دراسة فسلجيه و كيموحيوية لتأثير بعض الملوثات المطروحة حول مدينة بيجي في عدد من النساء الحوامل وغير الحوامل السليمات

رواء محمد عبيد ، منيف صعب ساجت

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة تكريت، العراق

الملخص

هدفت الرسالة الى تقييم بعض متغيرات الدم وبعض المتغيرات الكيموحيوية والفسلجية لدى النساء الحوامل في مدينة بيجي ومدى تأثير التلوث بالعناصر النزرة مثل الرصاص والنحاس والكاديوم لديهن قد قمت بجمع عينات دم نساء حوامل خلال مراحل الحمل الثلاث المتمثلة بالمجموعات شهر كمرحلة اولى وA(1-3)B (4-6) شهر كمرحلة ثانية C(7-9) أشهر كمرحلة ثالثة ونساء مصابات بضغط الدم(D) ظهرت النتائج في هذه الدراسة ارتفاع معيار كتلة الجسم للنساء الحوامل والنساء الحوامل المصابات بضغط الدم (A,B,C,D) كلما تقدم الحمل مقارنة مع النساء المتزوجات غير الحوامل كمجموعة سيطرة (E) عند مستوى احتمالية ($p<0.05$) قد اظهرت النتائج ارتفاع معيار كتلة الجسم للنساء الحوامل والنساء المصابات بضغط الدم كلما تقدم الحمل مقارنة مع النساء المتزوجات غير الحوامل المجموعة E وقد لوحظ ارتفاعاً معنوياً في تركيز الالبومين في مصل الدم وتراكيز الكوليسترول للنساء الحوامل والنساء الحوامل المصابات بضغط الدم مقارنة مع النساء المتزوجات غير الحوامل كمجموعة سيطرة عند مستوى احتمالية ($p<0.05$). كما بينت النتائج ارتفاعاً معنوياً في تركيز البيليروبين للنساء الحوامل والنساء الحوامل المصابات بضغط الدم مقارنة مع النساء المتزوجات غير الحوامل وخاصة في المراحل الاخيرة من الحمل. كما اظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في فعالية انزيمات الكبد المتمثلة بأنزيم الفوسفيتز القاعدي وانزيم اسبارتيت ناقل امينيز وانزيم النين ناقل امينيز وخاصة في المرحلتين الاخيرتين من الحمل مقارنة مع النساء المتزوجات غير الحوامل كمجموعة سيطرة.

المقدمة

تعد مدة الحمل فترة حساسة على الام حيث فيها عدة تغيرات فسيولوجية وكيموحيوية ونفسية اثناء نمو الجنين وقد تصاب بعض النساء بسوء تغذية وتعد في زيادة حدوث الامراض للأمهات الحوامل ووفيات الاجنة [1] ان تزايد تعرض الانسان في الآونة الاخيرة للعديد من الملوثات البيئية حيث ان بعضها يشكل خطراً مباشراً على حياته. وتعد الام الحامل كمثال من بين جميع افراد المجتمع تتعرض الى هذه الملوثات لذا من أكبر المخاوف هو ان تؤثر هذه المركبات تأثيراً سلبياً على الجنين فيصاب بتشوهات خلقيه ويوجد الكثير من الدراسات التي ربطت بين تركيز بعض المعادن الثقيلة التي تكون في الدم وعلاقتها بإصابة الجنين بهذه التشوهات [2] يعد الحمل حالة طبيعية تتكيف معها المرأة الحامل خلال المدة من تخصيب البيضة الى الولادة ويستمر تسعة أشهر. ويحدث فيه تغيرات هرمونية وكيموحيوية ونفسية توثر على العمليات الايضية ووظائف الكبد الافرازية. وفي هذه المرحلة المجهدة للام وقد تتعرض الام للكثير من الامراض الملازمة لفترة الحمل منها الامراض القلبية والوعائية المتمثلة بارتفاع ضغط الدم وفرط السكر وتغيرات في وظائف الكبد وانخفاض الصفيحات الدموية [6].

