الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BC:26/05

جامعة جيجل

قسم البيولوجيا : بيوكيمياء

مذكرة مقدمة لنيل شهادة الدراسات الجامعية العليا

في البيوكيماء

مساهمة في دراسة تأثير التسمم تحت الحاد لمبيد الزراعة على بروتينات المصل عند الجرذان من سلالة Wistar

من إعداد الطالبات :

* عمير عائشة
* غديري سهام
* كبيش نجاة

الأستاذ المؤطر :

وناس إلهام

لجنة التحكيم :

- سيقني ناريمان . رئيس
- لحول مصباح . ممتحن

دفعة 2004-2005 م

شكرات

نحمد الله و نشكره على توفيقه لنا في إنجاز هذا العمل المتواضع فالحمد لله حمدا كثيرا و الشكر لله شكرا كبيرا.

كما نتقدم بخالص الشكر و التقدير إلى الأستاذة المؤطرة "وناس إلهام" التي تابعت عملنا بكل جهد و مسؤولية تامة حتى تم إنجازه بعون و توفيق من الله، كمانتقدم بالشكرإلى الأستاذة " سيقني ناريمان" التي شرفتنا برئاسة لجنة المناقشة و الأستاذ " لحول مصباح" على قبوله مناقشة هذا البحث ، و كل الأساتذة الذين سهروا على أن ينيروا دربنا بنور العلم و المعرفة من الطور الإبتدائي و حتى المستوى الجامعي.

إلى كل من ساعدنا على إنجاز عملنا التطبيقي في القطاع الصحي بالطاهير خاصة " بوصوف نبيل" نشكرهم شكرا جزيلا.

و نشكر كل من ساعدنا في إنجاز هذا العمل من قريب أو من بعيد.

إهداء
إلى كل من آمن بالله ربّا
وبمحمد "صلى الله عليه و سلم" رسولا

« ربي إشرح لي صدري [25] و يسر لي أمري [26] و أحلل
عقدة من لساني [27] يفقه قولي »

صدق الله العظيم

سورة طه الآية 25- 28

" اللهـــم لا سهـــل إلا ما جعلته سهلا و أنت تجعـــل الحـــزن إن
شأت سهلا "

قائمة الجـــداول

جدول01 : مختلف الغلوبينينات المناعية الموجودة في الجسم.....15

جدول02 : الوزن الكلي للفئران (غ) عند المجموعة الأولى (الشاهد) (مج1) خلال ستة أسابيع من التجربة.....21

جدول 03 : الوزن الكلي للفئران (غ) عند المجموعة الثانية (مج2) المعالجة بالجرعة 200غ من أسيتات الرصاص خلال ستة أسابيع من التجربة.....22.

جدول 04 : الوزن الكلي للفئران (غ) عند المجموعة الثانية (مج3) المعالجة بالجرعة 500غ من أسيتات الرصاص خلال ستة أسابيع من التجربة.....23

جدول 05 : أوزان الأعضاء (غ) للمجموعة الأولى (الشاهد) (مج1) بعد ستة أسابيع من التجربة.....25

جدول 06 : أوزان الأعضاء (غ) عند المجموعة الثانية (مج2) المعالجة بالجرعة 200غ من أسيتات الرصاص بعد ستة أسابيع من التجربة.....26

جدول 07 : أوزان الأعضاء (غ) عند المجموعة الثانية (مج3) المعالجة بالجرعة 500غ من أسيتات الرصاص بعد ستة أسابيع من التجربة.....27

جدول 08: تركيز بروتينات المصل (غ/ل) للمجموعة الأولى (الشاهد) (مج1) بعد ستة أسابيع من التجربة.....31

جدول 09 : تركيز بروتينات المصل (غ/ل) عند المجموعة الثانية (مج2) المعالجة بالجرعة 200غ من أسيتات الرصاص بعد ستة أسابيع من التجربة.....32

جدول 10: : تركيز بروتينات المصل (غ/ل) عند المجموعة الثانية (مج3) المعالجة بالجرعة 500غ من أسيتات الرصاص بعد ستة أسابيع من التجربة.....33

قائمـــة الأشـــــكال

شكل01 : يوضح عملية سحب الدم من منطقة العين.....17

شكل02 : يوضح الأعضاء الداخلية للفأر بعد عملية التشريح.....18

شكل 03: الوزن الكلي للفئران (غ) لدى المجاميع الثلاثة خلال ستة أسابيع من التجربة 24

شكل 04 : الوزن الكلي للفئران (غ) لدى المجاميع الثلاثة خلال ستة أسابيع من التجربة.....24

شكل05 : وزن الكبد (غ) لدى المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة.....28

شكل 06 : وزن الكلية (غ) لدى المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة.....29

شكل 07 : وزن الطحال (غ) لدى المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة.....30

شكل08 : : أ/ يوضح توضع البروتينات على ورق أسيتات السيليلوز بعد الهجرة الكهربائية.....34

ب/ منحنى يوضح المناطق البروتينية بعد قرائتها بواسطة جهاز المكثف الضوئي

شكل09 : تركيز كل من البروتين الكلي، و الألبومين(غ/ل) عند المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة.....35

شكل10 : تركيز كل من ألفا 1 و ألفا 2 (غ/ل) عند المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة.....36

شكل11: تركيز كل من بيتا وغاما (غ/ل) عند المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة.....37

الفهـــــرس

- المقدمة.....1

الجزء النظري

- الفصل الأول: الرصاص

1- تعريف الرصاص..... 2
2- مصادر و استعمالات الرصاص..... 2
3- طرق دخول الرصاص إلى الجسم..... 3
4- توزيع الرصاص في العضوية..... 3
5- خروج الرصاص من الجسم..... 4
6- تأثيرات الرصاص على العضوية..... 5
7- تعريف التسمم بالرصاص..... 6
8- أعراض التسمم بالرصاص..... 7

- الفصل الثاني: بروتينات المصل

1- تعريف الدم..... 9
2- مكونات الدم..... 9
2-1- البلازما..... 9
2-2- عنلصر المصورة..... 9
2-3- مصل الدم..... 9
2-4- بزوتينات المصل..... 10
2-4-1- جزيئات الألبومين..... 10
2-4-1- الغلوبيلينات المصلية..... 11

الجزء العملي

- الفصل الأول: المواد و الطرق

1- المواد 16
1-1- حيوانات التجربة 16
1-2- شروط التربية 16
1-3- المعدن المستعمل 16
2- الطرق 17
2-1- التجربة 17
2-2- الحصول على الدم 17
2-3- التشريح و أخد الأعضاء 18
2-4- فصل بروتينات المصل 19
2-5- الإحصاء 20

- الفصل الثاني: النتائج

1- الوزن الكلي 21
2- وزن الأعضاء 25
3- بروتينات المصل 31

- الفصل الثالث: المناقشة

المناقشة 38
- الخاتمة 41
- الملخص : - عربي 42
- فرنسي 43
- إنجليزي 44
- المراجع
- المراجع

المقدمة

المقدمة:

يعتبر التلوث البيئي من الهواجس الرئيسية الشاغلة للإنسان في العصر الحديث، و هذا نتيجة للخطر الكبير الذي يشكله (الشعلان، 1996). إذ يحدث هذا الأخير نتيجة إلقاء النفايات للتخلص منها ممّا يفسد البيئة ونظامها بحيث تحدث تغيير و خلل في الموازنة التي تتم بين العناصر المكونة للنظام البيئي، بحيث تشل فعالية هذا النظام و تفقده القدرة على التخلص الذاتي من الملوثات بواسطة الطرق الطبيعية.

بدأ هذا التوازن الطبيعي البيئي يتعرض للخلل في بداية القرن العشرين، عندما بدا التدخل البشرى لا محدود، فالثورة الصناعية التي اجتاحت العالم ساهمت في تخريب البيئة و معالمها، إذ حلت الآلة مكان الإنسان الذي استبدل الطرق البدائية بطرق أكثر تطورا، و استعمل المحركات البخارية التي تحتاج مصادر جديدة للوقود مثل: الفحم الحجري و البترول الذي يدخل الرصاص في تركيبه بنسبة عالية (الخفاف و خضير، 2000). حيث يعتبر هذا الأخير من المعادن الثقيلة، التي زاد استخدامها بشكل مسرف و هائل مع التطور التكنولوجي.

إذ يعتبر التلوث بهذه المعادن الثقيلة مشكلة خطيرة و حادة، إنّ هذه المواد تجد طريقها إلى البيئة العامة و التي يمكن أن تحدث تأثيرات صعبة معاكسة في عدد كبير من الكائنات الحية، هذه التأثيرات غالبا ما تحدث على صورة تغييرات إنتقالية في الوظائف الفيزيولوجية. و لقد سبق القول مرارا و تكرارا أن الضرر الذي يحدثه معدن ثقيل كالرصاص هو محصلة عاملي السمية الأساسية له (عبد الحميد،2000).

و في هذا السياق يندرج هذا البحث عله يعطي بعض الإضافات و يساهم في معرفة أضرار التسمم تحت المزمن لمعدن الرصاص على واحدة من أهم المركبات البيولوجية في الجسم المتمثلة في بروتينات الدم.

الجزء النظري

- الفصل الأول: الرصاص

1- تعريف الرصاص:

الرصاص معدن ثقيل لونه رمادي يميل إلى الزرقة ، و هو من أقدم المعادن المعروفة في العالم ، رقمه الذري 82 ، كتلته الذرية 207.2ميكرون و كتلته الحجمية 11340 كغ/م^3(البلغمي وأخرون.، 1992) ، درجة انصهار الرصاص 327°م (غوتوق و السمان ، 1991)، أما درجة غليانه فتقدر ب1755°م (منجد و البلخي، 1991).

