Alexandria University
Medical Research Institute
Department of Applied Medical Chemistry

METALLOTHIONEIN AS A BIOMARKER OF METAL POLLUTION AND GENE EXPRESSION OF INSULIN LIKE GROWTH FACTOR II

Thesis submitted to Department of Applied Medical Chemistry
Medical Research Institute, Alexandria University
In partial fulfillment of the requirements for the degree of

Doctor of philosophy
In
Applied Medical Chemistry

By

Hany Abdel-Hakiem Amin Kassem

B. Sc. In Biochemistry & Chemistry, Faculty of Science
University of Alexandria (1998)

M. Sc. In Applied Medical Chemistry, Medical Research Institute
University of Alexandria (2005)

P.U.A. Library
Central Medical Library (3)
792
610

2015

الملخص العربى

أثار تلوث البيئة المائية بالفلزات الثقيلة إهتماما عالميا كبيراً. وقد يتم التلوث البيئى بهذه الفلزات عن طريق الترسيب من الغلاف الجوى ، والتأكل الجيولوجى للصخور ، بالإضافة للمخلفات الصناعية والزراعية والأدمية ، ولهذه المخلفات آثار ضارة جداً على الأحياء المائية مما يؤثر على صحة الانسان.

وتقاس درجة التلوث بهذه الفلزات بتعيين تركيزاتها فى المياه والرواسب البحرية أو النهرية بالإضافة إلى الأحياء المائية. وقد أثبتت الأبحاث العلمية أن تعيين الملوثات فى أنسجة الرخويات تعتبر مؤشر جيداً لقياس درجة التلوث البيئى ، وذلك لشيوع تواجدها فى معظم البيئات الجيوجرافية المختلفة، ولإستقرارها فى أماكنها ، بالاضافة لقوة تحملها لتركيزات عالية من الملوثات . ويعتبر المتالوثيونين من أكثر الدلائل الحيوية المستخدمة للكشف عن تلوث البيئة بالفلزات الثقيلة ، حيث أنه يعتبر دليل حيوى دقيق لإثبات التعرض للفلزات.

ومن هذا المنطلق كان الهدف الأول من هذه الدراسة هو التعيين الكمى لمستوى المتالوثيونين فى أنسجة الرخويات البحرية كدليل حيوى على تلوث خليج أبوقير (منطقة المعدية) بالفلزات الثقيلة.

أظهرت نتائج هذه الدراسة عن تلوث خليج أبوقير (منطقة المعدية) بالفلزات الثقيلة وذلك من خلال وجود نسبة عالية من المتالوثيونين فى أنسجة هذه الحيوانات الرخوية المتواجدة فى هذه المنطقة. وقد أكدت صحة هذه النتائج بوجود بعض من الفلزات الثقيلة فى أنسجة هذه الرخويات مثل الكادميوم والنحاس والكروم والرصاص والزنك.

يعتبر خليج أبوقير حوض مائى شبه دائرى ضحل يقع فى شرق الأسكندرية، حيث يمثل خليج أبوقير أهمية صناعية وتجارية كبرى وسط المناطق الساحلية بجمهورية مصر العربية . يتعرض سكان منطقة المعدية للتلوث البيئى بكميات مباشرة من الفلزات الثقيلة، مما جعل الهدف الثانى لهذه الدراسة هو دراسة معدل المخاطر المعرض لها سكان هذه المنطقة بسبب تلوث خليج أبوقير، وأثرها على صحة الانسان، من خلال تعيين بعض أنواع من الفلزات الثقيلة، وذلك بتعيين تركيز المتالوثيونين فى دم الصيادين محل البحث، ودراسة أثر التعرض لهذه الفلزات على ضغوط الأكسده فى جسم هؤلاء الصيادين من خلال تعيين تركيزات بعض مضادات الأكسدة منها محتوى الجلوتاثيون ، وإنزيم الكاتالاز، وإنزيم الجلوتاثيون بيراوكسديز وإنزيم السوبراكسيد ديسميوتيز بالإضافة إلى تعيين المالون دى ألدهيد فى دم هؤلاء الصيادين وتأثير هذا على مستوى التعبير الجينى لعامل النمو شبيه الأنسولين ٢.

تمت هذه الدراسه على 56 شخص مقسمة إلى مجموعتين:

المجموعة الأولى (المجموعة الضابطة) وتشمل 12 أشخاص يعملون فى مهن مختلفه غير الصيد

والمجموعة الثانية تتضمن 44 صياداً محترفاً فى منطقة المعدية .

أسفرت نتائج هذه الدراسة عن وجود تركيزات عالية من الفلزات الثقيلة مثل (الكادميوم – الكروم – رصاص – نحاس – زنك) فى دم الصيادين محل البحث مصاحب لإرتفاع معنوى ملحوظ لمستوى المتالوثيونين فى خلايا الدم الحمراء الخاصة بالصيادين عنها فى المجموعة الضابطة.

يدخل المتالوثيونين فى عمليات التوازن الحيوى للفلزات الضروريه فى جسم الانسان منها (النحاس – الزنك) ، حيث يعتبر بروتين أساسى مرتبط بالنحاس والزنك فى معظم أنسجة الجسم، و الزياده الكبيره فى المتالوثيونين يؤدى إلى تثبيط الموت المبرمج للخلايا.