المواد وطرق العمل

تم جمع عينات الدراسة في مستشفى بيجي والعيادات المختبرات الخارجية. اذ تم جمع 150عينة وقسمت الى مجموعات A,B,C,D ومجموعة السيطرة E خلال فترة خمس في اشهر مختلفة من الحمل ومجموعة سيطرة تم سحب 8 ML لكل عينة قسمت 3ML وضعت في انابيب اختبار حاوية على مادة مانعة للتخثر لغرض أجراء المتغيرات الدموية اما الكمية الباقية اجريت عليها عملية الطرد المركزي لفصل المصل واجراء الفحوصات الكيموحيوية. تم قياس الوزن والطول لكل امرأة لغرض قياس معيار كتلة الجسم حسب لمعادلة وذلك بقسمة الوزن بالكيلو غرام على مربع الطول بالمتر.

قدر تركيز الالبومين في المصل باستعمال عدة التحاليل الجاهزة من شركة Bio labo الفرنسية . وتم قياس تركيز الالبومين في المصل يتضمن مبدأ العمل تفاعل محاول Bromocresol Green ذي الاس الهيدروجيني 4.2 مع الالبومين ليعطي مركباً ملوناً ويتم قياس الطول الموجي 630نانوميتر. حسب تركيز الالبومين في مصل الدم وفق المعادلة الاتية:

تركيز الالبومين g/dl =شدة امتصاصية محلول العينة/ شدة امتصاصية المحلول القياسي × تركيز المحلول القياسي.

ت	المحاليل	مكوناتها وتراكيزها
1	محلول رقم (1) Bromocresol green	Succini acid 83 mmol| \ L Bromocresol green 167mmol\L Sodium hydroxide 50mmol\L Polyoxyethylene monolauryl ether Preservative 1g\L
2	محلول رقم (2) Standard	Bovin albumin 5g\dl 750mmol\L

طريقة العمل:

تم استعمال ثلاثة انابيب بلاستيكية جافة ونظيفة وحاوية كل منها على محاليل خاصة كما مبين في الجدول التالي:

ت	المادة	الانبوب الكفي	الانبوب القياسي	انبوب التعقيم
1	محلول رقم (1)	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
2	ماء مقطر	5مايكرون	_	_
3	المصل	_	_	5مايكرون
4	محلول رقم (2) المحلول القياسي	_	5 مايكرون	_

وضعت المحاليل في الانابيب المرقمة ومزجت جيدا وتركت لمدة ثلاث دقائق في الحاضنة او 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة ثم قرات بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند طول الموجي 630 nm.

اما قياس البيليروبين تم اخذ كمية من الدم ووضع في الانبوبة الشعرية الخاصة بقياي TSB الى حدود ثلاثة ارباع ثم غلق احدا النهايات بمادة خاتمة ووضعت في جهاز الطرد المركزي لمدة خمس دقائق وبسرعة ثلاثة الاف دورة في الدقيقة وبعدها تمت القراءة في جهاز المطياف الضوئي [1] لمعرفة تركيز البيليروبين في المصل.

قدر تركيز الكوليسترول في المصل عن طريق استخدام الطريقة الانزيمية Enzymatic Method وتم قياس تركيز الكوليسترول في مصل الدم بعد ان تم اكسدته وتحيله مائياً بوساطة الانزيمات اذا يتكون Quinonimine من بيروكسيد الهيدروجين H2o2 وال 4- Aminophenazone بوجود Phenol و Peroxidase . وقدر قياس تركيز انزيم الفوسفيتيز القاعدي في المصل حيث تم قياس الشدة اللونية لفاعلية انزيم الفوسفيتيز القاعدي حسب التفاعل الاتي:

Phenol Alkaline phosphatase phenyl phosphate pH 10 + phosphate Potassium ferricyanide), (amino-4-antipyrine)

حيث قيس الفينول المتحرر وان وجد زرنيخ الصوديوم في المحلول لإيقاف التفاعل الانزيمي [8].