تحتوى القشرة الأرضية على 0.0016 ٪ من الرصاص ، فنجد أن تحت تأثير الهواء يغطى الرصاص بسرعة بطبقة رقيقة حامية من أكسيد الرصاص، أما تحت تأثير الماء فالرصاص يغطى بطبقة رقيقة من الأملاح غير الذائبة، فجميع مركبات الرصاص الذائبة تكون سامة (Glinka, 1981)

2- مصادر و استعمالات الرصاص:

يعتبر الرصاص في الوقت الراهن من أكثر المعادن انتشارا و سميّة ، و هناك عدة مصادر للتلوث بالرصاص أهمها :

* التراب الحاوي على الرصاص حيث تقدر نسبته بنحو 13 ملغ / كغ من التربة.
* الرصاص الموجود في غبار المنازل و تختلف نسبته اختلافا كبيرا حسب قرب المباني من الطرقات العامة، و مصادر الرصاص الأخرى في البيئة.
* ماء الصنبور في البيوت التي تحتوي على أنابيب تمديد مياه رصاصية.
* بعض المواد الناتجة عن الصناعة التي تستخدم الرصاص كعنصر معدني يدخل في صناعة هذه المواد مثل: صحون السيراميك المطلية بالمواد الحاوية على الرصاص، مواد اللحام، صناعة السيارات، و بعض المبيدات الحشرية، صناعة الأصبغة و المواد البلاستيكية، كذلك صناعة البطاريات حيث يدخل الرصاص بحوالي70 ٪ من البطارية (الشعلان، 1996).
* الرصاص المضاف إلى وقود السيارات، و الذي يضاف عادة على هيئة رابع إيثيل أو رابع ميثيل الرصاص بكمية مقدارها 0.4 غ /ل إلى 0.84غ/ل من الوقود(عبد الحميد و عبد المجيد، 1996).

3- طرق دخول الرصاص إلى الجسم:

3-1- عن طريق الجهاز الهضمي:

و يتم ذلك باستهلاك ما هو ملوث بهذا العنصر من أغذية و ماء، أو عند ابتلاع الغبار الذي يحتوى على عنصر الرصاص، حيث تقدر نسبة امتصاص الرصاص عند البالغين ب 10 ٪ بينما تصل إلى50٪ عند الأطفال.

و لقد تبين أن نقص الحديد و الكالسيوم يساعد على الامتصاص المعوي للرصاص (Viala, 1998).

3-2- عن طريق الجهاز التنفسي:

إن امتصاص الرصاص المستنشق يختلف حسب شكله (بخار أو جزئ) و تركيزه، فتقريبا حوالي 90٪ من الرصاص المستنشق يكون على شكل جزيئات (Panltillement ***et al.***, 1996) . فالرصاص الممتص خلال الشعب الهوائية يدخل للدم مباشرة و لا يمر خلال الكبد ، لدى فإن المقادير الممتصة الضئيلة قد تحدث أعراض التسمم (عبد الحميد و عبد المجيد، 1996).

3-3- عن طريق الجلد:

إن امتصاص الرصاص عن طريق الجلد ضعيف جدا ، و من الجدير بالذكر أن مركبات الرصاص غير العضوية تكون أقل امتصاصا مقارنة بالرصاص العضوي (عبد الحميد و عبد المجيد، 1996).

4- توزيع الرصاص في العضوية:

أحيانا الرصاص الممتص 90 ٪ منه يوجد في الدم مرتبط بالهيموغلوبين للكريات الحمراء، فقط1 إلى 3 ٪ من الرصاص الموجود في الدم يوجد في المصل، و يمكن أن يتوزع في الأنسجة .

الرصاص غير العضوي أساسا يتوزع في الأنسجة الرخوة، خصوصا على مستوى النسيج الطلائي للأوعية الكلوية و في الكبد.

مع مرور الوقت، يعاد توزيعه و تثبيته في العظام، الأسنان ، و الشعر، حيث نجد حوالي95 ٪ من محتوى المعادن الجسمية توجد في العظام، فقط كمية قليلة من الرصاص تكدس في الدم، مع العلم أن الجزء الأكبر من هذا الرصاص المكدس يكون إمّا في المادة الرمادية أو العقد القاعدية.

إن تثبيت الرصاص على العظام يشابه بالتحديد تثبيت الكالسيوم ، لكن الرصاص يثبت على شكل ثلاثي فوسفات الرصاص. و نجد أن الرصاص الموجود على العظام لا يساهم في التسمم بعد التعرض القوى له .

إن تركيز الرصاص في الغالب يكون مرتفع في العظام المسطحة مقارنة بالعظام المتطاولة، فنفس العوامل التي تساعد على توزيع الكالسيوم هي نفسها التي تساعد على توزيع الرصاص، و نجد أن النسبة العالية للفوسفات تسمح بتخزين الرصاص في الهيكل العظمي و بنسبة أقل في الأنسجة الرخوة ، و أن النسبة المنخفضة من الفوسفات تنقل الرصاص من العظام إلى الأنسجة الرخوة، كما نجد أن النسبة المرتفعة من الكالسيوم في و جود كمية قلية من الفوسفات لهما فعل مشابه بسبب وجود المنافسة بين الرصاص و الكالسيوم على الفوسفات المتوفر.

كما يساعد الفيتامين " د" على تثبيت الرصاص في العظام في وجود كمية كافية من الفوسفات (Panltillement ***et al.***, 1996)

.

5- خروج الرصاص من الجسم:

5-1- عن طريق البراز:

تبلغ كمية الرصاص المطروح عبر البراز عند الأشخاص غير المعرضين له مهنيا حوالي 95 ٪ من الكمية الممتصة، يتبع الرصاص المطروح في البراز عدة مسارات من بينها الصفراء التي تعتبر ممرا هاما للإفراز اتجاه الأمعاء .

هناك مصدر آخر للرصاص المطروح في البراز و هي خلايا مخاطية الأمعاء الحاوية على هذا المعدن و التي تتلف و تجدد باستمرار (Cambel et Mergard, 1972)

.

5-2- عن طريق البول:

تقدر كمية الرصاص المطروح عن طريق البول ب 75 ٪، حيث يطرح الرصاص عن طريق التصفية الكلوية عندما تكون نسبته في الدم عادية، و هي الحالة التي يكون فيها الرصاص على شكل أيونات حرة ، حيث أثبتت الدراسات أن الرصاص المرتبط بالمركبات العضوية ذات الوزن الجزئي الضعيف تصفي ثم يعاد امتصاصها بكميات كبيرة (Cambel et Mergard, 1972) .

5-3- عن طريق إفرازات الجسم:

تخرج نسبة ضعيفة من الرصاص مع العرق ، اللعاب ، المخاط ، الحليب ، السائل المنوي..... إلخ . كما أن زوائد الجسم تساهم في عملية الإخراج من بينها: الشعر و الأظافر (Jouglard ***et al.***, 1987)

.

6- تأثير الرصاص على العضوية:

6-1- على مستوى الجهاز الهضمي:

إن التعرض لمعدن الرصاص يؤثر على العضلات الملساء للأمعاء ، و هذا ما يؤدى إلى ظهور أعراض معوية و التي تتزامن مع ظهور أعراض أخرى مثل : فقدان الشهية، العجز العضلي، توتر الأعصاب، الإمساك الذي له عادتا مؤشرات متقدمة خصوصا عند البالغين لكن في بعض الحالات ظهور إسهال.

و تزداد الأعراض السابقة حدة كلما زادت السمّية (Panltillement ***et al***., 1996).

6-2- على مستوى الجهاز العصبي العضلي:

الوهن العضلي و التعب هي أولى الأعراض التي تسبق الشلل الذي لا يظهر بوضوح إلا بعد جهد عضلي مستمر ، و يلاحظ أن مقدمة اليد ، الأصابع ، مفصل اليد، العضلات المحيطة بتجويف العين عادة هي الأكثر نشاطا و الأكثر تأثرا اتجاه الرصاص (Panltillement ***et al***., 1996) .

6-3- على مستوى الجهاز العصبي المركزي:

إن المرض العصبي *encéphalopathie saturnine* يظهر نتيجة السمية الحادة بالرصاص، و تكون أولى مؤشرات هذا المرض: الدوار، الاضطرابات الحركية ، فشل عام ، صداع ، هيجان عصبي ، سرعة الغضب.

مع تطور المرض يصبح المريض أكثر تنبيها و اضطرابا (Panltillement ***et al***., 1996).

6-4- على مستوى الدم:

المرض الأكثر شيوعا و الناتج عن التسمم المزمن للدم بالرصاص هو : فقر الدم الحاد ، و يلاحظ بصفة خاصة عند الأطفال ، و الذي يشبه من الناحية المرفولوجية نقص الحديد في الجسم.

يعتقد أن هذا النوع من فقر الدم ناتج عن عاملين : (Panltillement ***et al***., 1996)

- قصر مدة حياة الكريات الحمراء.
- تثبيط عمليات إنتاج الهيم.

6-5- على مستوى الكلى:

يظهر التسمم الكلوي في شكلين: (Panltillement *et al.*, 1996)

- إصابة الأنابيب الكلوية :عادة تظهر بعد تعرض الحاد للرصاص خاصة عند الأطفال .
- إصابة النيفرونات: و يلاحظ عند التعرض للملوثات الصناعية لمدة طويلة من الزمن.

7- تعريف التسمم بالرصاص :

يحاط الإنسان بالكيماويات و المواد السامة من كل مكان كمعدن الرصاص مثلا الرصاص ، فهو يتعامل معه بطريق مباشر أو غير مباشر ، بتعمد أو دون قصد ، في الماء الذي يشربه و الهواء الذي يستنشقه و الغداء الذي يتناوله.

حيث يظهر التسمم بهذا المعدن نتيجة التعرض لمعدن الرصاص الحر أو أحد أكاسيده أو أملاحه أو لأحد مشتقاته ، و قد تكون هذه الآثار السامة سريعة فيطلق عليها اسم التسمم الحاد، أو قد تكون على المدى الطويل فيطلق عليها اسم التسمم المزمن. (عبد الحميد و عبد المجيد، 1996)

7-1- التسمم الحاد:

يقصد بالسمية الحادة القدرة على إحداث الأثر الضار في الكائن الحي (الموت) ، عند تعرضه لجرعة و احدة و لفترة قصيرة من المادة السامة سواء عن طريق الفم أو الجلد أو الاستنشاق (عبد الحميد و عبد المجيد، 1996) . و التسمم الحاد بالرصاص يكون أقل انتشارا و يحدث بواسطة هضم مركبات ذائبة أو بواسطة استنشاق بخار الرصاص . الفعل الموضعي يكون على مستوى الفم و يظهر بواسطة تأثير انقباضي ناتج عن العطش و الذوق المعدني ، يتبع بغثيان و آلام في البطن و تقيئات، هذه الأخيرة ناتجة عن وجود كلورور الرصاص ، بينما آلام البطن تكون شديدة ، الفضلات تكون باللون الأسود لوجود كبريت الرصاص الذي يؤذي إلى ظهور حالات الإسهال أو حالات الإمساك. (Panltillement *et al.*, 1996).

