



بررسی اثر تجویز خوراکی مواد آرایشی بر میزان رسوب سرب در بافت کلیه

حمید هاشمی مقدم^{۱*}، عبدالحسین شیروی^۲، سپیده شاداب^۲ و محبوبه ترابی^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه شیمی، دامغان، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران

مسئول مکاتبات: hashemimoghaddam@yahoo.com

چکیده

امروزه استفاده از مواد آرایشی بطور وسیعی توسط جوامع انسانی رواج دارد و از طرفی اطلاعات زیادی در مورد خطرات استفاده از این مواد توسط انسان منتشر نشده است. تحقیق حاضر تلاش داشته است تا میزان رسوب سرب را در بافت کلیه بدنبال تجویز خوراکی رژ لب مورد بررسی قرار دهد. میزان سرب در ۱۲ مارک مختلف از رژ لب با استفاده از تکنیک جذب اتمی با کوره گرافیتی (GFAAS) بعد از حل کردن نمونه‌ها در اسید اندازه‌گیری گردید. سپس یکی از انواع رژ لب جهت خوراندن به موش در سه دوز متفاوت انتخاب گردید. ۶۰ موش رت با وزن بین 10 ± 230 گرم به چهار گروه ۱۵ تایی تقسیم گردیدند یک گروه به عنوان گروه کنترل و سه گروه تجربی. گروه‌های تجربی به مدت ۹۰ روز به ترتیب دوز ۰/۱۶ و ۰/۳۲ و ۰/۴۸ mg/kg را از طریق گاوژ در یافت کردند و در این مدت گروه کنترل آب آشامیدنی دریافت نمودند. نتایج نشان می‌دهد که میزان سرب موجود در بافت کلیه گروه‌های تجربی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه تجربی دارد. از آنجایی که این مطالعه در یک دوره ۹۰ روزه انجام شده است هر تخمینی از میزان سرب رسوب کرده در کلیه موش‌ها بایستی بالاتر از مقدار گزارش شده در نظر گرفته شود، که بیانگر مخاطرات بالای مصرف این کالای آرایشی می‌باشد.

کلمات کلیدی: رژ لب، سرب، موش رت، کلیه

مقدمه

سال‌های اخیر نشان داده‌اند که بین مصرف مواد آرایشی و زیبایی و بروز انواع سرطان به ویژه سرطان سینه، حساسیت‌های پوستی، اختلالات تنفسی، مشکلات باروری و سقط‌های متعدد، اختلالات ژنتیکی و در نهایت سلامت جنین‌های زنان استفاده‌کننده از این محصولات، ارتباط مستقیمی وجود دارد [۱۰].

از طرفی گروه‌های صنعتی تولیدکننده و فروشنده لوازم آرایشی مدعی هستند که سرب، ماده‌ای نیست که به شکل عمدی در محصولات آرایشی مورد استفاده قرار گرفته باشد و از ترکیبات آن به شمار آید، بلکه ماده‌ای است که به شکل طبیعی در تمام محیط‌ها وجود دارد و همه افراد خواسته یا ناخواسته به شکل روزانه با خوردن، آشامیدن و حتی تنفس کردن، در معرض آن قرار دارند [۱۰].

در این تحقیق میزان سرب در مارک‌های مختلف از نمونه‌های رژ لب موجود در بازار ایران اندازه‌گیری شد، سپس یک مارک که دارای غلظتی از سرب در حدود حد مجاز

تماس انسان با سرب از زمان انقلاب صنعتی رو به افزایش بوده است. سرب از راه‌های مختلف از جمله هوا غذا و تماس وارد بدن می‌شود. برخلاف سایر فلزات سنگین مانند جیوه مقدار آستانه‌ای برای حد مجاز سرب وجود ندارد [۱]. گزارشات فراوانی در مورد منابع ناشناخته که فرد را در معرض سرب قرار می‌دهد وجود دارد و عمدتاً شامل لوازم آرایشی، اسباب بازی‌ها و لعاب ظروف می‌باشند [۹-۲]. محققان در رابطه با وجود سرب در مارک‌های مشهوری از رژ لب به مصرف‌کنندگان هشدار داده‌اند. با این حال و با وجود مستندات علمی، شرکت‌های بزرگ و قدرتمند تولیدکننده لوازم آرایشی، زیر بار نرفته و وجود سرب در رژ لب‌ها را خطرناک نمی‌دانند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که اغلب کارخانه‌های و مراکز تولیدکننده لوازم آرایشی برای ماندگاری بیشتر محصولات خود، از سرب استفاده می‌کنند. بنابراین امکان وجود سرب در لوازم آرایشی که روزها و ماه‌ها باقی می‌ماند، بیشتر است. پژوهش‌های مختلف

