



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تأثير التعرض لغبار الهواء في بعض أنسجة الجسم ومعايير الدم الوظيفية و الكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض

رسالة ماجستير
تقدمت بها الطالبة ثناء عبد السادة خدام
إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة وهي جزء من متطلبات نيل شهادة
الماجستير في علوم الحياة (علم الحيوان / فسلجة حيوان)
بكالوريوس تربية علوم الحياة / جامعة كربلاء 2008
إشراف

الأستاذ المساعد الدكتور
الأستاذ الدكتور
وفاق جبوري البازي
نجم عبد الحسين نجم
2015م

1436 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ قالوا سبحانك لا علم لنا الا ما علمتنا

﴿ انك انت العليم الحكيم

صدق الله العظيم

الآيه (32) سورة البقره

شكر و عرفان

الحمد لله الذي أزهر القلوب بدعائه, وأينع براعم الإيمان بنداؤه, و أوسق ثمار العقيدة بمناجاته و هदानا بما أنزل من صحفه و رسالاته, فدعانا في محكم كتابه لدعائه, و جعله مفتاح الباب بينه و بين عبده و إمانه, و الصلاة و السلام على أشرف من دعاه من خلائقه و بريته أبي القاسم محمد صلى الله عليه و آله و مدينة علمه و حكمته, و عيبة كلماته, و على أهل بيت نبيه .

أما بعد...

فيسرني أن أتقدم بالشكر الجزيل إلى كل من ساهم في الإعانة و المساعدة في انجاز هذا البحث و على رأسهم أستاذي العزيزين الأستاذ المساعد الدكتورة وفاق جبوري البازي و الأستاذ الدكتور نجم عبد الحسين نجم لما بذلوه من جهد كبير في إنجاح هذه الدراسة كما أتقدم بخالص شكري و تقديري إلى الأستاذ حسين علي عبد اللطيف لما أبداه من مساعدة في إتمام جميع العمليات الإحصائية الخاصة بالدراسة, و الأستاذ المساعد الدكتور إبراهيم مهدي عزوز , و لا أنسى بالشكر عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة و قسم علوم الحياة بأساتذته و منتسبيه, كذلك أتقدم بالشكر إلى الدكتور عايد حميد و الدكتور رائد عبد المهدي من كلية الطب البيطري و أخي العزيز الدكتور حيدر عبد السادة و الدكتور أكرم و الست شيماء مالك و ذو الفقار و دعاء عادل و جميع رفاقي في الدراسات العليا .

وختاماً أدعو من الله التوفيق و دوام الصحة لكل من مد يد العون لي طيلة مدة دراستي.

الباحثة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للمدة من كانون الثاني 2014 إلى كانون الثاني 2015 في محافظة كربلاء لمعرفة تأثير الغبار على بعض المعايير الدموية والوظيفية وبعض معايير الإجهاد التأكسدي في ذكور الجرذان البيض إذ تم قياس أعداد كريات الدم الحمراء , وتركيز الهيموكلوبين , و حجم مكداس الدم , و أعداد الصفائح الدموية , ومعدل حجم كرية الدم الحمراء , و معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء , و معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء , وأعداد كريات الدم البيضاء , والخلايا اللمفاوية والحببية والوحيدة , وموجات القلب الكهربائية , ومستوى الرصاص والكاديوم والحديد والنحاس في مصل الدم والتروبونين والكلوكوز وبعض معايير الإجهاد التأكسدي المالونديالدهايد والبيروكسي نايتريت والكلوتاثيون تم تقدير مستوى تواجد العناصر الثقيلة في عينة غبار الأرصفة التي جمعت من أرصفة الشوارع الخدمية والسكنية ضمن القطاع البلدي الثاني في محافظة كربلاء .

قسم عشوائيا 15 ذكر من الجرذان البيض , تراوحت أعمارها بين (5-6) أشهر ، و أوزانها بين (250-300) غرام , إلى ثلاث مجاميع بواقع (5/ مجموعة) , اعتبرت المجموعة الأولى كمجموعة سيطرة والمجموعة الثانية عرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا ولمدة 30 يوما إذ تم تشريح الحيوانات بعد مضي 30 يوماً على التجربة , والمجموعة الثالثة 5 حيوانات استمر تعريضها للغبار لحين نهاية التجربة بعد مضي 60 يوماً . وجاءت نتائج الدراسة الحالية كما يلي :

- حصول ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في (كريات الدم الحمراء والهيموكلوبين وحجم مكداس الدم والصفائح الدموية) وكلا مدتي الدراسة مقارنة مع مجموعة السيطرة .
- وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في (حجم كرية الدم الحمراء) , وانخفاض غير معنوي في (معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء) لكلا مدتي الدراسة وارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في (معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء) بعد تعريض الحيوانات للغبار لمدة 60 يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة .
- حصول ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في (خلايا الدم البيضاء , و الخلايا الحبيبية , والخلايا اللمفية , والوحيدة) بعد التعرض للغبار لمدة 30 يوماً , و حدوث انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في (خلايا الدم البيضاء , و الخلايا اللمفية) وانخفاض غير معنوي في (الخلايا الحبيبية والوحيدة) بعد التعرض للغبار لمدة 60 يوماً. مقارنة مع مجموعة السيطرة .

