسدة في مصل الدم بمقدار بقياس إلMDA

إن المالونيل ثنائي الالديهايد هو من النواتج الثانوية للأكسدة الفوقية للدهون لذا فان قياس هذه المادة تعطي انطباعاً عن مستوى الأكسدة والطريقة المستخدمة هي طريقة لونيه تعتمد على التفاعل بين مركب حامض الثايوباريتورك و المالونيل ثنائي الالديهايد ليعطي مركباً لونياً أعلى امتصاص له في (532) نانومتر وقد استخدمت طريقة (Fong) لهذا الغرض.[6]

المحاليل المستخدمة: -

أ- 0.5% (وزن: حجم) ثلاثي كلورو حامض الخليك (TCA).
ب- 0.5% (وزن: حجم) حامض الثايوباريتورك (TBA).
ج- 70% ثلاثي كلورو حامض الخليك (TCA).
ء- كلوروفورم.

2-قياس كميه فيتامين (E) في مصل الدم باستخدام HPLC

تستعمل في هذه الطريقة أعمدة صغيرة ذات أقطار بنحو ((3-1 ملم تحتوي على ساند مؤلف من دقائق إحجامها بنحو (30) مايكرو متر يضغط محلول الاسترداد (Eluent) خلال العمود بمعدل جريان عالٍ (5-1) مل/دقيقة وعمليات الفصل بهذه الطريقة أسرع (100) مرة من طريقة كروماتوغرافيا عمود السائل الاعتيادي. لذا وجدت إل (HPLC) تطبيقات واسعة في تشخيص المركبات العضوية وفصلها على نطاق واسع.
لقياس كمية فيتامين (E) في مصل الدم استخدمت الطريقة المحورة من ([7]Deleen heer).

3-تقدير العناصر الضئيلة والأساسية (Fe,Cu) في مصل الدم بطريقة الامتصاص الذري:-

تشكل تقنية الامتصاص الذري للعناصر الفلزية جانباً مهما في الكيمياء التحليلية إذ تستخدم بتراكيز واطئة وانتقائية عالية . يعرف التحليل بالامتصاص الذري بأنه طريقة لحساب أو تقدير عنصر (أو مجموعة عناصر) وذلك بقياس مقدار الامتصاص لشعاع رنين ذلك العنصر بعد مروره عبر بخاره الذري. وبدأت أهمية طيف الامتصاص الذري (AA أو AAs) في منتصف الستينات وان المبدأ الأساس لهذه التقنية هو قياس امتصاص أحادى الموجة بوساطة غيمة من ذرات المادة المحللة (Analyte).

تقدير النحاس (Cu) و الحديد(Fe)

تحضر نماذج من تراكيز مختلفة للنحاس في الماء المقطر الخالي من الأيونات وتؤخذ هذه النماذج لسحبها بأنبوب الرذاذ الخاص بجهاز الامتصاص الذري الذي من خلاله يمكن إيجاد الامتصاص (A) لكمية النحاس والحديد الموجودة في كل تركيز من هذه النماذج وبعدها يمكن قراءة الامتصاصية لكمية النحاس والحديد الموجودة في المصل. وقد استخدم مصباح يطول موجي (324.8) نانومتر خاص بعنصر النحاس ومصباح بطول موجي (248.3) نانومتر خاص بعنصر الحديد. لرسم منحني معايرة قياسي بين الامتصاصية وتركيز أيونات النحاس وتركيز أيونات الحديد..

النتائج والمناقشة:

يبين لنا الجدول رقم (1) إن هنالك زيادة في معدل مستويات الأكسدة الفوقية للدهون لمجاميع المدخنين مقارنة بمجموعة السيطرة. إذ استطاع الباحثون [8] تفسير ميكانيكية الزيادة في معدل الأكسدة الفوقية للدهون بسبب ارتفاع في مستويات إل (ROS) وهي مولدات للجذور الحرة وسوف يحصل زيادة في التلف الحاصل في الخلايا ويسرع من عملية انتقال الإلكترونات والأكسدة الفوقية للدهون في الأنسجة البيولوجية داخل الخلية الحية. وإن هذه النتائج تتفق مع بحوث حديثة [9,10] وكذلك فان نتائجنا تتفق مع الباحثين.[11]
وعند زيادة هذه الأكسدة فان الجذور الحرة المتولدة والمتزايدة تؤدي إلى التلف الكثير من ألأغشية الخلوية والنهايات العصبية في الدماغ.[12]

جدول رقم (1)
يحدد معدل الانحراف القياسي والمعدل ومستوى الدلالة (MDA) عند مجموعة السيطرة ومجاميع المدخنين.

المجاميع	العدد	(MDA) (n mol/dL) معدل ±S.D	Mean	T

----	10.05	0.92	30	Control A
P<0.05	16.11	1.20	60	B
P<0.001	33.87	2.73	60	C

A = مجموعة السيطرة.
B = مجموعة المدخنين (من سنة إلى 10 سنوات).
C = مجموعة المدخنين (من 11 سنة فما فوق).