سرب در لوازم آرایشی بود در میان نمونه‌های آزمایش شده انتخاب و در روغن گیاهی با ۳ دوز متفاوت حل گردید و به موش‌ها خورانده شد. در نهایت میزان سرب در کلیه موش‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری شد و مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

دستگاه وری: دستگاه جذب اتمی Varian مدل AA-240 که مجهز به کوره گرافیتی و لامپ دوتریوم برای حذف اثرات زمینه بود برای اندازه‌گیری سرب بکار گرفته شد. برنامه حرارتی بکار برده شده برای آنالیز سرب براساس راهنمای دستگاه بکار گرفته شد. سرب با مخلوط کردن یک حجم از نمونه حل شده (بطور معمول $3 \mu\text{L}$) با حجم مساوی از مودیفایر آمونیوم دی‌هیدروژن فسفات اندازه‌گیری گردید. تمام وسایل شیشه‌ای به مدت یک شبانه روز قبل از استفاده در اسید نیتریک ۱۰٪ قرار داده شده و سپس با اسید کلریدریک ۱۰٪ شسته و با آب دوبار تقطیر آبکشی و در نهایت خشک گردیدند.

مواد مصرفی: تمامی ۱۲ مارک مختلف رژ لب از انواع موجود در بازار ایران در زمان اجرای این پروژه تهیه گردید. هر مارک دارای یک شماره LOT می باشد که رنگ آن را نشان می‌دهد. بطور کلی ۴ رنگ مختلف از رژ لب خریداری گردید و براساس برچسب روی هر رژ لب کشور مبدا آن تعیین گردید. نمونه‌های رژ لب ساخت کشورهای چین، تایوان، آمریکا، کره، و آلمان بوده و مبدا یک مارک مشخص نبود. آب اکسیژنه ۳۰٪، اسید نیتریک و مودیفایر آمونیوم دی‌هیدروژن فسفات شرکت مرک خریداری شده بود.

حل کردن نمونه‌های رژ لب: از نمونه رژ لب انتخاب شده 0.2000 گرم دقیقاً وزن گردید و به بشر 100 CC انتقال داده شد. سپس 10 میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به نمونه‌ها افزوده و پس از ۲ ساعت، نمونه‌ها در دمای 85 درجه به مدت ۲۴ ساعت حرارت داده شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها (روز دیگر) به نمونه‌ها 5 میلی‌لیتر H_2O_2 ۳۰٪ افزوده و دوباره تا 85 درجه به مدت ۲ ساعت حرارت داده شد.

پس از سرد شدن، نمونه‌ها صاف گردید و به به بالن حجمی 50 منتقل گردید.

تعیین میزان تجویز رژ لب: بدین منظور افرادی داوطلبانه و با آگاهی کامل از مارک رژ لب مورد نظر خواسته شد تا از آن استفاده نمایند تا از این طریق میزان مصرف رژ لب در هر بار استفاده اندازه‌گیری شود. بر اساس میانگین استعمال رژ لب توسط افراد میزان دوز 0.00098 گرم بدست آمد.

رژ لب در روغن گیاهی در سه غلظت حل گردید و 0.1 میلی‌لیتر از این محلول‌ها بطور روزانه به موش‌ها گاوژ گردید، چنانچه میزان 0.16 ، 0.32 و 0.48 mg/kg رژ لب به موش‌ها خورانده شود. معادل یک، دو و سه مرتبه استعمال رژ لب توسط یک فرد می باشد.