7-2- التسمم شبه المزمن:

تكون فيه كمية الرصاص قليلة نسبيا و مدة التعرض طويلة نوعا ما لا تتجاوز 90 يوما. فالأعراض السامة التي لا تظهر بعد الأيام الأولى الأربعة من التعرض للرصاص و التي قد تظهر

خـــلال أسابيـــع ، يتعرف عليها عـادة بقياس الوظائف الخاصة بالكبد ، الكلية، و المؤشـــرات الدمـوية (عبد الحميد و عبد المجيد،1996).

7-3- التسمم المزمن:

يعني التأثير الضار على الكائن الحي نتيجة تكرار التعرض للمادة السامة لفترة زمنية أطول من نصف فترة حياته ، و نجد أن مؤشرات تعرض المزمن للرصاص يمكن تقسيمها إلى عدة فيئات أساسية: (Panltillement ***et al***., 1996)

- التسمم الذي يصيب الجهاز العصبي
- التسمم الذي يصيب الجهاز الهضمي
- التسمم الذي يصيب الجهاز العصبي العضلي
- التسمم الذي يصيب الجهاز الوعائي (الدم)
- التسمم الذي يصيب الكلى.

.

8- أعراض التسمم بالرصاص:

- انخفاض نسبة الهيموغلوبين في الدم.
- ظهور خط أزرق على اللثة.
- الإمساك و الإحساس بالألم حول أو تحت السّرة.
- الإحساس بالبرودة و شحوب اللون و تصبب العرق و القيء عند بدأ المغص.
- الصداع و الضعف العام، و آلام تشنجية في المعدة.
- فقر الدم ناتج عن تحلل الكريات الحمراء، بالإضافة ألى ارتفاع الضغط الدموي بصفة دائمة.

* و في الحالات المزمنة يصاب المريض ب:

- إنهيار في قوته و تبلد فكري و تخلف عقلي و فقدان القدرة على التركيز.
- ضعف الذاكرة مع انجداب الرأس للخلف و رعشة وصمم.
- وقد يصاب المريض بفقدان النطق أو العمى.
- الشلل في اليد اليمنى ثم اليسرى و شلل المخ.
- مرض الكلية المزمن.

* هناك علاقة واضحة بين تركيز الرصاص في جسم الأطفال و انخفاض مستوى الذكاء لديهم، كما أن هناك مؤشرات توضح العلاقة بين تراكم الرصاص في الأجنة و بين حالات التشوه الخلقي وبعض الأمراض العصبية، و يؤذي التعرض للرصاص إلى ولادة أطفال ناقصي الوزن و ذوي مقدرة ضعيفة للإستجابة للمؤشرات الصوتية و البصرية و قد يعانون سوء التنسيق بين نشاط العين و حركة اليدين (عبد الحميد و عبد المجيد، 1996).

- الفصل الثاني : بروتينات المصل

1- تعريف الدم

الدم عبارة عن نسيج ،يتكون من مجموعة متنوعة من الخلايا التي تسبح في البلازما، يضخ من طرف القلب و يعبر شبكة داخلية من الأوردة و الشرايين، التي تتكون قبل الولادة و تستمر حتى الموت يقوم بنقل الأكسجين و مواد أخرى ضرورية للأنسجة و بالمقابل يقوم بطرح ثاني أكسيد الكربون و الفضلات .

تقدر كمية الدم في جسم الإنسان بمعدل 70 مل /كغ أو 8 ٪من وزن الجسم تقريبا .أي في الإنسان البالغ الطبيعي يتراوح حجم الدم من 4.5 إلى5 لتر(Jacques,1995).

1-2- مكونات الدم:

1-2-1-البلازما:

تعتبر البلازما وسيلة نقل للوقود الأساسي للجسم مثل: الغلوكوز، الليبيدات.ومن بين المواد الأخرى التي تنقل عن طريق البلازما .نجد: الحديد المسؤول عن تكوين الهيموغلوبين و عدة هرمونات اخرى مثل الهرمونات الستيرويدية.

تتكون البلازما إذن من محلول لزج، عناصر معدنية ،عناصر غذائية ،و هرمونات والتي تعتبر من بين أهم العناصر الأساسية في البلازما، لكن الجزء الأكبر و الأكثر هي البروتينات (Jacques,1995) التي يكون تركيزها حوالي 7 إلى 7.5غ/دل. وتشكل في مجموعها خليط معقد لا يحتوي فقط على البروتينات البسيطة،بل والمركبة أيضا مثل :الغليكوبروتينات،الليبوبروتينات (Peter *et al.*,1998) .

1-2-2- العناصر المصورة:

وتتمثل في الكريات البيضاء،الكريات الحمراء،والصفائح الدموية (Jaques,1995) .

1-2-3- المصل:

يمثل الجزء السائل للدم بعد تخثره، له نفس مكونات البلازما ما عدا مولد الليفين fibrinogène (Jaques,1995) .

1-2-4- بروتينات المصل:

تقدر معدلاتها الطبيعة في الجسم حوالي 72غ/ل (Boulonger *et al.*,1971).

والبروتينات المصليـــة التي تم الحصول عليها بواسطة عملية الهجرة الكهربائية لمصل إنسان بالغ هي:

*الألبومين من 5 ٪ إلى60 ٪.

*ألفا 1- غلوبيلين من3 ٪إلى 10 ٪.

*ألفا 2-غلوبين من 7 ٪ إلى10 ٪

*بيتا غلوبين من6 ٪ إلى 14 ٪.

* جاما غلوبين من 6 ٪ إلى 23 ٪ .

1-2-4-1- جزئيات الألبومين :

يشكل الألبومين أكثر من نصف الكمية الكلية لبروتينات البلازما عند الإنسان. فنجد أنها تتراوح بين 55 ٪ إلى 60 ٪، و يقدر معدله في البلازما بحوالي 36غ/ل الى 50غ /ل، وإما 520 إلى 725 ميكرومول/لتر مع معدل قدره 44 غ/ل(Kazi et Oukaci , 1990) .

- **بنيته:**

- عبارة عن بروتين متجانس كتلته الجزئية 69000 داتون.
- يتكون من سلسلة بيبتيدية واحدة في شكل بسيط أو معقد.
- له شكل رباعي التركيب.
- يتكون من 564 حمض آميني تتوزع على سلسلة بيبتيدية واحدة ، أغلبيتها: aspartique,glutamique, lysine، ووظيفة تيول الحرة للسيستين تكسبه القدرة على إعادة النشاط جزئيا (Valdiguie, 1995).

- **خواصه:** (المظفر ،2000).

- يذوب في الماء و في محاليل الاملاح الخفيفة.
- يترسب بتركيز مشبع من كبريتات الامونيم.
- معايرته تتم بسهولة بواسطة طرق قياس اللون المناعي او طرق الهجرة الكهربائية. (Valdiguie,1995) .
- سهل البلمرة في وسط حامض (Louisot,1983) .

- **الميثابوليزم :**

التركيب: (Kazi et Oukaci, 1984)

- يتكون في الكبد بمقدار 10-15 غرام (غ) في اليوم.
- نصف مدة حياته 19 يوم
- سرعة تجدده بطيئة مقارنة بالبروتينات البلازمية الأخرى ذات الأصل الكبدي.

الهدم: (Kazi et Oukaci, 1984)

- 15 ٪ من الألبومين يتم هدمه في الكبد ،في الكلى و الأنسجة .
- من40 ٪ إلى60 ٪ من الألبومين يهدم في الأنبوب الهضمي بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات والتي تحوله إلى أحماض آمينية.

- **الدور البيولوجي:**

- المحافظة على الضغط الاسموزي للدم.
- نقل الكثير من المركبات البيولوجية النشطة مثل الأحماض الذهنية و البيليروبين.
- ترتبط به كثير من ايونات المعدنية مثل الكالسيوم و النحاس نظرا لاحتوائه على عدد كبير من الشحنات السالبة التي تعتبر مراكز للارتباط.
- الارتباط مع المركبات الدوائية المختلفة مثل: البينيسيلين،الاسبرين و أدوية أمراض القلب.
- ينقل بعض الهرمونات مثل : الكورتيزولة،الالدوستيرون، التيروكسين،الستراديول، البروجسترون،...الخ.

1-2-4-2- الغلوبيلينات المصلية:

ذات وزن جزئي كبير، لها pHI متعادل، قابل للذوبان في المحاليل الملحية. يتواجد في دم الانسان عدة أنواع من الغلوبيلينات، وذلك حسب هجرتها الكهربائية على الورق و نميز الأنواع التالية: الفا غلوبيلين،بيتا غلوبيلين،جاما غلوبيلين(Jacques, 1995) .

- **الفا غلوبيلين:**

ذات وزن جزئي حوالي 120.000دالتون، تنقسم إلى قسين رئيسيين(Blaque et Foresti, 1980) .

- **الفا1-غلوبيلين:**

وهي وحدة ضعيفة فيزيولوجيا، وتزيد بصفة معتبرة خلال الأشهر الستة الأخيرة من الحمل ،و تنقسم إلى عدة أصناف:

* ألفا 1-انتيثريبسين:α1-antitrypsine :

عبارة عن غليكوبروتين وزنه الجزئي 54000 دالتون، يحتوي على12 ٪ من الغلوسيدات. يتم تخليقه في الكبد، كما يوجد في سوائل أخرى من الجسم مثل :الدموع،اللمف، الصفراء،السائل المنوي (Moore, 1978).

وظيفة هذا البروتين هي تثبيط عدد من الإنزيمات مثل :Collagenase,elastase, هذه الإنزيمات يتم تحريرها من طرف الخلايا البلعمية و الكريات البيضاء في مناطق الالتهاب ، و إذا تركت هذه الإنزيمات بدون مثبط لعملها تفتك بجميع الأنسجة و الأعضاء.

يزيد معدل الالفا -1 انتيثريبسين في المصل في عملية الالتهاب ،السرطان و الأمراض الكبدية، و ينخفض معدله في حالتين هما : تليف الكبد و أمراض الرئتين (Donis,1994) .

* ألفا 1-فيتوبروتين:α1-fetoproteine :

ذات وزن جزئي 70.000 دالتون،تحتوي على 3.4 ٪ من الغلوسيدات،تتواجد في مصل جنين الإنسان،فهو مهم للتطور العادي للجنين وتركيزه الأقصى هو 3.5غ/ل. في الأسبوع الثاني من الحمل يتناقص لينعدم عند الولادة، و يعاود الظهور بصفة غير طبيعية عند البالغين. في حالات سرطان الكبد الابتدائي، مبدئيا يقدر بمعدلات عادة تكون ضخمة(1-5غ/ل)،لكن تكون ضئيلة جدا في حالات التليف الكبدي ،التهاب الكبد(Louisot,1983) .