- حدوث حالة تباطئ في ضربات القلب (Bradycardia) من خلال زيادة طول المسافة في موجة (R-R) مقارنة مع مجموعة السيطرة وكذلك نقصان معدل النبض (HR) وقصر موجة (QT) وقصر معقد (QRS) وزيادة موجة (P) .
- وجد انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في مستوى (Fe ,Cu) مع ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في (Pb,Cd) في مصل الدم ولكلا مدتي الدراسة. مقارنة مع مجموعة السيطرة .
- حصول ارتفاع غير معنوي في مستوى الكلوكوز, بعد التعرض للغبار لمدة 30 يوماً و حدوث ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في مستوى الكلوكوز بعد التعرض لمدة 60 يوماً .
- حدوث زيادة في التروبونين بعد التعرض للغبار لمدة 60 يوماً.
- حصول ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في مستوى المألونديالديهيد والبيروكسي نايتريت لكلا مدتي الدراسة و حصول انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة .
- بعد دراسة التغيرات العيانية الحيوانات المختبرية تحت تأثير الإجهاد البيئي للغبار لوحظ تجمع الحيوانات وخوفها عند بداية التعرض للغبار والبحث عن الأوكسجين والحك في جميع مناطق الجسم وخاصة منطقة الأنف وتساقط الشعر وظهور أعراض الحساسية .
- بعد تحليل عينة الغبار وجد عنصر الرصاص والكاديوم والحديد والنحاس بالإضافة إلى المعادن الأخرى التي تم الكشف عنها باستخدام جهاز الفلورة X-Ray Florescence .
- أشارت الدراسة الحالية إلى حصول تغيرات نسجية تمثلت بانسلاخ بطانة القصبة الهوائية وتغلظ جدران الاسناخ الهوائية في الرئة و الودمة و الارتشاح الالتهابي إضافة إلى حصول حالة التليف في القلب والرئتين .
- نستنتج من الدراسة الحالية إن التعرض المزمن للغبار أدى إلى تغيرات وظيفية ونسجية في ذكور الجرذان .

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
I	الخلاصة
III	قائمة المحتويات
VI	قائمة الجداول
VII	قائمة الأشكال والصور
VIII	قائمة المختصرات
3-1	1-الفصل الأول المقدمة
1	1-1 المقدمة
3	2-1 الهدف من الدراسة
16-4	2 الفصل الثاني استعراض المراجع
4	1.2. تلوث الهواء
5	2.2. مصادر تلوث الهواء
5	1-2-2 المصادر الطبيعية
5	2-2-2 المصادر الصناعية
6	3.2. الغبار
6	4.2. العمليات الفيزيائية لانتقال الغبار
7	5.2 تقسيم دقائق الغبار استنادا إلى أحجامها
8	6.2. حجم الدقائق ودخولها إلى الجهاز التنفسي
8	7.2. التعرض للدقائق على المدى القصير
9	8.2. التعرض للدقائق على المدى الطويل
9	9.2. علاقة دقائق الغبار بالإجهاد التأكسدي
10	10.2. تأثير المعادن النزرية و الثقيلة الموجودة في الغبار على صحة الإنسان
12	11.2. الجهاز التنفسي
12	12.2. التعرض لدقائق الغبار وأمراض الجهاز التنفسي
14	13.2. التعرض لدقائق الغبار وأمراض الجهاز القلبي

34-19	3-الفصل الثالث المواد وطرائق العمل
19	1.3 حيوانات التجربة
19	2.3 تصميم التجربة
19	3.3 طريقة تعريض الحيوانات للغبار
20	4.3 جمع عينات الغبار
21	3. 5 تقدير نسبة المعاد الثقيلة في الغبار
21	1.5.3 القياس باستخدام المطياف الذري
21	2.5.3 القياس باستخدام جهاز الفلورة
21	6.3 قياس الحجم الحبيبي لذرات الغبار
21	7.3 جمع عينات الدم
22	8.3 قياس المعايير الدموية
22	3. 1.8 تقدير أعداد كريات الدم الحمر
22	3. 8. 2 تقدير حجم مكاس الدم
22	3. 8. 3 قياس معدل تركيز الهيموكلوبين
23	3. 8. 4 تقدير نسبة مؤشرات كريات الدم الحمر
23	3. 8. 4. 1 حساب معدل حجم كريات الدم الحمر
23	3. 8. 4. 2 حساب معدل محتوى هيموكلوبين كريات الدم الحمر
23	3. 8. 4. 3 حساب معدل تركيز هيموكلوبين كريات الدم الحمر
23	3. 8. 5 تعداد الصفائح الدموية
24	3. 8. 6 العد الكلي لخلايا الدم البيض
24	3. 8. 7 العد التفريقي لخلايا الدم البيض
24	3. 9 قياس المعايير الكيموحيوية
24	3. 9. 1 تقدير تركيز الكلوكوز في مصل الدم
25	3. 9. 2 تقدير تركيز التروبونين في مصل الدم

26	3.9.3 تقدير نسبة المعادن الثقيلة في المصل
27	4.9.3 تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم
28	5.9.3 تقدير تركيز المانولديالديهيد في مصل الدم
29	6.9.3 تقدير تركيز البيروكسي نايتريت في مصل الدم
30	10.3 تسجيل مخطط القلب الكهربائي
31	11.3 الدراسة النسجية
31	1.11.3 تثبيت العينات
31	2.11.3 الغسل
31	3.11.3 الانكاز
31	4.11.3 الترويق
32	5.11.3 التشريب والظمر
32	6.11.3 التشذيب و التقطيع
32	7.11.3 التصبيغ
34	8.11.3 التحميل
34	12.3 التصوير
34	13.3 التحليل الإحصائي
62-35	4-الفصل الرابع-النتائج والمناقشة
36	1.4 تركيز العناصر الثقيلة في الغبار
38	2.4 الحجم الحبيبي لذرات الغبار
39	3.4 تأثير الإجهاد البيئي للغبار على التغيرات العيانية للحيوانات المختبرية
41	4.4 تأثير التلوث بالغبار على المعادن الثقيلة في مصل الدم
42	5.4 تأثير التلوث بالغبار على بعض المعايير الدمية
44	6.4 التغيرات الناتجة عن التلوث بالغبار على بعض المعايير الدمية الحسابية
45	7.4 التغيرات الناتجة عن التلوث بالغبار على أعداد خلايا الدم البيضاء الكلي والتفريقي