وقد أثبتت نتائج هذه الدراسة أن تعرض الصيادين لأنواع مختلفة من الفلزات الثقيلة تنج عنه حالة من ضغوط الأكسد الخطيرة، والتى أثبتت من خلال وجود مستوى معنوى عالى من المالون دى ألدهيد مصاحب بإنخفاض

معنوى كبير فى معدلات مضادات الأكسدة فى دم هؤلاء الصيادين (انخفاض معنوى كبير فى مستوى الجلوتاثيون والجلوتاثيون بيرأوكسديز والكاتالاز).

ويعتبر زيادة ضغوط الأكسدة بالجسم الناتج من التعرض للفلزات سببا لحدوث الطفرات الجينية المسببة للسرطان. وأظهرت نتائج دراسات سابقة أن الفلزات تساعد على تكوين جزئيات الأوكسجين النشطة فى الخلايا وتكوين جزئ الهيدروكسيل النشط ، حيث وجد أن هذه الجزيئات النشطة تساهم بدورها فى تكسير الدهون والبروتينات وكذلك الأحماض النووية فى الخلية. وتتسبب الفلزات فى تغير التعبير الجينى عن طريق تداخلاتها مع الإشارات الخلوية المتبادلة التى بدورها مسئولة عن نمو الخلية وتطورها.

وجدير بالذكر أن نتائج أبحاث بقسم الكيمياء الطبية التطبيقية أثبتت تلوث منطقة المعدية بالهيدروكربونات الحلقية العطرية (رسالة ماجستير) ومواد عطرية أمينية (رسالة ماجستير)، كما أثبتت نتائج هذه الدراسة القائمة عن تلوث هذه المنطقة بالفلزات الثقيلة. وقد أسفرت نتائج هذه الأبحاث عن حدوث ضغط تأكسدى معنوى خطير عند صيادين هذه المنطقة، بالاضافة لحدوث زيغ كروموسومى معنوى كبير عند هؤلاء الصيادين، كما أكدت نتائج الدراسات الحالية عن حدوث إرتفاع معنوى ملحوظاً فى مستوى التعبير الجينى لعامل النمو شبية الانسولين ٢ فى دم صيادين نفس المنطقة. ولعامل النمو شبية الانسولين ٢ دور كبير فى عمليات تنظيم نمو الخلايا الكبدية والتفاعلات الأيضية بها، كما يعتبر التغيير فى التعبير الجينى لعامل النمو شبية الانسولين ٢ مقياس لكفاءة هذه الخلايا. وقد أثبتت نتائج أبحاث سابقة أن تغيير التعبير الجينى لعامل النمو شبية الانسولين ٢ دليلا حيويا جيدا للتشخيص المبكر للأورام السرطانية الكبدية، وعليه ممكن القول بإحتمال وجود إصابات كبدية كامنة بدون أعراض عند هؤلاء الصيادين محل الدراسة.

وقد أثبتت بعض الأبحاث السابقة على أن أيونات الفلزات تحدث خللاً فى الموت المبرمج للخلايا وتعمل عن طريق تثبيط بروتين p53 مما يطيل من عمر الخلية ويجعلها قابلة للتحول السرطانى . وتزداد الأدلة على وجود تداخلات بين عامل النمو شبية الانسولين ٢ و p53 فى عملية تكوين الخلية السرطانية. وحديثا وجد أن زيادة التعبير الجينى لعامل النمو شبية الانسولين ٢ يؤدى إلى تكوين الأورام بواسطة تثبيط نشاط p53 .

وبناءا عليه، يعتبر وجود النواتج البولية للأمينات العطرية والهيدروكربونات العطرية الحلقية بالتزامن مع وجود الفلزات الثقيلة فى دم الصيادين بالأضافة لتعرضهم لجهد تأكسدى عالى ومصاحب بزيادة فى مستوى المتالوثيونين والزيغ الكروموسومى وزيادة التعبير الجينى لعامل النمو شبية الانسولين ٢ يجعل صيادين وساكنى منطقة المعدية عرضة مؤكدة لمخاطر حدوث أورام سرطانية فى المستقبل .

التوصيات

1. ضرورة عدم إلقاء المخلفات الأدمية و الصناعية فى البحار او البحيرات و ضرورة المعالجة الجيده للمخلفات قبل صرفها.
2. أهمية عمل متابعة دورية لهؤلاء الصيادين كل ستة أشهر بعمل تحاليل و أشعة للكشف المبكر على ظهور اى أمراض أو أورام.
3. أهمية التركيز على إجراء أبحاث مستقبلية على عامل النمو شبية الانسولين 2 لمعرفة آلية بداخلة مع باقى المحتوى الخلوى على مستوى الأنسجة لمعرفة دورة فى عملية تكوين الخلية السرطانية.
4. لابد من إجراء أبحاث مستقبلية لمعرفة مدى الأهمية التطبيقية لتعيين التعبير الجينى لعامل النمو شبية الانسولين 2 كدليل مبكر لحدوث أورام سرطانية.
5. ضرورة عمل دراسات مسْحيّة لمنطقة المعدية للوقوف على مستوى تلوث هذه المنطقة بالملوثات الأخرى.