* الفا1- جليكوبرتين الحامض أو l'orsomucoides :

حمض 1-جليكوبروتين يكون غني بالغلوسيدات،حيث تمثل هذه الأخيرة نسبة 40 ٪ من كتلته الجزئية، ذو وزن جزئي 44100 دالتون ، يتراوح المعدل الطبيعي بين 0.4- 1غ/ل.

يزيد تركيزه في الجسم بسبب الجروح ،التهاب المفاصل و بعض الأورام (غزالي،1995).

- **الفا2 –غلوبيلين:**

عبارة عن غليكوبروتينات ذات وزن جزئي يقدر ب 100.000 إلى 40.0000 دالتون، تقوم بنقل اللبيدات و النحاس، تركيزها يتغير بين 4 إلى 8غ/ل، و يزداد هذا التركيز خلال الأشهر الأخيرة من الحمل (Ibenhaddaya,1997).

* هابتوغلوبيلين:haptoglubuline:

عبارة عن ألفا 2-غلوبيلين اكتشف من طرف Polonovski و Jayle سنة 1938. يملك خاصية الاتحاد مع الهيموغلوبين الحر الناتج عن تحلل الكريات الحمراء، وبشكل معقد جد ثابت الأمر الذي يمنحه خاصية بيروكسيد(Boulanger *et al.*, 1971) نصف مدة حياتها من 80 إلى 90 دقيقة ،كتلته المولية تقدر ب 85.000 مول ،نسبة الغلوسيدات فيه تساوي 18.6 ٪ مدة نصف حياته 3 أيام أما تركيزه في البلازما فيقدر ب2غ/ل.

يلعب الهابتوغلوبيلين دورا هاما في المحا فظة على نسبة الحديد في الجسم، إذ عند تحلل خلايا الدم الحمراء في الطحال ينقسم الهيموغلوبين إلى جزيئتين وزنهما الجزئي صغير نسبيا، ومن المحتمل فقدهما في البول،في الكليتين.مما يؤدي إلى نقصان كمية الحديد في الجسم . لذا فان الهيموغلوبين يتحد مع الهابتوغلوبيلين ليكون معا معقدا يشار إليه بالرمز (HB,HP) مما يحفظ الهيموغلوبين من الخروج عبر البول (Kazi et Oukaci, 1984).

* سيريولوبلازمين :ceruloplasmin

هو إنزيم مؤكسد لحامض الأسكوربيك و هرمون الأدرينالين (غزالي ،1995) فهو عبارة عن ألفا -2 غلوبيلين ذات وزن جزئي 150.000دالتون ،و كتلة مولية قدرها 132.000 .

تضع في الخلايا الكبدية في صورة سلسلة بيبتيدية بسيطة ترتبط بها 8 ذات من النحاس ،يعتقد أن له دورا أساسيا في أيضا النحاس ،باعتبار أن حوالي90 ٪ من النحاس الموجود في البلازما مرتبط به Kazi et (Oukaci, 1990) .

* ألفا -2_ جلوبيولين الكبير : α2 –macoglubuline

هو بروتين سكري كبير الحجم يكون حوالي 33٪ من مجموع ألفا 2- غلوبيلين (غزالي ،1995)،معدله الطبيعي في المصل هو 2.5 غ/ل ،عبارة عن غليكوبروتين دو كتلة جزئية تقدر بـ 0850.000 دالتون ،يحتوي 11٪ من الغلوسيدات . يعمل كمثبط لعدد من الإنزيمات من نوع endopeptidase مثل التريبسين و البلازمين(Charle,1994).

- **بيتا غلوبلين :**

ذات وزن جزئي يتراوح من 110.000 إلى 120.000 دالتون ،تركيزه في البلازما هو 2 غ / ل .

يتكون من تحت وحدات بيتا -1و بيتا-2 ،الجزء البروتيني ناقل لليبوبروتينات ،بينما الجزء المركزي للمركب ينقل الفيبرولزين ،الإيزوهيما غلوتيمين ،البروترومبين و الكولسترول (Ibenhaddya, 1997) .

* الترنسفيرين : B- Transferine

هو عبارة عن بيتا-غلوبلين دو وزن جزئي 80.000 دالتون .يحتوي على 80٪من الغلوسيدات (Peter et *al* .,1998) . يتم تخليقه في الكبد و له دور أساسي في نقل الحديد ،له القدرة أيضا على الإرتباط ببعض الأيونات و المعادن الأخرى مثل الزنك ،النحاس ،الكوبالت ،الكالسيوم .

يحتوي الجسم على3 إلى 5 غ من الحديد لكن 3 إلى 5ملغ فقط من الحديد موجودة في البلازما و الكمية المتبقية تكون مرتبطة بهذا البروتين و كمية قليلة جدا ترتبط ببروتينات أخرى مثل الألبومين .

هدا البروتين مسؤول عن نقل الحديد من موقع إمتصاصه في الأمعاء و من مناطق هدم الهيموغلوبين إلى مستقبلات الكريات الحمراء في نخاع العظم ،الكبد ،الطحال . بعد تحرير البروتين لجزئيات الحديد يرجع إلى البلازما ليعيد الدورة مرة ثانية ،و تقدر مدة حياة هدا البروتين بـ 08 أيام ،كذلك يلعب دورا هاما في منع التسمم بالحديد الذي ينتج عن ارتفاع كمية الحديد الحرة في البلازما (Charles, 1994 ;Turner et Hulne, 1971) .

- **جاما غلوبيلين :**

يطلق على هذا البروتين إسم غلوبلين المناعة (I g) Immunoglobuline (غزالي ،1995) وزنه الجزئي 300.000 دالتون، يشكل وحدة غير متجانسة . (Forestierm et Blaqes,1980) و هو لايتكون في الكبد ،و لكن يصنع في خلايا خاصة هي الخلايا اللمفاوية Lymphocytes تعرف بخلايا البلازما .

الجزء العملي

- الفصل الأول: المواد و الطرق

1- المواد:

1-2- حيوانات التجربة:

استعمل في هذه التجربة تسعة فئران من نوع *Ratus ratus*، من سلالة Wistar، و التي تم جلبها من معهد باستور بالقبة (الجزائر) و كان عمرها حوالي شهرين، و أوزانها تتراوح من(109غ – 113غ).

1-3- شروط التربية:

تم توزيع الفئران على ثلاثة أقفاص، كل قفص مزود بغطاء معدني على هيئة شباك، به مكان لوضع الغذاء و الرضاعات التي تحتوي على الماء، أرضية القفص مفروشة بنشارة الخشب، التي تم تغييرها يوم عن يوم.

تركت الفئران في غرفة الحيوانات لمدة أسبوع قبل بداية التجربة و حتى نهايتها. تم تعليم الأقفاص لتمييز كل مجموعة عن الأخرى، تمت تغذية الفئران بغذاء متوازن مصنع بالديوان الوطني لتغذية الأنعام على شكل قضامة « Croquette » يتكون من مسحوق الذرة و الشعير و فيتامينات و أملاح معدنية، يقدم الغذاء و الماء للفئران يوميا بإنتظام على الساعة العاشرة صباحا.

1-4- المعدن المستعمل:

استخدم مسحوق اسيتات الرصاص Acetate de plomb ذو التركيبة الكيميائية: $Pb\ (COO)\ CH_3$ و ذلك بتركيزين مختلفين :

- التركيز الأول : يقدر بـ 200 ملغ/ل، حيث نقوم بإذابة 200 ملغ من أسيتات الرصاص في لتر واحد من الماء.
- التركيز الثاني : يقدر بـ 500 ملغ/ل حيث نقوم بإذابة 500 مل غ من أسيتات الرصاص في لتر واحد من الماء.

2-4- فصل بروتينات المصل:

تم فصل البروتينات باستعمال طريقة الهجرة الكهربائية بواسطة ورق أسيتات السيليلوز.

2-4-1- المبدأ:

تعتبر هذه الطريقة من أكثر الطرق إستعمالا في فصل الكثير من المركبات البيولوجية، حيث يتم إنتقال خليط من المواد تحت تأثير تيار كهربائي إعتمادا على شحنتها، و على وزنها الجزيئي.
و بذلك فإن محصلة إنتقال أي مادة يعتمد على نسبة الشحنة إلى الكتلة.

يتشكل جهاز الهجرة الكهربائية من 2 إلكترود، و خزان مملوء بالمحلول المنظم ذو pH معلوم، بالإضافة إلى حامل خاص يوضع فوقه الوسط الذي تتم عليه الهجرة، ثم غطاء شفاف يحمي الوسط من المؤثرات الخارجية.

أسيتات السيليلوز هو الورق المستعمل في هذه الطريقة، عند تشغيل الجهاز، تنتقل جميع المكونات باتجاه القطب المعاكس مما يجعل مكان وضع العينة أساسي، بحيث توضع البروتينات المراد فصلها بعيدا عن القطب الذي يحمل نفس الشحنة الكهربائية، كما أن الـ pH المستعمل يحدد درجة تأين العينة لذلك يجب إختياره بحذر.

2-4-2- طريقة العمل:

- يغمس ورق أسيتات السيليلوز في المحلول المنظم TRIS-Véronal buffer درجة حموضته pH = 8.6 لمدة 20 دقيقة.
- يجفف الورق من بقايا المحلول المنظم.
- يوضع ورق أسيتات السيليلوز فوق حامل خاص.
- بواسطة آلة المطابقة Applicateur توضع العينات فوق ورق أسيتات السيليلوز، تحتوي هذه الآلة على أربعة صفوف و كل صف يحمل أربعة عينات.
- يثبت الحامل في الوسط الخاص بالهجرة الكهربائية ذو شدة مساوية 200 فولط و ذلك لمدة 20 دقيقة.
- التلوين باستعمال محلول Rouge panceau لمدة ستة دقائق.
- تغمس الورق في محلول حمض الأستيك لمدة 9 دقائق لإزالة اللون و لتظهر البروتينات واضحة و تعاد الكرة من 2 إلى 3 مرات.

- نزع الماء من الورق باستعمال الميثانول النقي لمدة دقيقتين.
- توضع الورقة في خليط مكون من 67 ٪ميثانول و 29 ٪من حمض الأسيتيك و 4 ٪من محلول التشفيف لتصبح شفافة لمدة 5 إلى 10 دقائق.
- توضع الورقة بعدها فوق صفيحة زجاجية جافة مع مراعاة أن يكون وجه الورقة إلى الأعلى.
- التجفيف في الفرن لمدة 10 دقائق تحت درجة حرارة من 50 إلى 60 °م
- تقرأ الورقة في جهاز مقياس كثافة السوائل على طول الموجة 525 نانومتر.