47	4. 8 تأثير التلوث بالغبار على بعض المعايير الوظيفية
48	4. 9 تأثير التلوث بالغبار على بعض معايير الإجهاد التأكسدي
51	4. 10 تأثير التلوث بالغبار على موجات القلب الكهربائية
55	4. 11 التغيرات النسجية
55	4. 11. 1 تأثير الغبار على نسيج عضلة القلب
58	4. 11. 2 تأثير الغبار على نسيج القصبة الهوائية
60	4. 11. 3 تأثير الغبار على نسيج الرئتين
65-64	الاستنتاجات والتوصيات
64	الاستنتاجات
65	التوصيات

رقم الصفحة	الموضوع
97-66	المصادر
67-66	المصادر العربية
97-67	المصادر الأجنبية

قائمة الجداول

رقم الصفحة	الموضوع
17	1-3 الاجهزة والأدوات المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ
18	2-3 المواد الكيميائية المستخدمة بحسب اسم الشركة والمنشأ
25	3-3 المحاليل التي تم تحضيرها لقياس السكر
36	1-4 نسبة المعادن الثقيلة بالغبار باستخدام المطياف الذري
36	2-4 نسبة المعادن الثقيلة بالغار باستخدام جهاز الفلورة
41	3-4 تأثير التلوث بالغبار على بعض المعادن النزررة والثقيلة في مصل الدم
43	4-4 تأثير التعرض المزمن لغبار الهواء لمدتي شهر وشهرين على بعض المعايير الدمية لذكور الجرذان

44	4-5 تأثير التعرض المزمن لغبار الهواء لمدتي شهر وشهرين على بعض المعايير الدمية الحسابية لذكور الجرذان
46	4-6 تأثير التعرض المزمن لغبار الهواء لمدتي شهر وشهرين على أعداد خلايا الدم البيضاء الكلي والتفريقي لذكور الجرذان
47	4-7 تأثير الغبار على بعض المعايير الوظيفية في ذكور الجرذان البيضاء
49	4-8 تأثير الغبار معايير الاجهاد التأكسدي في ذكور الجرذان البيضاء
51	4-9 تأثير الغبار على موجات القلب بالملي ثانية (msec) في ذكور الجرذان البيضاء

قائمة الاشكال والصور

رقم الصفحة	الموضوع
6	شكل (1-2) عمليات انتقال الغبار
20	شكل (1-3) الصندوق المستخدم لتعريض الحيوانات للغبار.
20	شكل (2-3) خارطة مدينة كربلاء تبين مواقع الدراسة .
30	شكل (3-3) طريقة قياس أطوال الموجات الكهربائية بجهاز (ECG)
31	شكل (4-3) تخطيط القلب الطبيعي
38	شكل (1-4) الحجم الحبيبي لعينة غبار الأرصفة
39	شكل (2-4) تجمع الحيوانات أثناء التعرض للغبار
39	الشكل (3-4) الحك أثناء التعريض
40	الشكل (4-4) البحث عن الأوكسجين
40	شكل (5-4) تساقط الشعر وحمول الحيوانات
51	شكل (6-4) المخطط الكهربائي لقلب ذكر جرذ من مجموعة السيطرة
52	شكل (7-4) مخطط القلب الكهربائي لذكر جرذ من مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 30 يوم
52	شكل (8-4) مخطط القلب الكهربائي لذكر جرذ من مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 60 يوم

56	صورة(1-4) مقطع في نسيج عضلة قلب لذكر جرذ من مجموعة السيطرة
56	صورة(2-4) مقطع في نسيج القلب لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهر
57	صورة (3-4) مقطع في نسيج القلب لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهر
57	صورة (4-4) مقطع في نسيج القلب لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهرين
58	صورة(4-5) مقطعا نسيجيا في القصبة الهوائية لمجموعة السيطرة
59	صورة(4-6) مقطع في نسيج القصبة الهوائية لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهرين
59	صورة(4-7) مقطع في نسيج القصبة الهوائية لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهرين
60	صورة(4-8) مقطع في نسيج الرئة لجرذ من مجموعة السيطرة
60	صورة(4-9) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهر
61	صورة (4-10) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهر
61	صورة (4-11) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهرين
62	صورة (4-12) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهرين

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
CAPS	Concentrated ambient particles
CTn	cardiac troponin
CHD	coronary heart disease
CRP	C Reactive protein
GSH	Glutathione
Hb	Hemoglobin
H & E	Hematoxylin & Eosin

HDL	High Density lipoprotein
HIF-1	Hypoxia-inducible factor-1
MDA	Malondialdehyde
MCV	Mean Corpuscles Volume
MCH	Mean Corpuscles Hemoglobin
MCHC	Mean Corpuscles Hemoglobin Concentrations
ONOO	Peroxynitrite
PM	particulates matter
PM10	particulates matter of 10 micrometers in diameter
PM2.5	particulates matter of 2.5 micrometers in diameter
PCV	Packd cell volume
RBC	Red blood cell count
ROS	Reactive oxygen species
UFP	Ultrafine particles
XRF	X-Ray Fluorescence
WBC	White Blood cell counts
HRV	Heart rat variable

الفصل الأول

المقدمة

INTRODUCTION

المقدمة Introduction

1-1 المقدمة :

ترتبط ظاهرة الغبار بإطارها الشامل بظاهرتي التصحر والتعرية, إذ يعد الإنسان من أهم الأسباب المؤدية إلى زيادة هذه الحالة بسبب استغلاله الخاطئ للغطاء النباتي والتربة والمياه (خالد, 2009) ، أن المادة الدقائقية العالقة في الهواء تتكون من خليط معقد من الدقائق الصلبة والسائلة التي تحتوي على مدى واسع من المركبات العضوية وغير العضوية , و قد ترتبط العناصر الثقيلة بالمادة الدقائقية المحمولة في الهواء في صور كيميائية متعددة وتظهر درجات مختلفة من المخاطر الصحية للإنسان (Sangani *et al.*, 2010) .