انتخاب حیوان، گروه و آزمایش: در این تحقیق از موش رت با وزن تقریبی 23.0 ± 1.0 گرم استفاده شد. حیوانات از انستیتو پاستور تهیه گردید و پس از انتقال به حیوان‌خانه در شرایط دمایی $26-28$ درجه سانتی‌گراد و پریرود نوری- تاریکی $12-12$ نگهداری شدند. کلیه موشها طبق ضوابط آزمایشگاهی استاندارد و بدون محدودیت در مصرف آب و غذا بصورت مجزا نگهداری گردیدند. سپس حیوانات به چهار گروه تجربی 15 تایی و یک گروه شاهد ده تایی تقسیم شدند. مقادیر ذکر شده از رژ لب به گروه‌های 15 تایی موش در یک دوره زمانی 3 ماهه خورانده شد.

پس از اتمام زمان آزمایش تمام حیوانات گروه تجربی و کنترل کشته شده و سپس کلیه موشها تخلیه گردیده و به دقت وزن شد و به لوله آزمایش منتقل گردید.

به نمونه‌ها 6 میلی‌لیتر HNO_3 غلیظ افزوده شد و به مدت 6 ساعت در دمای 120 درجه حرارت داده شد. پس از سرد شدن، نمونه‌ها صاف شده و به حجم رسانده شدند و در نهایت مقادیر سرب در این محلول‌ها اندازه‌گیری گردید.

روش آنالیز آماری: نتایج بصورت $\text{SE} \pm$ میانگین بیان گردیده‌اند. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) همراه با تست Tukey برای آنالیز آماری نتایج در سطح اطمینان $P \leq 0/05$ بکار گرفته شد.



نتایج

مطالعه انجام شده یک مطالعه تجربی (Experimental) می باشد که بر روی نمونه های حیوانی از نوع موش رت انجام شده است. در این مطالعه هفت گروه موش مورد بررسی قرار گرفته‌اند. لازم به ذکر است در طول این مطالعه چندین موش از گروه‌های مورد آزمایش به دلایل نامشخص از بین رفت.

جدول ۱ نتایج آزمایشات اندازه گیری سرب در ۱۲ نمونه از مارک‌های مختلف رژ لب را نشان می‌دهد. مقدار متوسط سرب در نمونه های رژ لب به عنوان میانگین در سه بهر با یک شماره LOT می باشد. میزان متوسط سرب در کل نمونه‌های آزمایش شده ۹۳.۷۹ ppm در وزن مرطوب

نمونه می‌باشد. جدول ۲ مقادیر متوسط وزن کلیه موش‌ها و غلظت سرب در بافت کلیه را در چهارگروه تجربی و گروه کنترل نشان می‌دهد (نمودار یک). نتایج نشان می‌دهد غلظت سرب در هر سه گروه تجربی که رژ لب دریافت نموده‌اند بطور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) بیشتر از گروه کنترل می‌باشد (نمودار ۲). همچنین نتایج نشان دهنده افزایش غلظت سرب به عنوان تابعی از دوز مصرف شده می‌باشد. چنانچه در دوز ۰/۳۲ mg رژ لب ۲۲.۹٪ افزایش در غلظت سرب در کلیه موش‌ها مشاهده می‌گردد، در صورتی که در دوز ۰/۴۸ mg/kg یک افزایش ۹٪ مشاهده می‌گردد. همچنین نتایج نشان دهنده افزایش وزن کلیه موش‌ها در سه گروه تجربی نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