2-5- الإحصاء:

استعمل في هذه التجربة إختبار T de student و ذلك للمقارنة بين معدلين.

النتائج

- الفصل الثاني : النتائج

بعد متابعة المجموعات الثلاث خلال ستة أسابيع من التجربة تحصلنا على النتائج التالية:

1 -الوزن الكلي:

جدول02 : الوزن الكلي للفئران (غ) عند المجموعة الأولى (الشاهد) خلال ستة أسابيع من التجربة.

الأسبوع / رقم العينة	0	1	2	3	4	5	6
1	98.00	117.50	132.50	141.10	167.10	192.10	197.20
2	103.00	120.20	144.10	169.10	184.70	197.10	204.70
3	119.70	146.10	168.30	186.60	202.60	216.00	218.00
$\bar{X}$ ± SD	106.90 ± 11.36 NS	127.93 ± 15.79 a*	148.30 ± 18.26 NS	165.80 ± 22.99 a*	184.80 ± 17.75 NS	201.73 ± 12.60 a*	148.30 ± 18.26 a*

NS: لا يوجد فرق معنوي

a: مقارنة مج1 مع مج2

*: $p < 0.05$

جدول 03: الوزن الكلي للفئران (غ) عند المجموعة الثانية المعالجة بالجرعة 200 ملغ/ل خلال ستة أسابيع من التجربة.

الأسبوع / رقم العينة	0	1	2	3	4	5	6
1	129.00	156.20	174.03	194.30	198.20	221.30	222.00
2	151.00	174.80	190.06	201.40	203.40	224.50	226.50
3	127.00	159.80	185.10	204.10	205.50	222.60	228.00
$\bar{X} \pm SD$	135.66 ± 13.31 NS	163.60 ± 9.86 a*	183.06 ± 8.20 NS	199.90 ± 5.06 a*, b*	202.36 ± 3.75 NS	222.80 ± 1.60 a*	225.50 ± 3.12 a*

NS: لا يوجد فرق معنوي

a: مقارنة مج1 مع مج2

b: مقارنة مج2 مع مج3

*: $p < 0.05$

جدول04: الوزن الكلي للفئران (غ) عند المجموعة الثالثة المعالجة بالجرعة 500 ملغ/ل خلال ستة أسابيع من التجربة

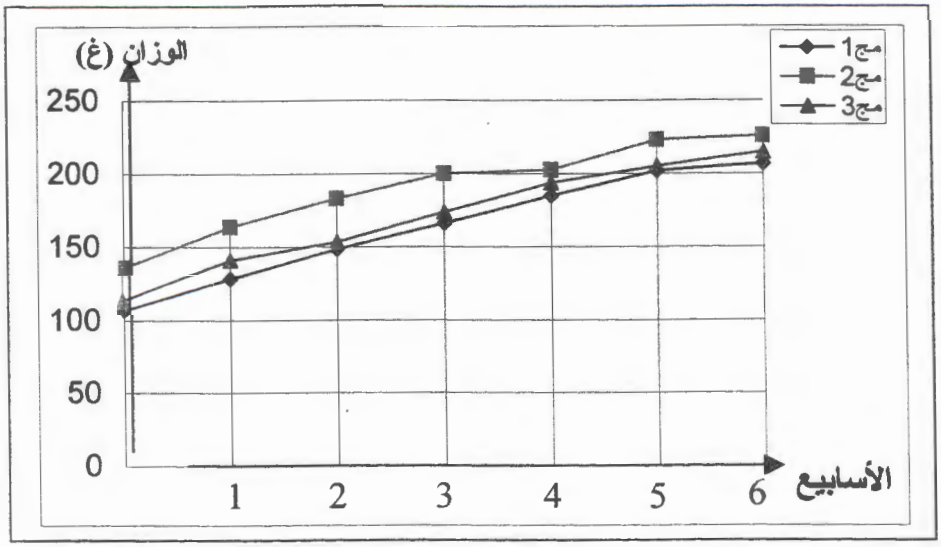
6	5	4	3	2	1	0	الأسبوع / رقم العينة
215.90	211.10	196.80	170.70	155.30	137.30	116.30	1
191.50	187.20	177.60	161.40	142.20	130.2	98.80	2
235.90	216.30	206.40	188.50	161.50	154.80	128.10	3
214.43 ± 22.23 NS	204.86 ± 15.51 NS	193.60 ± 14.66 NS	173.53 ± 13.77 b*	153.00 ± 12.66 NS	140.76 ± 12.66 NS	113.73 ± 15.80 NS	$\bar{X}$ ± SD

NS: لا يوجد فرق معنوي

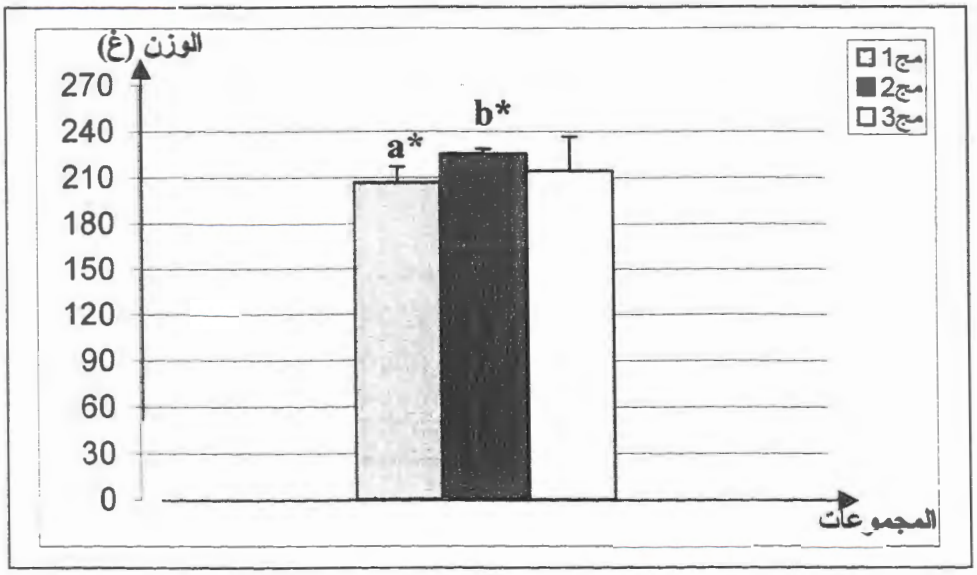
b:مقارنة مج2 مع مج3

*: $p < 0.05$

لوحظت زيادة طبيعية في الوزن الكلي للفئران و التي تراوحت بين 106-206غ عند المجموعة الأولى (الشاهد) ، و من 135-225غ عند المجموعة الثانية و بين 113-214 غ عند المجموعة الثالثة.
مع وجود فرق معنوي عند مقارنة و مج2 مع مج3 خلال الأسبوع الثالث عند $p<0.05$.



شكل03 : الوزن الكلي للفئران (غ) لذى المجاميع الثلاثة خلال ستة أسابيع من التجربة



شكل04: الوزن الكلي للفئران (غ) لدى المجاميع الثلاثة خلال ستة أسابيع من التجربة

2 -أوزان الأعضاء:

جدول05 : أوزان الأعضاء (غ) للمجموعة الأولى (الشاهد) بعد ستة أسابيع من التجربة

العضو / رقم العينة	الكبد	الكلية	الطحال
1	9.60	1.00	0.60
2	10.50	0.90	0.60
3	10.10	0.90	0.60
$\bar{X} \pm SD$	0.45 ± 10.06 NS	0.05 ± 0.93 NS	0.00 ± 0.60 NS

NS:لا وجود فرق معنوي

جدول06 :أوزان الأعضاء (غ) للمجموعة الثانية المعالجة بالجرعة 200 ملغ/ل بعد ستة أسابيع من التجربة

العضو / رقم العينة	الكبد	الكلية	الطحال
1	10.70	0.80	0.50
2	10.30	0.80	0.50
3	9.30	0.90	0.70
$\bar{X}$ ± SD	0.72 ± 10.10 NS	0.05 ± 0.83 NS	0.11 ± 0.56 NS

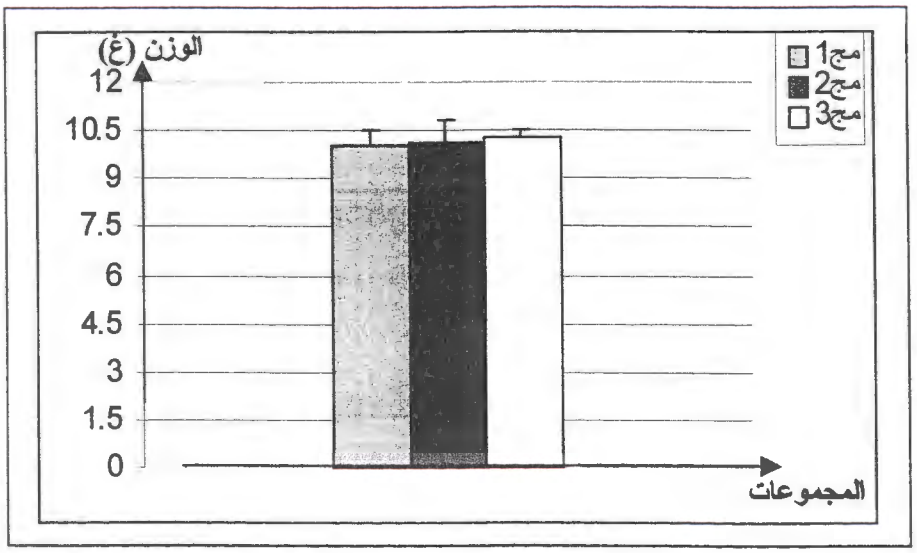
NS: لا يوجد فرق معنوي

جدول07 :أوزان الأعضاء (غ) للمجموعة الثالثة المعالجة بالجرعة 500 ملغ/ل بعد ستة أسابيع من التجربة

العضو / رقم العينة	الكبد	الكلية	الطحال
1	10.50	0.90	0.80
2	10.30	0.80	0.40
3	10.10	0.80	0.40
$\bar{X}$ ± SD	0.20 ± 10.30 NS	0.05 ± 0.83 NS	0.20 ± 0.56 NS