إنّ معظم التأثيرات المرضية الناتجة عن الدقائق الناعمة تكون عن طريق التنفس وبدرجة أقل عن طريق الهضم ، إذ تدخل الملوثات الدقائقية ذات الحجم والتراكيب المختلفة إلى جسم الإنسان مع هواء التنفس عن طريق الجهاز التنفسي الذي يمتلك آليات دفاعية فعالة تعمل على قنص أغلب الدقائقات وتجميعها قبل أن تصل إلى الحويصلات الرئوية. وفي جانب التأثيرات الصحية نلاحظ أن حجم الدقائقات هي التي تحدد الموقع الذي تتراكم فيه داخل الجهاز التنفسي إذ تعد الدقائقات التي تمتلك قطراً أقل من 10 مايكرون أجزاء قابلة للتنفس *respirable fractions* و أكبر من 10 مايكرون أجزاء تعلق في الممرات الأنفية (Nieboer *et al.*, 2005).

إن معظم المعادن السامة تتراكم في الدقائق الغبارية الناعمة التي يتراوح قطرها بين (0.1 - 1) مايكرون (Ravindra *et al.*, 2008) هذه الأحجام قادرة على الوصول عميقاً في الجهاز التنفسي واختراق الشعب الهوائية والترسب في المنطقة السنخية للرننتين مسببةً إعاقة للوظائف الفسيولوجية في الجسم نتيجة احتوائها على عناصر سامة مختلفة كالكاديوم والرصاص و الزرنيخ و الزئبق ، أو مركبات سامة كالهيدروكربونات الحلقية (Pope and Dockery, 2006) .

إنّ تلوث الهواء يؤثر بشكل مباشر على بطانة الأوعية الدموية للجسم مما يؤدي إلى تفاعلات التهابية و يؤثر على سلامة الرئة (Mills *et al.*, 2009). وتؤدي الدقائق (PM) *particulates* الصغيرة الحجم والقابلة للذوبان في الماء إلى ارتفاع السمية من خلال ميكانيكية الإجهاد التأكسدي والالتهابات (Valavandis *et al.*, 2008) . يرتبط تلوث الهواء مع حدوث زيادة ملحوظة في أمراض القلب و الأوعية الدموية ، والوفيات الناتجة عن نقص تروية عضلة القلب , وعدم انتظام ضربات القلب , وفشل القلب و أمراض الجهاز التنفسي مثل سرطان الرئة و أمراض الربو

(Chen *et al.*, 2008 ; Mills *et al.*, 2009)

أشار Dolan وجماعته (2006) إلى أنّ الرصاص ، و الكاديوم ، والنحاس تعدُّ من المعادن الرئيسية الملوثة للبيئة الموجودة على جوانب الطرق ويتم إطلاقها عن طريق حرق الوقود واحتكاك إطارات السيارات وتسرب الزيوت وتآكل البطاريات. ويجب النظر في تلوث الهواء في المدن المزدهمة والتي تعاني من مشاكل مرورية خطيرة ، هذه المدن عادة ما يكون فيها تركيز الدقائق أعلى في الهواء بزيادة قدرها ($7 \mu\text{g}/\text{m}^3$) ولهذا من المتوقع حصول مرض الانسداد الرئوي المزمن بنسبة (1-33) في النساء مقارنة مع الرجال (Schikowski et al., 2005).

لقد بين الشمري (1999) في دراسته حول تحديد تراكيز الملوثات الأساسية في هواء مدينة النجف الأشرف، ارتفاعاً في تراكيز الدقائق العالقة، وزيادة في معدلات تراكيز عنصري الرصاص و الحديد . إذ تضمنت الدراسة اختيار ثماني عشرة محطة سكنية وتجارية ومرورية مزدهمة، وخمس محطات صناعية .

و في دراسة المالكي (2005) لملوثات الهواء والماء والتربة في مدينة بغداد، أوضح أن التباين في تراكيز الدقائق العالقة ربما يعود إلى طبيعة كل منطقة (صناعية ، تجارية ، و سكنية) واختلاف كتلة المواصلات ونوعيتها والظروف المناخية فضلا عن تراكم الغبار على جانبي الطرق وزيادة الترب العارية نتيجة إهمال معظم المساحات المزروعة .

إنّ عملية انبعاث الغبار في العراق تحدث على مدار السنة إذ تزداد في فصلي الربيع والصيف وتتناقص في الخريف وتسجل أقل قيمة لها خلال فصل الشتاء. و تحدث بشكل أكبر في الأشهر والسنوات التي تزداد فيها معدلات سرعة الرياح ، و درجة حرارة الهواء ، و التبخر ، و يقل فيها معدل التساقط المطري (الجبوري ، 2012) .