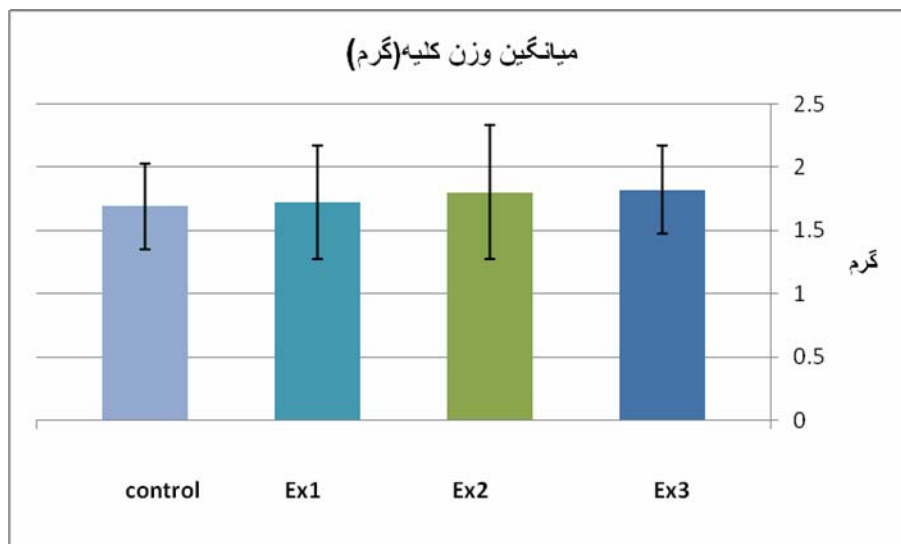
جدول ۱، مقدار سرب ppm در وزن مرطوب در نمونه‌های مختلف رژ لب

مارک	کشور سازنده	LOT	رنگ	متوسط میزان سرب ppm
۱	چین	۱۰	قرمز روشن	۲۰
		۰۹	قهوه‌ای مایل به زرد	۱۱۵۴
۲	آمریکا	۲۳	صورتی براق	۱.۲۴
۳	چین	۵۳	نارنجی	۱۸.۵
۴	چین	۱۴۰	قهوه ای	۱۸
۵	نامشخص	۱۲۸	صورتی	۵۸
۶	کره	۱۰	نارنجی	۲۱
۷	آمریکا	۹۰۶	صورتی	۱۰
۸	چین	۱۴	قرمز	۲.۳
		۱۷	قرمز روشن	۱.۵۸
۹	تایوان	۳۳	صورتی کم رنگ	۰.۴۸
۱۰	چین	۲۳	قرمز تیره	۰.۷۵
۱۱	چین	۱۰	قرمز براق	۰.۵
۱۲	آلمان	۰۷	نارنجی	۶.۸

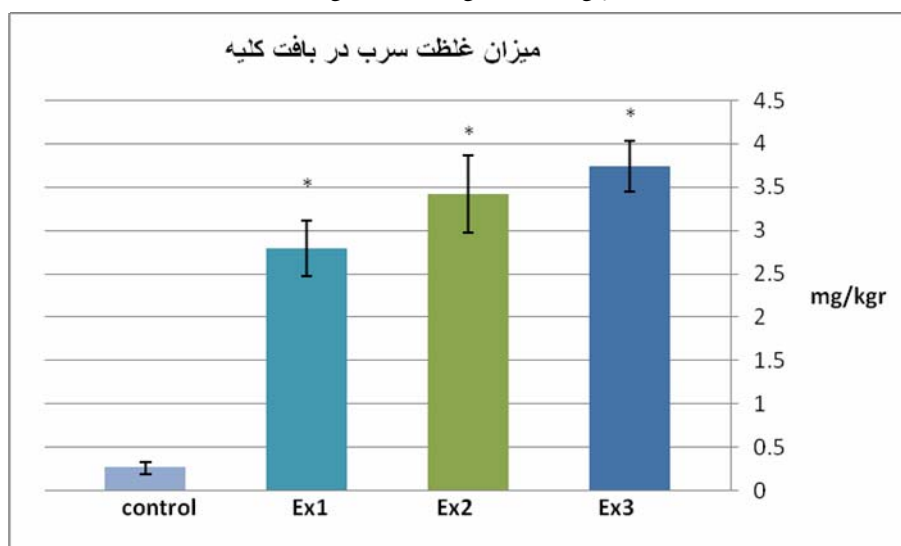


جدول ۲ مقادیر متوسط وزن کلیه موش‌ها و غلظت سرب در این بافت

گروه	دز رژ لب گاوآژ شده mg/kg/day	متوسط وزن کلیه	متوسط غلظت سرب mg/Kg
کنترل	۰	۱/۶۹ ± ۰/۳۴	۰/۲۶ ± ۰/۰۷
تجربی ۱	۰/۱۶	۱/۷۲ ± ۰/۴۵	۲/۷۹ ± ۰/۳۲
تجربی ۲	۰/۳۲	۱/۸۰ ± ۰/۵۳	۳/۴۳ ± ۰/۴۵
تجربی ۳	۰/۴۸	۱/۸۲ ± ۰/۳۵	۳/۷۴ ± ۰/۲۹