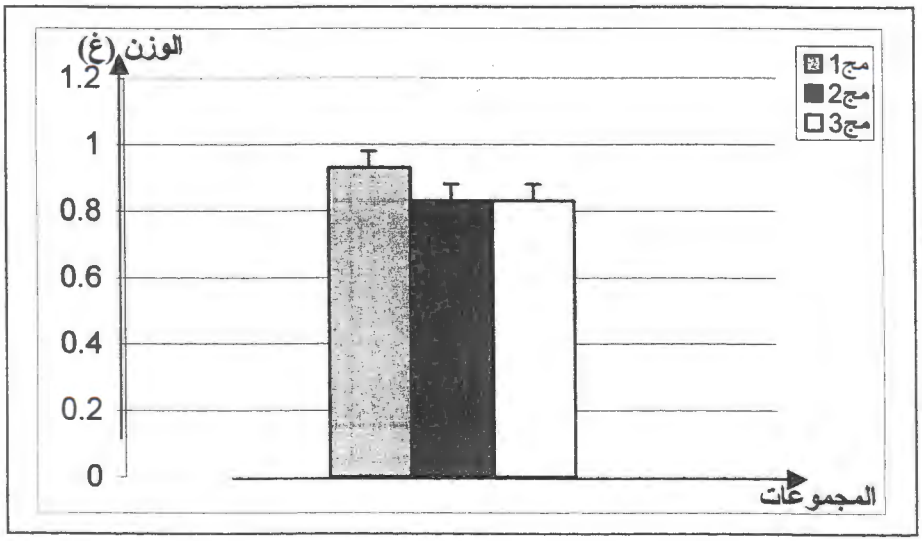
NS : لا يوجد فرق معنوي

ثم تسجل زيادة طفيفة في وزن الكبد لدى المجموعة الثانية و الثالثة مقارنة بالشاهد مع عدم وجود أي فرق معنوي عند مقارنة المجموعات الثلاث.



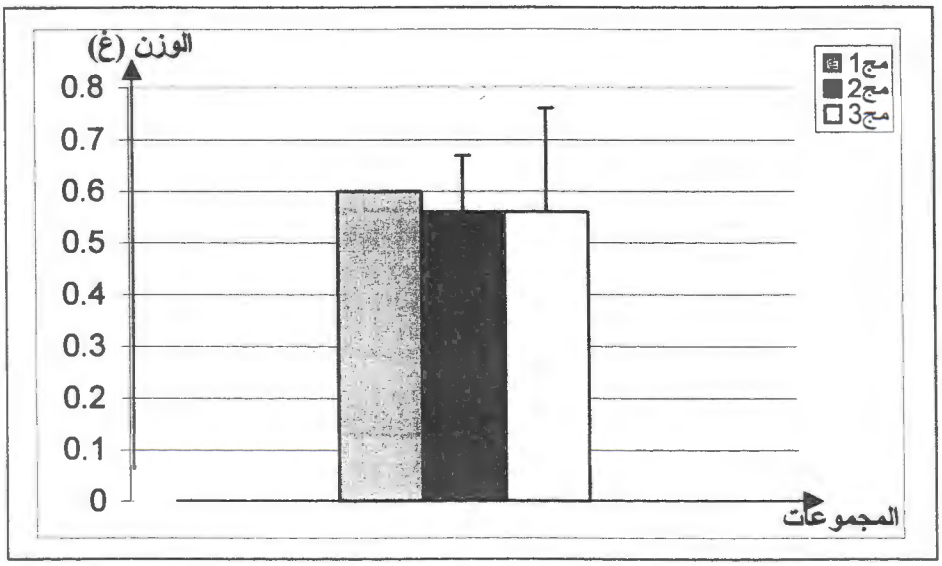
شكل05: وزن الكبد (غ) لدى المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة

فيما يخص وزن الكلية تم تخزين نقصان طفيف في الوزن عند المجموعة الثانية والثالثة مقارنة مع المجموعة الأولى مع عدم وجود أي فرق معنوي عند مقارنة المجموعات الثلاث.



شكل06: وزن الكلية (غ) لدى المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة

أما بالنسبة لوزن الطحالتم تسجيل نقصان طفيف في الوزن عند المجموعة الثانية و الثالثة مقارنة مع المجموعة الأولى مع عدم وجود فرق معنوي عند مقارنة المجموعات الثلاث



شكل07 : وزن الطحال (غ) لدى المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة

3-بروتينات المصل:

جدول08 : تركيز بروتينات المصل (غ/ل) عند المجموعة الأولى (الشاهد) بعد ستة أسابيع من التجربة

البروتين / رقم العينة	البروتين الكلي	الألبومين	ألفا1	ألفا2	بيتا	جاما
1	84.00	58.10	2.40	1.00	20.30	2.20
2	84.00	56.70	3.20	1.70	22.30	0.10
3	87.90	56.80	3.70	2.00	21.30	4.10
$\bar{X} \pm SD$	85.30 ± 2.25 NS	57.20 ± 0.78 c**	3.10 ± 0.65 NS	1.56 ± 0.51 NS	21.30 ± 1.00 a**	2.13 ± 2.00 NS

NS: لا يوجد فرق معنوي

a: مقارنة مج1 مع مج 2

c : مقارنة مج1 مع مج3

: $p < 0.01$

جدول09: تركيز بروتينات المصل (غ/ل) عند المجموعة الثانية المعالجة بالجرعة 200 ملغ/ل بعد ستة أسابيع من التجربة

البروتين / رقم العينة	البروتين الكلي	الألبومين	ألفا1	ألفا2	بيتا	جاما
1	78.25	61.70	6.60	0.00	16.85	2.10
2	89.00	60.90	2.20	2.80	18.10	5.00
3	89.50	66.40	0.60	3.00	15.60	3.90
$\bar{X} \pm SD$	88.58 ± 1.18 NS	63.00 ± 2.97 NS	3.13 ± 3.10 NS	1.93 ± 1.67 b**	16.85 ± 1.25 a**	3.66 ± 2.00 NS

NS: لا يوجد فرق معنوي

a: مقارنة مج1 مع مج2

b:مقارنة مج2 مع مج3

**: $p < 0.01$

جدول 10: تركيز بروتينات المصل (غ/ل) عند فئران المجموعة الثالثة المعالجة بالجرعة 500 ملغ/ل بعد ستة أسابيع من التجربة

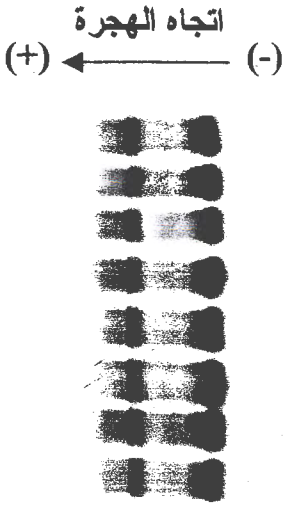
البروتين / رقم العينة	البروتين الكلي	الألبومين	ألفا1	ألفا2	بيتا	جاما
1	88.00	63.50	1.70	2.30	14.60	5.90
2	88.00	63.30	2.40	2.40	19.90	0.00
3	93.00	66.10	4.00	1.40	17.60	3.70
$\bar{X} \pm SD$	89.66 ± 2.88 NS	64.30 ± 1.56 c**	2.70 ± 1.17 NS	2.03 ± 0.55 b**	17.36 ± 2.65 NS	3.20 ± 2.98 NS

NS: لا يوجد فرق معنوي

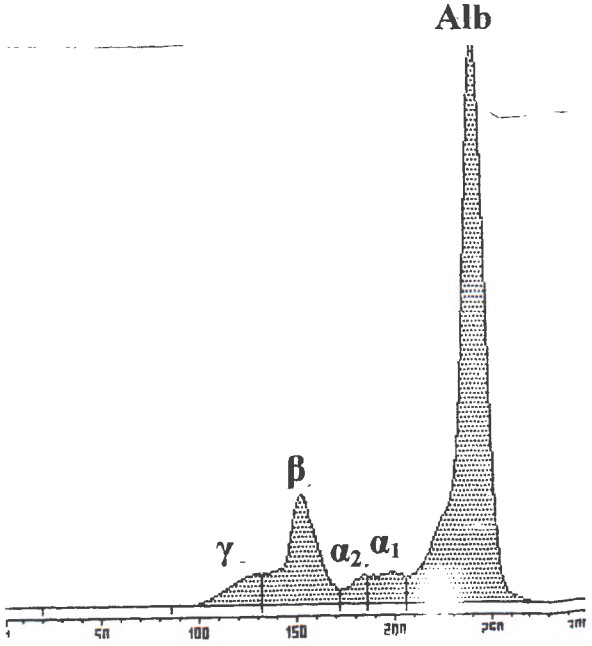
b: مقارنة مج2 مع مج3

c : مقارنة مج1 مع مج3

**: $p < 0.01$



(أ)



(ب)

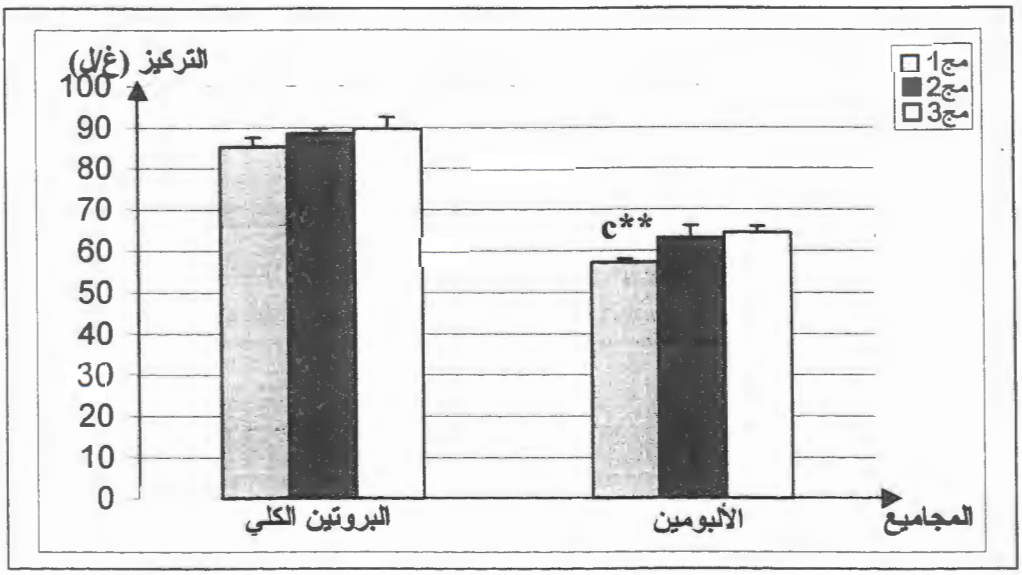
شكل08 :

(أ)- يوضح توضع البروتينات على ورق أسيتات السيليلوز بعد الهجرة الكهربائية عند المجموعات الثلاث .