نظرا لأهمية الهواء بالنسبة للإنسان و لما له من تأثير على صحته ، و نظراً لما تعانيه محافظة كربلاء المقدسة من خطر زحف التصحر عبر مساحاتها والتي أخذت تؤثر على حياة القطاع الزراعي بشكل خاص والمجتمع بشكل عام ، إذ إن أمراض الجهاز التنفسي و أمراض القلب قد ازدادت في العراق بسبب تأثيرات الأتربة والغبار وتلوث الهواء بعوالمق مخلفات الوقود وعوادم المولدات والسيارات مما ألحق الضرر الفادح بالمواطن ، جاءت هذه الرسالة لتسلط الضوء على تلوث الهواء بالغبار في محافظة كربلاء ، و توضيح التداخلات المختلفة التي تحصل للأعضاء الداخلية نتيجة لهذا التلوث ، لذلك يمكن رصد أهداف الدراسة بما يأتي :

1-2 الهدف من الدراسة :

- 1- دراسة تأثير الإجهاد البيئي على مفهوم الإجهاد التأكسدي وأثره في وظائف أنسجة الجسم من خلال دراسة تكوين الجذور الحرة والتعرف على مصادرها ونواتجها عن طريق قياس تركيز البيروكسي نائتريت (ONOO- Peroxynitrite) , المالونديالديهيد Malondialdehyde (MDA)
- 2- دراسة نظام المواد المضادة للأكسدة وأنواعها من خلال قياس تركيز الكلوتاثيون (GSH) الذي يعتبر من أهم مضادات الأكسدة الداخلية (غير الأنزيمية).
- 3- دراسة تأثير الإجهاد البيئي على بعض المعايير الدمية والوظيفية وموجات القلب الكهربائية.
- 4- دراسة تأثير الإجهاد البيئي على التغيرات العيانية للحيوانات المخبرية (ذكور الجرذان) والنتائج من التعرض لأحجام مختلفة من الغبار والمعادن الثقيلة الموجودة في الغبار ضمن منطقة الدراسة
- 5- قياس مستوى تركيز بعض العناصر الثقيلة في مصل الدم مثل (الرصاص Lead Pb و الكاديوم Cadmium Cd والنحاس Copper Cu والحديد Iron Fe) .
- 6- دراسة تأثير الإجهاد البيئي على أنسجة القلب والرئتين و القصبة الهوائية .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

LITERATURE

REVIEW

استعراض المراجع

Literature review

1-2 تلوث الهواء Air pollution:

يتلوث الهواء عندما توجد فيه مادة غريبة ، أو عندما يحدث تغير مهم في المواد المكونة له ، يترتب عليه حدوث نتائج ضارة. وقد عرّف Hoodges (1973) تلوث الهواء على انه التغير في تراكيز مكونات الهواء بحيث تصبح هذه التراكيز ضارة بصحة الانسان أو بمكونات البيئة. أما موسى (2000) فقد عرّف تلوث الهواء بأنه احتواء الهواء على مواد غريبة أو تكون تراكيز بعض مكونات الهواء أكثر من التراكيز المسموح بها في المحددات القياسية العالمية ، التي تؤدي زيادتها إلى تأثيرات سلبية على البيئة .

وقد تم تصنيف ملوثات الهواء وفقا لمصادرها وتركيبها الكيميائي و حجمها وتحررها في الأماكن المغلقة أو في الهواء الطلق (Bernstein et al . , 2004) إلى :

أولاً- الملوثات الابتدائية و الملوثات الثانوية :

- 1- الملوثات الابتدائية (primary pollutants) : تطلق بشكل مباشر إلى الغلاف الجوي مثل مخلفات عوادم السيارات.
 - 2- الملوثات الثانوية (secondary pollutants) : تتشكل في الهواء نتيجة التفاعل مع الغازات و الملوثات الأخرى مثل الضباب الدخاني.
- ثانياً- الملوثات الغازية و الدقائق العالقة :

- 1- الملوثات الغازية : مثل اكاسيد النايروجين ، والاوزون ، و أول أكسيد الكربون , الفريون.
 - 2- الدقائق العالقة : وتقسّم حسب حجمها إلى الخشنة هي الدقائق التي قطرها من 2.5 إلى 10 مايكرون (PM 10) particulates matter of 10 micrometers in diameter والناعمة هي الدقائق التي قطرها من 0.1 إلى 2.5 مايكرون (PM.25) particulates matter of 2.5 micrometers in diameter والمتناهية في الصغر وهي الدقائق التي قطرها اقل من 0.1 مايكرون Ultrafine particles (UFP)
- ثالثاً- الملوثات في الأماكن المغلقة والملوثات في الهواء الطلق :

- 1- الملوثات في الأماكن المغلقة :مصادرها :الطبخ والاحتراق والتدخين والتدفئة. ومنتجاتها : CO والمركبات العضوية المتطايرة والعوامل الميكروبية والغبار العضوي

2- الملوثات في الهواء الطلق :مصادرها: صناعية , و تجارية , و مواد البناء , و زراعية أو طبيعية , و وسائل النقل ومنتجاتها: أكاسيد النايتروجين , و الدقائق PM, والمركبات العضوية المتطايرة , و الأوزون وثاني اوكسيد الكربون , و رباعي اثيل الرصاص.