المحاليل المستخدمة

ت	المحاليل	مكوناتها وتراكيزها
1	محلول رقم (1) المحلول الدريء	Pipes phenol solution pH 6,9 90mmol\L 26mmol\L
2	محلول رقم (2) الانزيم	Cholesterol Esters (CHE) 300U\L Cholesterol Oxidase (CHOD) 300 U\L
3		Peroxidase (POD) 1250 U\L 4-Aminophenazone (4-AP)0.4mmol\L
4	محلول رقم (4) المحلول القياسي	200mg\dl

طريقة العمل

حضر محلول Working solution وذلك بإذابة العلبة الثانية التي تحتوي على الانزيمات في محتويات العلبة الاولى ذات المحلول الداريء وخلط ورج المزيج برفق لإذابة الانزيم والمحلول الناتج يكون ثابتا لمدة اربعة اشهر بدرجة حرارة 8–2 م ولمدة 40 يوما بدرجة 15– 25 م.

نأخذ انابيب اختبار نظيفة وجافة ونضع فيها المحاليل التالية:

ت	المادة	الانبوب الكفي	الانبوب القياسي	انبوب العينية
1	محلول العمل (WR)	1,0ml	1,0ml	1,0ml
2	المحلول القياسي	–	10مايكرون	–
3	المصل	–	–	10مايكرون

رجت الانابيب جيدا وتركت في الحاضنة لمدة خمس دقائق او تترك بدرجة حرارة المختبر لمدة عشر دقائق وتمت القراءة بواسطة المطياف الضوئي.

قياس تقدير تركيز انزيم الفوسفيتيز القاعدي في المصل Determination of alkaline phosphates concentration in serum

طريقة العمل:

تم قياس الشدة اللونية لفاعلية انزيم الفوسفتيز القاعدي حسب التفاعل التالي

Phenol lAkaline phosphatasephenyl phosphatepH 10+ phosphate

(potassium ferricyanide) و (amino-4 antipyrine) حيث قست الفينول المتحرر

وان وجود زرنيخ الصوديوم((sodium arsenate في المحلول لإيقاف التفاعل الانزيمي

وتمت الحساب تركيز انزيم الفوسفيتيز القاعدي وفق المعادلة الاتية :

تركيز انزيم الفوسفيتيز القاعدي (ul) =شدة الامتصاصية محلول العينية –شدة امتصاصية المحلول الكفي \شدة امتصاصية المحلول القياسي nx .

المحاليل المستخدمة:

ت	المحاليل	مكوناتها وتراكيزها
1	محلول رقم 1 Sub Strate Buffer	Di sodium phenyl phosphate 5 mmol\L Carbonat _bi carbonate Buffer PH10 50mmol\L Sodium merthiolate 0,1 g\L
2	محلول رقم 2 Standard	Phenol equal to arsenate 20 king and king
3	محلول رقم 3 Blocking Reagent	4-amino anti pyrine 60mmol\L Sodium arsenate 75g\L
4	محلول رقم 4 Color Reagent	Potassium ferricyanide 150mmol\L

تقدير فعالية انزيم ناقل الحامض الاميني _ اسبارتيت في مصل الدم

قدر تركيز انزيم AST في المصل باستعمال عدة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية [9].

لقياس تركيز الانزيم استعملت الطريقة اللونية في حساب فعالية الانزيم عن طريق قياس تركيز الهايدرازون والمتكون من تفاعل البايروفيت مع 4.2 مع ثنائي نيتروفينيل هايدرازين.

طريقة العمل:

تم استعمال انبوب بلاستيكي واحد لكل عينة ووضعت المحاليل الاتية فيه:

ت	انبوب العينة
محلول رقم 1	1ml

وحضنت لمدة خمس دقائق بدرجة حرارة 37م واضيف اليها

انبوب العينة	
المصل	200 مايكرون

ومزجت وحضنت لمدة ساعة في درجة حرارة 37 م واضيف اليها

انبوب العينة	
محلول رقم 2	1ml

ومزجت وتركت لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة واضيف اليها

انبوب العينة	
NaOH	10 ml

ومزجت وتركت لفترة خمس دقائق ففي درجة حرارة الغرفة ثم قرات بواسطة جهاز المطياف الضوئي.