يبين لنا الجدول رقم (2) النقص الحاصل في معدل فيتامين (E) عند مجاميع المدخنين مقارنة بمجموعة السيطرة وذلك لأن (Vit-E) هو أحد مضادات الأكسدة الذائبة في الدهون ويعمل على حماية الدهون الموجودة في الأغشية الخلوية من التلف التاكسدي وكذلك فان فيتامين (E) له تأثير على الاستجابة المناعية الخلوية (Cellular Immune Response) حيث يعمل على تقوية الحالة المناعية[13] وإن القلة الملحوظة في (Vit-E) نتيجة التلف الحاصل فيه وتقليل الاستجابة المناعية للعاملين[14] كما إن تأثير فيتامين (E) يمثل في تحفيز الخلايا اللمفاوية التائيه المساعدة (T. Helper Lymphocytes) والتي تعمل على تحويل إنتاج الأجسام المضادة من نوع IgM) إلى نوع (IgG[15] إن النتائج التي توصلنا إليها في بحثنا هذا تتفق مع ما جاء في نتائج الباحثين.[16]

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

T	Mean	(Vit-E) (mg/dL) معدل ±S.D	العدد	المجاميع
----	1.24	0.16	30	Control A
P<0.05	0.926	0.21	60	B
P<0.001	0.833	0.28	60	C

A, B, Cكما في جدول رقم واحد

يبين لنا الجدول رقم (3) إن مستوى الحديد الحر في المصل يزداد في مجاميع المدخنين مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول رقم (3)

يحدد معدل الانحراف القياسي والمعدل ومستوى الدلالة للحديد عند مجموعة السيطرة ومجاميع المدخنين.

T	Mean	(Fe (µg/dL معدل الـ S.D±	العدد	المجاميع
---	193.9	14.25	30	Control A
P<0.01	283.3	42.51	60	B
P<0.001	371.5	52.12	60	C

A, B, Cكما في جدول رقم واحد

ويمكن تفسير ذلك بان الحديد محفزاً للأكسدة الفوقية للدهون من خلال تفاعل (فنتون) [17].
إن (H_2O_2) يعمل على أكسدة أيونات الحديد الثنائية من خلال تفاعل فنتون وهي بذلك تولد نوعاً من أنواع الـ (ROS) التي تكون اخطر من (H_2O_2) نفسه مثل جذر ($O^{\cdot}H$) داخل الجسم (Invivo) حيث إن تفاعل فنتون يتبع المعادلة التالية: -

$$M^{+n} + H_2O_2 \rightarrow M^{+(n+1)} + \dot{O}H + OH^-$$

وإن (M^{+n}) حديد أو نحاس.
إن التفاعل الذي يقوم به الحديد معروف ويمكن تمثيله بالمعادلة والميكانيكيات المقترحة

$$Fe^{+3} + O^{\cdot}H + OH \longrightarrow {}^{-}Fe^{+2} + H_2O_2$$

إن الناتج الأولي لتفاعل فنتون قد يكون معقد حديد أوكسجين (Oxo-iron complex) باحتمال تكون الفيريل (Ferryl) والذي يتحلل ليعطي جذر الهايدروكسيل وفق المعادلة التالية.

$$Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow [FeOH]^{+3} \text{ or } [FeO]^{+2} \rightarrow \dot{O}H + Fe^{+3} + \bar{O}H$$

إن تكون جذر الفيريل الذي فيه يكون العد التاكسدي للحديد (4+) قد اقترح من قبل العالم((Walling, C [81]] كما إن جذر الفيريل (Ferryl radical) يكون جذراً فعالاً في بعض أنزيمات البيروكسيديز.[19]
أما التفاعل بين جذر ($O^{-}_{2}{}^{\cdot}$) والـ (H_2O_2) بوجود أيونات ألحديديك (Fe^{+3}) قد طلق عليه تفاعل هابر-ويبس المحفز بالحديد (Iron-Catalyzed Haber Weiss reactions)

الذي يطلق عليه في بعض الأحيان السوبر اوكساید المؤدي الى تفاعل فنتون

(Super Oxide driven Fenton Reaction)

$$^{\bullet}O_2^- + H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{+3}} \dot{O}H + \bar{O}H + O_2$$

إن هذا التفاعل يؤدي إلى جزء من التلف الحاصل في الخلايا الحية وذلك عن طريق تولد إل (ROS). إن الشد التاكسدي (Oxidative Stress) يعمل على تحرير الأيونات من البروتينات المرتبطة بها وبهذا تجهز هذه الأيونات لتفاعلات الجذور الحرة ممثلاً (O_2)ألذي يمكن أن يحرر الحديد من الفرتين (Ferrittin) لذا سوف يرتفع مستوى الحديد في المصل.[20]
يبين لنا الجدول رقم (4) ارتفاع مستوى النحاس لدى مجاميع المدخنين مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول رقم (4)
يحدد معدل الانحراف القياسي والمعدل ومستوى الدلالة للنحاس عند مجاميع المدخنين ومجموعة السيطرة.