2-2 مصادر تلوث الهواء :

1-2-2 المصادر الطبيعية :

تشمل المصادر التي تشترك بالنسبة العظمى من الغبار المنبعث في العالم إذ لا تقلّ بأي حال من الأحوال عن $(10^{11} \times 20.7)$ كغم/سنة أي بنسبة (90%) , وتشمل الدقائق الترابية التي تثيرها الرياح فوق الأراضي شبه الجافة والجافة , وكذلك البراكين والدخان الناتج من الحرائق , وحببيات اللقاح , وبعض العناصر الأخرى . و يعدّ الغبار أحد السمات الرئيسية المرافقة لمناخ الأقاليم الجافة وشبه الجافة والتي تتميز بوجود تقلبات مناخية تسبب في تصاعد الأتربة والرمال وحملها إلى مسافات بعيدة مكونة ما يسمى بظاهرة الغبار. إذ إنّ طبيعة السطح وقلة الأمطار وفقدان الغطاء النباتي وشدة الرياح التي تتوقف على طبيعة أنظمة الضغط الجوي وحالة عدم الاستقرار وما تسببه من تيارات هوائية صاعدة جميعها من العوامل التي تساعد على إثارة الأتربة (محمود وعلي, 2010) .

2-2-2 المصادر الصناعية :

تشمل المصادر التي تشترك في انبعاث $(10^{11} \times 2.6)$ كغم/سنة أي بنسبة (10%) الباقية . وأهم مصادرها الانبعاثات الحاصلة من عمليات الاحتراق المختلفة , وكثرة استخدام المواد الكيميائية المختلفة , و استخراج أحجار البناء من المفاصل الجبلية , و استخدام المبيدات الحشرية في البيوت (محمود وعلي, 2010) , ويمكن تقسيمها إلى :

1- المصادر الثابتة :

وتشمل مصانع الأسمدة والمبيدات , ومحطات تعبئة الوقود , ومصانع الاسمنت والحديد ومعامل الإسفلت و الطابوق , ومحطات توليد الطاقة الكهربائية وغيرها , وتعد الرياح عاملاً رئيساً ومهماً في نقل الملوثات الصناعية وبما أن كثير من الصناعات في العراق تقع داخل المدن أو بالقرب منها لذا فإن تلك الصناعات تؤثر بدرجة كبيرة على تلوث الهواء بصورة مباشرة عن طريق الاستنشاق والتنفس أو غير مباشرة من خلال سقوطه وترسبه على الماء والتربة (الشمري وآخرون, 2012) .

2- المصادر المتحركة :

تمثل وسائط النقل أكبر المصادر الملوثة للهواء ؛ إذ تعد غازات عوادم السيارات من أبرز المخاطر التي تهدد البيئة والتي لها تأثير مباشر على تلوث الهواء ومما يزيد خطورة ملوثات عوادم السيارات أنها تقذف في الطبقة السفلية من الهواء والتي تتعامل معها الأحياء بشكل مباشر(الشمري وآخرون, 2012) .

2-3 الغبار:

يعرف الغبار بأنه دقائق ترابية غير متماسكة تتراوح أقطارها بين (0.05_500 مايكرومتر) و تقلّ أقطار الدقائق المكونة للغبار كلما ارتفعت إلى الأعلى إذ تبقى الدقائق الصغيرة التي تقلّ أقطارها عن (1 مايكرومتر) عالقةً في الفضاء لمدة تصل إلى عدة أيام وترتفع إلى مئات الأمتار عن سطح الأرض (العبيدي, 2002) .

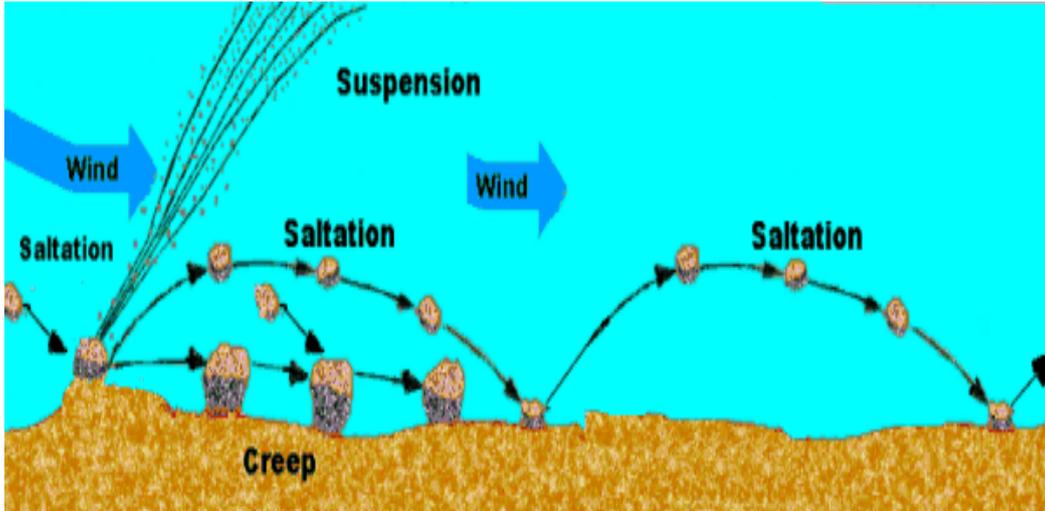
2-4 العمليات الفيزيائية لانتقال الغبار :

يمكن تقسيم عمليات انتقال الغبار إلى ثلاثة أقسام بالاعتماد على حجوم الدقائق وقوة الرياح , وهذه العمليات هي الزحف, والوثب, والتعليق : (خالد, 2009 ; Heidorn, 2002) .

1- الزحف (Creep) : هو حركة دقائق الغبار على طول سطح الأرض بواسطة الزحف والانزلاق , ويجب أن تكون الدقائق كبيرة وسرعة الرياح خفيفة .

2- الوثب (Saltation) : هو حركة الدقائق خلال سلسلة من القفزات والطفرات , و أن هذه الدقائق تنجرف باتجاه الريح تقريباً أربع مرات أكثر من الارتفاع الذي تحقّقه فوق سطح الأرض.