تقدير فعالية انزيم ناقل الحامض الاميني – الالنين في مصل الدم .

اعتمد مبدا قياس فعالية الانزيم باستعمال طريقة لونية وذلك عن طريق قياس تركيز الهايدروزون المتكون من تفاعل البايرفيت مع _ 4,2 ثنائي نترفينيل هايدرازين _ 2,4وكما في المعادلة الاتية:

L-Alanine +2- Oxoglutarate === Pyruvate+L-Glutate.

تقدير كمية العناصر النزرة في مصل الدم Determination of Trace Element in Blood

طريقة العمل:

تم اخذ (1) مل من مصل الدم ووضع في دورق زجاجي بحجم (50) ويضاف له (2) مل من حامض النتريك المركز ويكمل الحجم الى (25) مل بالماء المقطر ويوضع على سطح ساخن ويترك الى ان يصل الى اقل حجم ممكن ثم يكمل الحجم الى 25 مل الماء المقطر ثم يوضع على سطح ساخن مرة اخرى للوصول الى اقل حجم ممكن ايضا ثم يضاف له 2 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز ويكمل الحجم الى 25 مل من ثم يجفف مرة اخرى ثم يضاف له 25 مل من الماء المقطر ويقاس امتصاص هذا المحلول بجهاز المطياف الذري موديل (180–30) المجهز من قبل شركة Hitachi اليابانية وحسب الطول الموجي لقياس كل عنصر حيث يقاس الكاديوم على الطول الموجي 228,8 nm عنصر الرصاص على الطول الموجي 217 nm وعنصر النحاس 324,8nm. وتم حساب النتائج بالرجوع الى المنحنى القياسي لكل عنصر محضر بنفس الطريقة وتحت نفس الظروف [10].

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج وجود ارتفاعاً معنوياً في معيار كتلة الجسم عند مستوى احتمالية ($p<0,05$) الفئة العمرية اقل من20 سنة للنساء الحوامل لمجموعة A,B,C,D بالمقارنة مع مجموعة السيطرة E حيث يبدأ الارتفاع تدريجياً حتى يصل الى اعلى معدل في المرحلة الثالثة .و وجد ارتفاع معنوي في تركيز البيليروبين للفئة العمرية اقل من 20 سنة في مصل دم للنساء الحوامل للمجموعات (A,B,C,D) وبما ان البيليروبين ينتج صبغة Heme لذلك اثناء فترة الحمل نتيجة لتحطم كريات الدم [3] وجد ارتفاع في تركيز الكولسترول في مصل الدم النساء الحوامل ويعزى السبب الى ان اضطرابات التي تصيب الكبد خلال فترة الحمل تسبب ارتفاع في مستوى الكولسترول [11]. وقد لوحظ ان هناك ارتفاعاً معنوياً لفعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي Determination of alkaline phosphates concentration in serum خلال مراحل الحمل الثلاث وترتفع خاصة في المرحلتين الثانية والثالثة من الحمل فيصل الى حدود الضعف او ضعفي الحد الطبيعي ويعزى سبب الارتفاع الى انسداد القنوات الصفراوية داخل الكبد و وجد زيادة في تركيز انزيم ناقل الحامض الاميني Determination of Aspartate Transaminase concentration in serum بسبب تحطم خلايا الكبد او (تنخر خلايا الكبد) مسببة زيادة في تركيز هذه الانزيمات والانزيمات الاخرى وخاصاً في المرحلة الثالثة من الحمل عندما يضغط الجنين على هذه الاعضاء ومن ضمنها القلب ولوحظ زيادة في هذا الانزيم Determination of Alanine Transaminase concentration in serum بسبب ضرر في خلايا الكبد والسمنة وزيادة الوزن اثناء الحمل [4] كما ان انتشار الملوثات الصناعية مثل الرصاص والكاديوم تؤدي الى اضطرابات ايضية وخلل وظيفي في الكبد مما يسبب ارتفاع في مستويات الانزيمات المفرزة منه [5].