(ب)- منحنى يوضح المناطق البروتينية بعد قراءتها بواسطة جهاز المكثف الضوئي عند المجموعة الأولى (الشاهد).

سجلت زيادة طفيفة في تركيز البروتين الكلي عند المجموعتين المعاملتين مقارنة بالشاهد مع عدم وجود فرق معنوي بين المجموعات الثلاث.

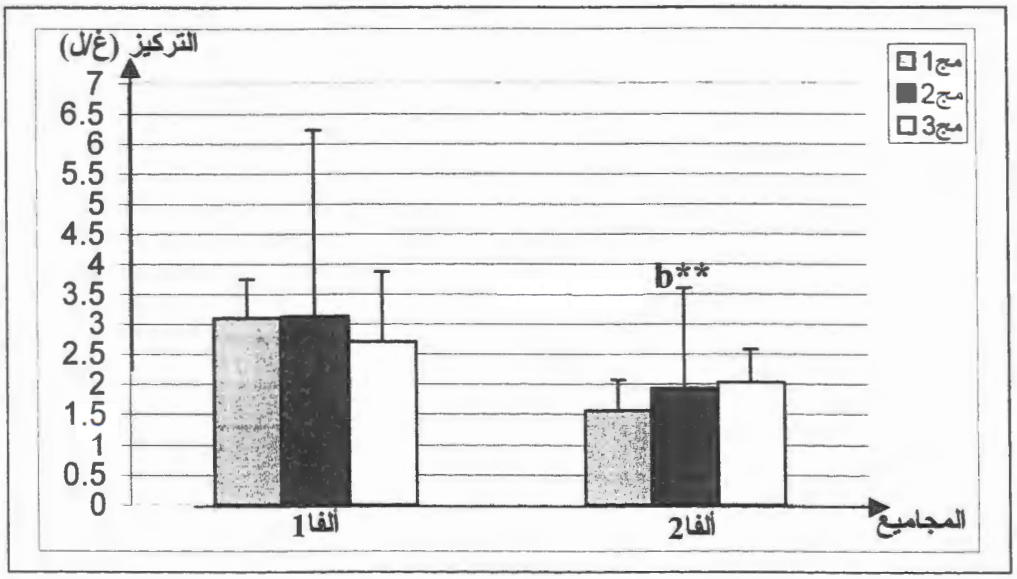
أما بالنسبة للألبومين لوحظت زيادة في تركيزه لدى المجموعتين المعاملتين مع عدم وجود فرق معنوي عند مقارنة مج1مع مج2 و مقارنة مج2 مع مج3 في حين سجل فرق معنوي عالي عند مقارنة مج1 مع مج3 عند $p<0.01$.



شكل 09: تركيز كل من البروتين الكلي (غ/ل) و الألبومين (غ/ل) عند المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة

لم تلاحظ أي زيادة في تركيز ألفا1 مع عدم وجود فرق معنوي بين المجموعات الثلاث.

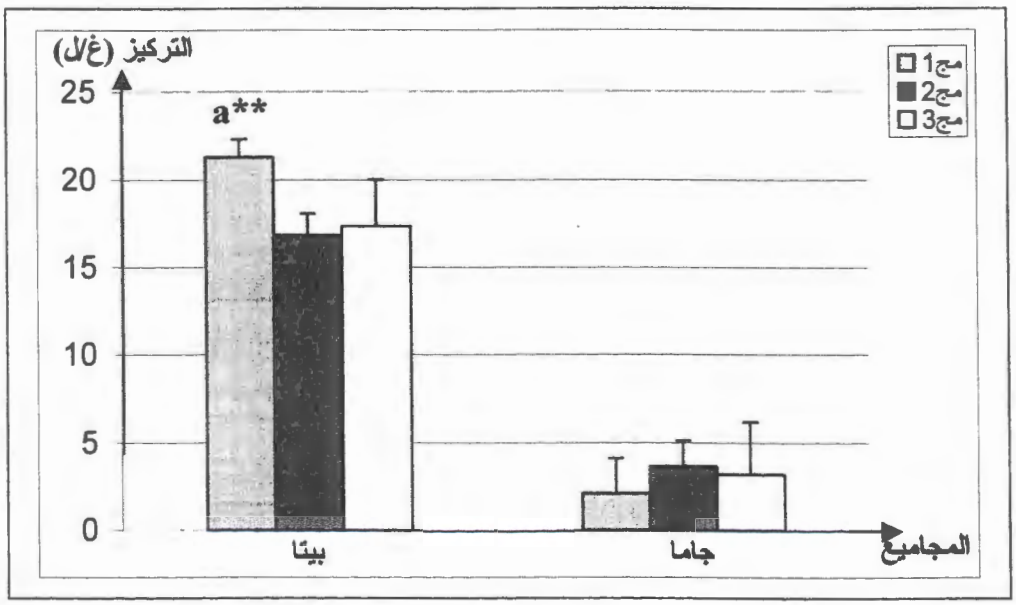
أما النسبة لألفا2 فقد لوحظ زيادة في تركيزه مع عدم وجود فرق معنوي بمقارنة مج1 مع مج3 و مقارنة مج2 مع مج1 ، أما بمقارنة مج2 مع مج3 فقد لوحظ وجود فرق معنوي عالي عند $p< 0.01$.



شكل10: تركيز كل من ألفا1 و ألفا2 (غ/ل) عند المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة

نسجل نقصا في تركيز بيتا غلوبيلين و ذلك مع وجود فرق معنوي عالي بمقارنة مج1 مع مج2 عند $p < 0.01$ ، أما بمقارنة مج2 مع مج3 ومج1 مع مج3 لم يلاحظ أي فرق معنوي

أما بالنسبة لجاما غلوبيلين فلوحظت زيادة في تركيزه مع عدم وجود فرق معنوي بمقارنة المجموعات الثلاث.



شكل 11: تركيز كل من بيتا و جاما غلوبيلين (غ/ل) عند المجاميع الثلاثة بعد ستة أسابيع من التجربة.

المناقشة

المناقشـــة:

إن التلوث بالمعادن الثقيلة من أخطر أنواع التلوث، و يمثل الرصاص أحد هذه المعادت و أكثرها سمية، إذ أنه يسسبب أضرار كبيرة في الجسم نتيجة تراكمه في الأنسجة و الأعضاء و حتى العضيات الخلوية، إذ يهدف هذا العمل إلى المساهمة في دراسة التأثير تحت المزمن لمعدن الرصاص على واحدة من أهم المركبات البيولوجية في الجسم المتمثلة في بروتينات المصل.

لقد أظهرت النتائج المتحصل عليها زيادة في الوزن الكلي للفئران عند المجاميع الثلاث و خلال ستة أسابيع من التجربة، و الذي قد نرجعه إلى صغر سن الفئران إذ أنها لا تتجاوز الشهرين إدا فهي تتعتبر في حالة نمو و كذلك مدة المعاملة التي لم تصل إلى حد التسمم المزمن و تراكم المعدن على مستوى الأعضاء و بالتالي تأثيره على الوزن الكلي للجسم، حيث أنه تبين من خلال دراسات أخرى أجريت على العمال المعرضين للتسمم المزمن بمعدن الرصاص انخفاض في الوزن الكلي مع ظهور اضطرابات أخرى في معظم أجهزة الجسم (Weber *et al.*, 1985) ، كدلك انخفض وزن الفئرن المعرضة للتسمم على المدى الطويل بمعدن الرصاص (Johamsson et Wide, 1986) .

إن التغيير في أوزان الأعضاء التي لها علاقة مباشرة بميثابوليزم الرصاص في الجسم لم يكن واضحا إلا على مستوى كل من الكلية و الكبد، عند المجموغتين المعاملتين مقارنة بالشاهد، و قد تدل هذه الزيادة على بداية تأثير الرصاص على العضو و ذلك بتراكمه داخل الخلايا الكبدية، كدلك نسجل نقصان في وزن الكلية لدى المعاملين، حيث أنّ الكلية و الكبد هي أكثر الأعضاء تأثرا بأسيتات الرصاص (Karmahar *et al.*, 1986)

و لقد أثبتت الدراسات أنّ الرصاص مرتبط مع بروتين يتكدس على مستوى الأنابيب الكلوية و يؤدي إلى ظهور ترصبات كلسية ثم تلي هذه المرحلة ظهور تشوهات في الأنابيب القريبة للنفرون مما يعيق عملية الإمتصاص الكلوي (Mestry *et al.*, 1987) ، كما أن هذه التأثيرات تظهر بعد التعرض المزمن لمعدن الرصاص على المدى الطويل و الذي ينتهي بتشوه للأنابيب الكلوية و تضخم الأوعية و تليف النسيج الكلوي (Bernard et Becher, 1988) .

أما في ما يخص وزن الطحال فقد تبين نقصان طفيف لذى المعاملين مقارنة بالشاهد حيث أن الدراسات أوضحت أن تراكم الرصاص في العضوية يؤدي إلى تحلل الكريات الحمراء التي ينتهي بها الأمر إلى التراكم في الطحال و بالتالي يتزايد وزنه مع مرور الزمن (Panltillement ***et al.***,1996)

- إن زيادة تركيز الألبومين عند المجموعتين المعاملتين مقارنة بالشاهد تعتبر زيادة طبيعية و هي نتيجة عادية تمثل رد فعل الجسم اجاه السمية الحاصلة بسبب الرصاص، حيث أنه من المعروف أنّ 95% من الرصاص الداخل للجسم يتم نقله عبر الطريق الدموي بعد ارتباطه بالألبومين، لأن وجود هذه الجزيئات حرّة في الدم يشكل خطرا على المركبات البيولوجية، ربما هذا ما أدى إلى زيادة تخليق هذا البروتين على مستوى الكبد من أجل التخلص من جزيئات الرصاص الحرة.