3- التعليق (Suspension) : تحدث عندما ترتفع دقائق الغبار في الهواء بواسطة تيارات الرياح , ويمكن أن يؤدي ذلك إلى أعمدة غبارية محمولة لمسافات بعيدة عن منطقة المصدر إذا كانت الدقائق المحمولة صغيرة بما فيه الكفاية والتيارات الهوائية قوية بما فيه الكفاية لبقاء الدقائق معلقة , وإن سرعة الرياح المطلوبة لتنشيط حركة الدقائق لعمليات انتقال الغبار سوف تعتمد على حجم دقائق الغبار .



الشكل (1-2) عمليات انتقال الغبار (Heidorn , 2002).

5-2 تقسيم دقائق الغبار استناداً إلى أحجامها :

يطلق على الغبار مصطلح الدقائق ويمكن تقسيمها استناداً إلى حجمها إلى :

1- الدقائق المتساقطة :

وهي تلك الدقائق التي يزيد قطرها على 10 مايكرون ، ولا تلبث هذه الدقائق أن تتساقط بعد مدة من انطلاقها من مصدرها ، وقد تحملها الرياح الشديدة مرة أخرى ، وللدقائق المتساقطة تأثير ضعيف على المجاري التنفسية ، لأن شعيرات الأنف تعمل على التخلص من جزء كبير منها وخاصة التي يزيد قطرها عن 100 مايكرون ، ولكن لها آثار بالغة على حياة النبات ، وتلحق أضراراً كبيرة بالحيوان ووسائل النقل والمباني والممتلكات الاقتصادية وتصل كمية الغبار المتساقط إلى معدلات كبيرة في المناطق الصناعية ، والمدن الكبرى فقد يزيد عن 100طن/كم²/شهر ، علماً بأن الحد المسموح به 9 طن/كم²/شهر (الشمري وآخرون, 2012)

2- الدقائق العالقة :

يتراوح قطرها بين 0.1 إلى 10 مايكرون ، وتبقى مدةً طويلة معلقة في الهواء ، أما ترسبها فيكون بطيئاً ، ويتوقف على الظروف المناخية من رطوبة ، ودرجة حرارة ، ورياح وغيرها ، وهي من أخطر الدقائق الملوثة للهواء ، وذلك لأنها تشكل القسم الأكبر من الدقائق الملوثة للهواء ولقدرتها على الوصول إلى الرئتين والاستقرار فيها ، إضافة إلى احتوائها على المعادن الثقيلة . ونظراً لخطورتها فإن التركيز المسموح به يختلف تبعاً للاختلافات البيئية ، والنشاطات الداخلية ، فمثلاً في الولايات المتحدة الأمريكية حددت وكالة حماية البيئة الأمريكية أن لا يزيد التركيز على 75 ميكروغرام/م³ كمعدل سنوي ، وفي السعودية مثلاً فإن المعدل

السنوي العام يجب أن لا يزيد على 80 ميكروجرام/م³ (علي, 2008 ; الشمري وآخرون, 2012).

3- الدقائق العالقة الدقيقة :

وهي دقائق صغيرة جدا قطرها أقل من 0.1 ميكرون , لا تترسب غالبا و إنما تبقى معلقة في الهواء, وتوجد في الهواء غير الملوث عدة مئات في السننيمتر المكعب ، أما في الهواء الملوث فيصل عددها إلى 100.000 جزيئة/م³ (علي, 2008) .

2-6 حجم الدقائق ودخولها إلى الجهاز التنفسي :

تبقى دقائق الغبار الصغيرة محمولة في الهواء ويمكن استنشاقها عن طريق الأنف أو الفم .احتمال الاستنشاق يعتمد على قطر الدقائق وحركة الهواء حول الجسم ومعدل التنفس. وحجم هذه الدقائق يختلف من بضعة نانومترات إلى عشرات الميكرومترات ,فالدقائق التي قطرها 10 ميكرومتر (PM 10) يمكن أن تصل إلى أسفل الجهاز التنفسي ,والتي قطرها (PM 2,5) يمكن أن تخترق منطقة تبادل الغازات في الرئة , أما الدقائق المتناهية الصغر والتي قطرها (PM 0,1) فهي الأكثر وفرة من حيث العدد من الأحجام الأخرى , وتزداد درجة اختراقها للرئة (Nieboer et al., 2005).

إن تأثير الدقائق يعتمد على التركيب الكيميائي لها فقد تكون معادن أو مركبات عضوية و يعتمد على حجم هذه الدقائق فمنها الصغيرة ومنها المتناهية في الصغر , وكذلك يعتمد على مدة التعرض اليومية فكلما زادت هذه المدة زاد تأثير هذه الدقائق . (Donaldson et al. , 2005) . وتعتمد هذه الدقائق على الفصل والموقع الجغرافي الذي جمعت منه العينة وترتبط الرطوبة البيئية مع تركيز السموم الداخلية في هذه الدقائق (Spaan et al. , 2008) .

2-7 التعرض للدقائق على المدى القصير :

التعرض لدقائق الغبار على المدى القصير (أي من 5 دقائق إلى 72 ساعة) ينتج تغيرات في الجهاز العصبي اللاإرادي وتنشيطاً لمسار الالتهابات وخللاً في وظيفة الأوعية الدموية ، و تضيق الشرايين وتغيرات في التخثر Thrombosis (Francini and Mannucci , 2007) . وقد ارتبط التعرض لدقائق الغبار مع أمراض القلب و أمراض الجهاز التنفسي (Lai et al., 2013) , و يؤدي التعرض على المدى القصير للدقائق الغبارية إلى إصابة الشريان التاجي وعدم انتظام ضربات القلب البطيني ونقص تروية عضلة القلب (Brook et al., 2004) .