نمودار ۱- میانگین \pm انحراف معیار وزن کلیه در گروه‌های کنترل و تجربی. نتایج نشان می‌دهد که در وزن کلیه در گروه کنترل و گروه‌های تجربی اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود.



نمودار ۲- میانگین \pm انحراف معیار غلظت سرب در بافت کلیه. نتایج نشان می‌دهد که در هر سه گروه تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بوجود آمده است.



بحث

نگرانی فزاینده دیگر می‌باشد. مصرف کنندگان لوازم آرایشی در معرض سرب از طریق جذب پوستی (بطورمثال لوسیون‌های پوستی) یا دهانی (خوردن رژلب) می‌باشند. در این تحقیق سرب در تمامی نمونه‌های رژلب آزمایش شده در گستره بین ۰/۴۸-۱۱۵ ppm مشاهده گردید. نتایج کلی نشان می‌دهد که مقدار سرب در اکثر نمونه‌های رژلب زیر حد مجاز این ناخالصی می‌باشد. ۲۰ ppm حد مجاز این آلودگی در لوازم آرایشی بر اساس FDA می‌باشد.

همچنین نتایج نشان می‌دهد که خوراندن رژلب به موش باعث رسوب معنی‌دار سرب در کلیه موشها می‌گردد. از آنجا که این مطالعه در طول سه ماه صورت گرفته است هر تخمینی از میزان سرب در کلیه بایستی به سمت مقادیر بالاتر در نظر گرفته شود که این نشان می‌دهد که مصرف کنندگان لوازم آرایشی می‌توانند در معرض خطرات جدی مسمویت ناشی از سرب باشند. با توجه به تحقیق فوق وضع قوانین سختگیرانه تری برای چک کردن میزان سرب و سایر فلزات سنگین در لوازم آرایشی خصوصاً رژلب در ایران ضروری به نظر می‌رسد تا سلامتی مصرف کنندگان به خطر نیفتد.

منابع

1. Sharifi, A.M., S.H. Mousavi, and M. Jorjani (2010), Effect of Chronic Lead Exposure on Pro-Apoptotic Bax and Anti-Apoptotic Bcl-2 Protein Expression in Rat Hippocampus In Vivo Cell. *Molecular Neurobiology*, 30: 769-774.
2. Needleman, H. L., A. Schell, D. Bellinger, A. Leviton, and E. N. Allred (1990), The Long-Term Effects of Exposure to Low Doses of Lead in Childhood- An 11-Year Follow-up Report. *The New England Journal of medicine*, 322 (2): 83-88.
3. CSC, the Campaign for Safe Cosmetics, (2007), A Poison Kiss: The Problem of Lead in Lipsticks. Availab, Schell A, Bellinger D, Leviton A, Allred EN (1990). "The long-term effects of exposure to low doses of lead in childhood. An 11-year follow-up report". *The New England Journal of Medicine*, 322 (2): 83-8.

هدف‌های مولکولی بسیاری برای عمل سرب وجود دارد. سرب تمایل زیادی برای گروه‌های سولفو هیدریل بیومولکول‌های درونی دارد که سمیت آن شاید به این امر وابسته باشد. سمیت سرب می‌تواند تا حدودی به دلیل کم کردن فعالیت آنزیم‌های حاوی گروه‌های سولفو هیدریل مانند آنزیم آمینو لولینیک دهیدراتاز (ALA-D) باشد. فعالیت آنزیم (ALA-D) در گلبول‌های قرمز نقش مهمی در بیوسنتز بخش هم مولکول هموگلوبین به عنوان کوفاکتور داشته و امروزه حساس‌ترین شناساگر برای مشخص ساختن سمیت سرب در بدن می‌باشد [۱۱].