المجاميع	العدد	S.D± معدل إل (Cu (µg/dL	Mean	T
Control A	30	6.8	100.54	----
B	60	10.338	125.5	**P<0.05**
C	60	16.240	210.11	P<0.001

A, B, Cكما في جدول رقم واحد

إن النحاس هو الجزء الأساسي في بعض الأنزيمات مثل أنزيم السايتوكروم - C - أكسميديز والسلفاي دريل-اوكسيديز (SULPHY DRYI-OXIDASE) وان هذه الأنزيمات تخلق الأجسام المناعية إل (IgM) فان أي خلل أو نقصان في هذه الأنزيمات يؤدي إلى خلل في تنظيم الأجسام المناعية.[21]

بما إن وظيفة النحاس في تحفيز التفاعلات المؤدية إلى تكوين الجذور الحرة من خلال تفاعل فنتون معروفة، إذ إن الزيادة في النحاس تؤدي الى تحفيز أو زيادة في تفاعل فنتون ومن ثم الزيادة في الجذور الحرة والأكسدة الفوقية للدهون المؤدية الى التلف الذي يحصل في الخلايا وان نتائج الدراسة تتوافق من حيث المبدأ مع نتائج الباحثين [22] كما تتفق الدراسة مع الباحثين [11] (بخصوص النحاس وMDA).

المصادر:

Doll, Rich; and Hilly, A. Bradford January (1999). "Smoking and carcinoma of the lung.-1 -Preliminary report". *British Medical Journal* 2 (4682): 739–48. NIH Publication No. 99-9492

mussalo-rauhamaa H., Salmela S.S, (1986), "Some trace and heavy metals and pesticides in .2 man", *Arch. Environ. Health* 41, 49-55

El-Agha O., and Gokmen I.G., (2002),"smoking habits and cadmium intake in. turkey", *boil.*-3 *Trace Elem., Res*., 88 (1), 31-43

Okubo, M.; Kuroki, T.; Kametaka, H.; Yamamoto, T. (2001) *Industry Applications*, IEEE-4 Transactions on Volume 37, Issue 5, Page(s):1447 – 1455

von Hanns K. Frank (1992) Technology & Engineering – 290 Seiten -5

6-Fong. K. L. McCay, P.B. & Poyer, J.L. (1973) *J. Bio. Chem*. 248:7792-7.

7-Deleenheer, A. P., Debovere, V.O, Cruyl, A. A. & Cleeys A. E (1979), *Journal of Chromatography* 162, 408-413.

8-Badger, A.M., Hanldler, J. A., Genell. C.A., Herzyk, D., gore, E., polsky, R., Webb, L. & bugelski, P.J., (1999) *INT. J. Immuno. Pharmacol*., 21:161.

9-Taraza, C., Mohra, M., Vargolici, B., Dinu, V., (1997) *Rom. J., Intern. Med*., 35:89.

10-Ernst. P., (1999) *Am. So. Nutr. Sci*., 147:9625.

11-Strubelt-O., Kremer- J, Tilse-A., Keogh- J, Pentz-R., Younes- M (1996) *J. Toxicol – Environ-Health*. Feb.23: 47(3): 267-83.

12-Dabrwska-Bouta, B., Struzynska, L. & Rafalowska, U., (1996) *Mol. Chem. Neuropathol*., 29:127.

13-Anetor, J.I. & Adeniyi, F. A., (1998) *Afr. J. Med. Sci*., 27:169.

14-Restek-Samar Zija, N., Momcilvic, B., Trosic, I., Piasek, M. & Samarzija, M., (1996) *Am. J. Bio Chem*., 47:8.

15-Tanaka, J., Fujiwara, H. & Torisu, M. (1979)

Immunology, 38:727.
16-Comstock, G. W., Burke, A. E., Hoffman, S. C., Helzlsouer, K. J., BenDich, A., Masi, A. T., Norkns, E. P., Malamet, R. L. & Gershwin, M. E., (1997) *Ann. Rheum. Dis*., 56:323
17-Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. C., (1990) *Methods Enzymol*., 136:1.
18-Wallings, C., (1982) "*Oxidases Related Redox System*, Oxford" pp.85-97.
19-Dunford, H. B., (1982) *Adv. Lonorg. Bio chem*., 4:41-68.
20-Halliwell, B. & Auoroma, O. I., (1991), *J. Clin. Chem*. 281:9.
21-Adamo., (1995) *European Journal of Clinical Nutrition* 49:703-717.
22-Mazzetti, I., Grigolo, B. Borzi, R.M., Meliconi, R. & Facchini, A. (1996) *int. J. Din, Lab, Res*. 26(4): 245-249.

Abstract:

In this study we attempted to shed alight on the possible relation ships between lipid peroxidation markers, serum malonyl di-aldehyde (MDA) with the effect of smoker, using serum samples obtained from (60) smoker due to their occupation.
These smokers were divided in two groups according to their occupational period. The third group consists of healthy volunteers that were No smoker in the control group.

Our results showed that the level of (MDA) was elevated in the smokers and the highest level were found to be (48.00) n mol/dL for smokers with longest period compared to the control group (9.6) n mol\dL.

Some serum antioxidants such as vitamin (E) (α-TOH) were evaluated and were found to be lower in all smokers compared with control group. Serum, Copper, and Iron levels were also evaluated and were found higher in smokers more than the control group.