المصادر

[1] الخفاجي، ايمان علي (2007). أثر الغذاء وعمر الأم في الجنين في الثلث الأخير من الحمل. رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة بغداد].

[2] الدنشاري، عزالدين سعيد. (1997). الجنين في خطر: أمراض وتشوهات المواليد والأسباب والتشخيص والعلاج. ص108–114. دار المريخ للنشر، الرياض].

[3] يوسف ،مي نافع (2009). تحديد بعض مضادات الاكسدة وعدد من المعايير الفسلجية في الدم لدى النساء الحوامل المصابات بضغط الدم. رسالة ماجستير .كلية التربية ،جامعة تكريت.

[4] الموسوي، بيداء ريحان (2006). دراسة فسلجية عن صور الدم ومستوى البروجيسترون وعلاقتهما ب الاسقاط المهدد للنساء الحوامل ففي محافظة ذي قار. رسالة ماحستير. كلية الرتبية. جامعة ذي قار.

[5] المنصور، نهلة بنت مكي بن أحمد. (2006). قياس بعض المعادن الثقيلة في دم الحبل السري لحديثي الولادة وأمهاتهم. [رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الملك سعود].

[6] Alonso, A.G.E. (2006). Effect of pregnancy on pre-existing liver diseases: Physiological changes during pregnancy. Annals of Hepatology, 5(3), 184-186.

[9] Sally, T. (2005). Having a great birth in Australia. David Vernon Australian College of Midwives, 22.
[10] Jennifer, D., & Finbarr, D.P. (1982). Albumin by bromocresol green: A case of laboratory conservatism. Clinical Chemistry, 28(6), 1407-1408.
[11] Guyton, C., & Hall, T. (2010). Textbook of Medical Physiology (10th ed.). W.B. Saunders Company. New York, 774.
[7] Doumas, B.M., & Wu, T.W. (1991). The measurement of bilirubin fractions in serum. CRC. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 28, 416-415.
[8] Richard, V.G., Ivan, R., Derek, W., Mark, Z., Cedric, M., & Hazel, M. (2004). Medical Microbiology. Mosby. London, 241-248.

A physiological and biochemical study of the impact of some pollutants around the city of Baiji on a number of healthy pregnant and non-pregnant women

Rawaa Mohammed Obaid , Muneef Saab Ahmed
Department of Biology, College of Education for Pure Sciences Tikrit University, Tikrit, Iraq

Abstract
This research aimed to assess some blood variables and some biochemical and physiological variables in pregnant women in the city of Baiji and the extent of the impact of pollution with trace elements such as lead, copper and cadmium. Blood samples of pregnant women were collected during the three stages of pregnancy represented by the groups one month as the first stage A (4-6) months and (1-3) months B as the second stage C (7-9) months as the third stage and women with blood pressure (D). The results in this study showed a high body mass standard for pregnant women and pregnant women with blood pressure (A, B, C, D) as pregnancy progressed compared with married women who are not pregnant as a control group (E) at a probability level ($p<0.05$). The results showed a high body mass standard for pregnant women and women with blood pressure as pregnancy progressed compared with married women who are not pregnant Group E. A significant increase in the concentration of albumin in blood serum and cholesterol concentration of pregnant women and pregnant women with blood pressure compared with married women who are not pregnant as a control group at a probability level ($p<0.05$).The results also showed a significant increase in the concentration of bilirubin for pregnant women and pregnant women with blood pressure compared to married women who are not pregnant, especially in the last stages of pregnancy. The results also showed a significant increase in the effectiveness of liver enzymes represented by the basal enzyme phosphites, the enzyme aspartate transaminase and the enzyme Alanine Transaminase, especially in the last two stages of pregnancy compared to married women who are not pregnant as a control group.