به منظور ارزیابی امکان اثرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ناشی از رسوب سرب موجود در رژلب وزن موشها در طول آزمایش و وزن کلیه موش بعد از آزمایشات مورد ارزیابی قرار گرفت. وزن اولیه موش‌ها (۱۰ ± ۲۳۰) در طول آزمایش تغییر یافت و یک کاهش معنی‌دار در وزن موش‌ها مشاهده گردید. تحقیقات نشان می‌دهد که سرب منجر به نفروپاتی (Nephropathy) و سندرم فانکونی (Fanconi Syndrome) می‌گردد که در آن عملکرد فیزیولوژی شامل جذب و دفع بخش پروکزیمال لوله‌های ادراری دچار اختلال می‌گردد [۱۲-۱۳]. بنابراین احتمال می‌رود که سرب موجود در رژلب توانسته است از طریق اختلال در عملکرد کلیه منجر به احتباس آب و تورم و افزایش وزن کلیه شده باشد. تحقیقات نشان می‌دهد تجویز ۰/۲ و ۰/۵ mg/ml سرب در آب آشامیدنی رت‌ها به مدت ۹۰ روز منجر به کاهش ملایم دریافت غذا و در نتیجه کاهش وزن می‌گردد [۱۴]. در تحقیق حاضر نیز کاهش وزن به صورت معنی‌دار با گروه کنترل مشاهده می‌گردد که می‌تواند ناشی از کاهش دریافت غذا توسط گروه‌های تجربی باشد.

علاوه بر منابع اولیه آلودگی سرب که ما احتمالاً با آنها مواجه می‌شویم مثل هوا یا آب آلوده، مطالعات اخیر نشان دهنده وجود پنهان سرب در بسیاری از مواد و وسایل دیگر مانند اسباب بازی‌ها، جواهرات، آبنبات و غیره، می‌باشد. در معرض سرب قرار گرفتن از طریق لوازم آرایشی یک



- leadcontaining ayurvedic medications. *Med. Sci. Monit.* 13: 295–298.
11. Meyer, P.A., Brown, M.J., Falk, H. (2008), Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutat. Le from: <http://www.safecosmetics.org/about/reports.cfm>*.
 12. Al-Saleh, I.A.S. (1994), The biochemical and clinical consequences of lead poisoning. *Medical Research Reviews.* 14: 415-486.
 13. Rubin, R., Strayer, D.S. (2008), *Environmental and nutritional pathology". Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine, 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins.*
 14. Grant, LD (2009), "Lead and compounds". In Lippmann, M. *Environmental Toxicants: Human Exposures and Their Health Effects, 3rd edition. Wiley-Interscience.*
 15. Amin, R.J., Venkatakrishna-Bhatt H., Panchal G.M. (1993), Effect of lead on anorexia and body weight in albino rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology, 37(2): 115-20.*
 4. Al-Saleh I, Mustafa A, Dufour L, Taylor A, Hiton R (1996). Lead exposure in the city of Arar, Saudi Arabia. *Arch. Environ. Health, 51: 73–82.*
 5. Lekouch, N, Sedki A, Nejmeddine A, Gamon S (2001), Lead and traditional Moroccan pharmacopoeia. *Science of Total Environment, 280: 39–43.*
 6. CDC, Centers for Disease Control and Prevention, (2002), Childhood lead poisoning associated with tamarind candy and folk remedies—California, 1999–2000. *MMWR, 51: 684–686.*
 7. CDC, Centers for Disease Control and Prevention, (2004), Lead poisoning associated with ayurvedic medications-five states, 2000–2003. *MMWR, 53: 582–584.*
 8. Ernst, E. (2002a), Heavy metals in traditional Indian remedies. *European Journal of Clinical Pharmacology, 57: 891–896.*
 9. Woolf, A.D., Woolf, N.T. (2005), Childhood lead poisoning in 2 families associated with spices used in food preparation. *Pediatrics 116, e314–e318.*
 10. Kales SN, Christophi CA, Saper RB (2007), Hematopoietic toxicity from