في حين أثبتت الدراسات أن الرصاص المتراكم في الكلية بعد مدة من الزمن يؤدى بالضرورة إلى إعاقة عملية الامتصاص مما ينج عنه خروج البروتين مع البول و الذي يشكل منه الألبومين النسبة الأعلى .(Bernard et *al.*,1995)

- إن الزيادة في تركيز ألفا 2 عند المجموعتين المعاملتين يؤدى حتما إلى الزيادة في تركيز *Haptoglobin* وهو البروتين المسؤول عن نقل جزيئات الهيموغلوبين الحرّة، من هنا يمكننا القول بأن الرصاص أثر على الكريات الحمراء بارتباطه بالغشاء الخارجي لها ، فغير من نفاذيته مما جعل دخول المواد وخروجها يحدث دون مراقبة فأدى إلى تحللها و خروج الهيموغلوبين من البلازما و عندها نبه الخلايا الكبدية على تخليق مادة *Haptoglobin* للتخلص من جزيئات الهموغلوبين الحرة (Kazi et Oukaci, 1990)

- أما فيما يخص تناقص تركيز الجزء بيتا لدى المجموعتين المعاملتين فقد يؤدي بالضرورة إلى تناقص في تركيز كل من *Hemopexin* و *Transferrin* المسؤولان على التولي على نقل الهيم و الحديد الناتجان عن تحلل الهيموغلوبين، بالإضافة إلى الليبوبروتين الذي يعمل على نقل كل من الفوسفوليبيد و الكولسترول و ثلاثي الغليسريد. حيث أثبتت الدراسات أن الرصاص يؤثر على ميثابوليزم الليبيدات و ذلك بتثبيطه للإنزمات المسؤولة على ذلك (W.H.O, 1980).

الخاتمة

الخاتمة:

إن المعادن الثقيلة و على رأسها الرصاص كانت منذ القدم محل إهتمام و دراسة، و ذلك لتأثيرتها السلبية على المستوى البيئي و الفيزيولوجي، إذ يمثل الرصاص أخطر هذه المعادن و أكثرها سمية و الذي تعد إضافة مركباته إلى البنزين من أهم مصادر تلوث الهواء و بالتالي تأثيره السلبي على الكائنات الحية و على رأسها الإنسان.

و قد تبين من خلال دراستنا أن للرصاص تأثير سلبي على الحالة الصحية العامة للجسم، إذ أنه يؤدي إلى اضطرابات على مستوى بعض المؤشرات البيوكميائية المتمثلة في بروتينات المصل و ذلك لتأثيره على الوظيفة الكبدية و الكلوية.

لذلك وجب علينا الإبتعاد عن كل المركبات و المستحضرات و المواد التي تحتوي على الرصاص، أملاحه أو مشتقاته لأجل تجنب التسمم بهذا المعدن.

- الإقتراحات:

- زيادة مدة المعالجة للوصول إلى حالة التأثير المزمن على المدى الطويل.
- إلى جانب بروتينات المصل، تقدير المؤشرات الدموية خاصة عدد الكريات الحمراء و تركيز الهيموغلوبين.
- إجراء دراسة نسيجية للكبد و الكلية.

Résumé

Ce travail consiste à étudier l'effet de l'intoxication sub-chronique par le plomb sur le rat wistar, et particulièrement sur certains paramètres liées à la fonction hépatique et rénale.

Deux groupes de rats ont été traités par deux doses différentes d'acétate de plomb (200 mg/l, 500 mg/l) dans l'eau potable pour une période de 6 semaines, le troisième groupe à été utilisé comme témoins.

Le poids corporel à été évalué chaque semaine, ainsi qui le poids du foie rein et rate à la fin de l'expérience. et les protéines sériques, en utilisant l'éléctrophorèse sur acetate de cellulose.

Les résultats obtenus montrent une augmentation du poids corporel des 3 groupes.

Pour les protéines sériques on remarque une augmentation de la concentration d'allbumine, il existe aussi des différences dans les autres fractions protéiques des deux groupes traités en comparaison avec le témoins.

Abstract

The aim of this work is to study the effect of sub- chronical intoxication of lead on wistar rat, especially on the fonction of and kidneys.

However, twogroups of rats have benn given two different doses of lead acetate for a period of six weeks.

Totale body weight has been evaluated weekly, in addition to the weight of liver, kidney and spleen wich has benn done at the end of experiment.
Serum proteins wich includes total proteins, Albumin, Alpha1,Alpha2, Beta and Gamma were analysed by cellulose acetate éléctrophoresis.

The obtairied results have showed an increase in body weight of the tree groups. Also some variations have benn recorded for the serum proteins fractions of the treated groups compared to the control.

المـــــــراجع

1- **Blaque A et M forestier** (1980). Dictionnaire des constantes biologiques et physique. Edition Maloine (5ème édition) pp :641.

2- **Benhaddayas S** (1998). Dossage des proteines plasmatiques en vue d'établir des normes Algérienne chez l'adulte. ***Mémoire DES, université de Constentine.***

3- **Bernard A.P et C.E Becher** (1988). Eenveronmental laed exposure and the kidney.Clin. toxicol **26**: 1-34.

4- **Bernard A.M ;vyskocil A ; Roels H ; Kriz J ; Kold M et R Lawerys** (1995). Renal effect in children.

5- **Boulanger P ; Polonovski J ; Tayeau F ; Mandel P et G Biserte** (1973). Biochimie médicale. Edition Masson et clé pp : 47-69.

6- **Cambell R et L Mergard** (1972). Non essentiel métals infood. ***Envir. Healt.persp*** **22**: 1006-1015.

7- **Charles M. M** (1994). Plasma proteins.Williams and wilkins Mary Land pp 239.

8- **Donis D** (1994). Biochimie clinique. ***Ed Maloine*** pp : 101-104

9- **Glinka N** (1981). Chimie générale. ***Ed. Mir. Moscou*** pp: 184-186.

10- **Jaques A** (1995). Atlas du corps humain. Paris.

11- **Johansson L et M Wide** (1986). Long term exposure of thermal mousse to lead effect on fertility. ***Env. Reas*** **41**:481-487.

12-**Karmakar N; Saxena R et S Anand** (1986). Histopathological changes induced in rat tissues by oral intake of lead acetate.***Envir. Reas*** **41**: 23-28

13-**Kazi T.A et Y Oukaci** (1990). Cours de biochimie. ***Office des biblication universitaires***. Alger pp (30-37),(45-49).

14-**Louisot P** (1983). Biochimie générale et médicale, structure, métabolique et sémiologique. ***Ed .Villeurbanne***. paris pp (368,371,426,430).

15-**Mistry P; Mastri C et B .A Flower** (1997). Laed induced alterations of renal gene expression with in subcellular compartiments. ***Toxicologist*** 7: 78.

16-**Moore J** (1978). Alpha 1 antitrypsin de feciency.***New. Engl.Med*** **299** : 1045-1099.

17-**Panltillement J ; Vandel B ; Allain P et H Gearges** (1996). Les bases pharmacologique de l'utilisation des médicaments.***Mc graw-hill companie new york*** (9ème édition) pp : 1629-1632.

18-**Robert k.M; Peter A.M; Darylk G.V et W. Rodwell** (1998). Harper biochimie.Italie pp: 709-714.

19-**Turner M.W et B Hulme** (1971). The plasma proteins. ***Pitman medical and scientific pubbis hing companylinited*** pp 57.

20-**Valdiguie P** (1995). Biochimie clinique, technique et documentation. ***Ed. Lavoisier***. Paris.

21-**Viala A** (1978). Elément de toxicologie. ***Ed. Tec et Doc*** pp : 294-298.

22-**Weber J.P ; Lilis R ; Valcuikas J.A et J Malkin** (1985). Effect of low level lead and arsenic exposure on copper smelter workers.***Arch.envr.health*** **40**: 38 – 74.

23-**WHO** (1980). Recommended health based limits in occupation exposure to heavy metals. Repot of WHO study group.***Tech.Rep.ser*** **74**

24- **البلخي ع.م؛ غوتوق ع و م.ح السمان** (1991). الكمياء اللا عضوية. ديوان المطبوعات الجامعية ص ص: 84 .

25- **الشعلان ع.م** (1996). التـلوث البيئي. ***منشورات جامـــعة عمر المختار***. ليبيا (الطبعة الأولى) ص ص: 56-58 .

26- **الخفاف ع.ع و ث.ك خضير** (2000). الطاقة و تلوث البيئة. ***دار المسيرة للنشر و التوزيع و الطباعة*** (الطبعة الأولى) ص ص:55-56 .

27- **المظفر س** (2000). كمياء البروتينات. ***دار المسيرة للنشر و التوزيع و الطباعة*** (الطبعة الأولى) ص ص: 86-88 .

28- **المنجد م.ع و ع.م البلخي** (1991). الكمياء اللا عضوية. ***ديوان المطبوعات الجامعية*** ص ص: 76 .

29- المنجد م.ع و ع.م البلخي (1991). الكمياء اللا عضوية***ديوان المطبوعات الجامعية*** ص ص: 76

30- عبد الحميد ز.ه و م.إ عبد المجيد (1996). الملوثات الكميائية و البيئية. ***الدار العربية للنشر و التوزيع***. مدينة مصر ص ص: 379-385

31- غزالي ك. ش (1995). الفيزيولوجيا: علم وظائف الأعضاء. ***مؤسسة شباب الجامعة*** ص ص:

- عمیور عائشة - غديري سهام - كبيش نجاة	مساهمة في دراسة تأثير التسمم تحت المزمن لأسيتات الرصاص على بروتينات المصل عند الفئران من سلالة wistar	2005/07/04

الملـــــــــــخص

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير التسمم تحت المزمن لمعدن الرصاص على الفئران من سلالة wistar خصوصا على بعض المؤشرات التي تتعلق بوظائف كل من الكلية و الكبد.

عوملت مجموعتان من الفئران بجرعتين مختلفتين من أسيتات الرصـاص هما عـلى التوالـي: 200 ملغ/ل و 500 ملغ/ل في ماء الشرب لمدة ستة أسابيع و المجموعة الثالثة استعملت كشاهد.

قدر وزن الجسم الكلي أسبوعيا بالإضافة إلى وزن كل من الكبد، الكلية و الطحال التي تم وزنها خلال الأسبوع الأخير من التجربة.

كما تم تقدير بروتينات المصل و التي شملت البروتين الكلي، الألبومين، ألفا1 ، ألفا2 ، جاما و بيتا باستعمال الهجرة الكهربائية بواسطة أسيتات السيليلوز.

بينت النتائج المتحصل عليها تزايد في الوزن الكلي للمجموعات الثلاث خلال ستة أسابيع من التجربة كما سجل تغيير في وزن الكبد مما قد يدل على تأثير الرصاص على الوظائف الكبدية.

كما ظهرت اختلافات على مستوى الأجزاء البروتينية لدى المجموعتين المعاملتين مقارنة بالشاهد.

الكلمات المفتاح : المعادن الثقيلة ، التسمم ، الرصاص ، الفئران ، بروتينات المصل

Les mots clés : les métaux lourd , l'intoxication , plomb , les rats , les protéines sériques