إنّ التعرض للدقائق بقطر 10 مايكرون (PM10) يؤدي إلى زيادة معدلات أمراض القلب والانسداد الرئوي والالتهابات الرئوية (Brunekreef and Forsberg , 2005) كما ان التعرض لملوثات الهواء خصوصا الملوثات الناتجة من حركة المرور يؤدي إلى زيادة الإصابة بأمراض القلب و الأوعية الدموية (Simkhovich *et al.*, 2008) .

بين Gurgueira وجماعته (2002) أن التعرض على المدى القصير short-term لتراكيز الدقائق المحيطة Concentrated ambient particles (CAPS) يؤدي إلى زيادة ايجابية في المؤكسدات في القلب والرئة للجرذان ويرتبط مع حصول الوذمة في هذه الانسجة .

8-2 التعرض للدقائق على المدى الطويل :

ارتبط التعرض لدقائق الغبار على المدى الطويل (من 72 ساعة فما فوق) مع زيادة الوفيات الناتجة من أمراض القلب و الأوعية الدموية مثل مرض نقص تروية عضلة القلب و أمراض الجهاز التنفسي والسكتة الدماغية (Hoek *et al.*, 2013) . وهناك علاقة بين تلوث الهواء والسكتة الدماغية في الأشخاص الذين تبلغ أعمارهم 65 عام أو أكثر (Wellenius *et al.*, 2005) .

يؤدي التعرض للدقائق بقطر 2.5 مايكرون (pm2.5) على المدى الطويل إلى زيادة خطر أمراض الانسداد التجلطي الوريدي بسبب زيادة التجلطات الناتجة من زيادة نشاط الصفائح الدموية وتجمعها (Baccarelli *et al.*, 2008) .

هناك علاقة بين التعرض على المدى الطويل لدقائق الغبار و الآثار غير الصحية التراكمية مثل السرطان إلى جانب الوفيات الناتجة عن أمراض القلب والرئة (Pope *et al.*, 2009) .

إن استنشاق الدقائق بقطر 2.5 مايكرون (PM2.5) على المدى الطويل يزيد الوفيات الناتجة من سرطان الرئة والقلب (Cao *et al.*, 2011) . وهناك علاقة بين التعرض لمدة طويلة لملوثات الهواء المحيط و أمراض القلب و الأوعية الدموية و بالأخص أمراض الشريان التاجي (CHD) coronary heart disease (Brook *et al.*, 2010) . وقد ارتبط تلوث الهواء مع زيادة تجزئة الحمض النووي DNA في الحيوانات المنوية البشرية (Rubes *et al.*, 2005) .

9-2 علاقة دقائق الغبار بالإجهاد التأكسدي :

الإجهاد التأكسدي oxidative stress هو حالة عدم التوازن بين المؤكسدات oxidants ومضادات الاكسدة antioxidants لمصلحة المؤكسدات مما يسبب ضررًا في الأعضاء الحيوية

(Jurank and Bezek, 2005) . إذ تتولد الجذور الحرة بشكل مستمر في خلايا الجسم من تفاعلات السلسلة التنفسية أو عملية البلعمة لكنها تتوازن وبشكل طبيعي من خلال أيض مضادات الأكسدة الطبيعية, وتتفاعل الدقائق الغبارية الحاوية على المعادن الانتقالية و الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات مع سوائل بطانة الرئة وتحفز تفاعلات الأكسدة والاختزال التي تنتج أنواع الأوكسجين التفاعلية Reactive oxygen species ROS بضمنها جذر الهيدروكسيل (Donaldson *et al.*, 2005) .

إن مصدر هذه الدقائق ومكوناتها هو السبب في تولد الجذور الحرة الاوكسجينية (ROS) التي تنتج الالتهابات الرئوية (Simkhovich *et al.*, 2008) ويعتقد أن التعرض للدقائق يحفز الإجهاد التأكسدي والالتهابات الجهازية وزيادة تخثر الدم (Chuang *et al.*, 2007; Brook *et al.*, 2009). إذ يؤدي الإجهاد التأكسدي الناتج عن زيادة الحديد إلى نقصان الكلوتاثيون المختزل Reduced Glutathion (GSH) والذي بدوره يقلل من تركيز انزيم Glutathion peroxidase في الكبد والقلب (Cornejo *et al.*, 2005) .

إن الدقائق المتناهية الصغر(UFP) لها القدرة على إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية ROS وتسبب ضررًا في عضلة القلب واضطراب بطانة الأوعية الدموية (Wold *et al.*, 2006). وارتبط تولد الجذور الحرة الاوكسجينية (ROS) مع عدم انتظام ضربات القلب في المرضى الذين يخضعون إلى جراحة الشريان التاجي ويعتقد انه يشارك بالإصابة في فشل القلب وتصلب الشرايين وتغيرات في (HRV) (Rhoden *et al.*, 2005).

في دراسة سريرية شملت متطوعين من الأصحاء والمرضى الذين يعانون من داء السكري من النوع الثاني ، بينت أن هناك آلية ذات صلة بين الجذور الحرة الاوكسجينية (ROS) الناتجة عن التعرض للدقائق الغبارية ، واضطراب بطانة الأوعية الدموية للقلب (O'Neill *et al.*, 2005) .

إن زيادة تولد الجذور الحرة الاوكسجينية (ROS) لها علاقة بنخر عضلة القلب وخلل الأوعية الدموية والموت المبرمج للخلايا على الرغم من أن بعض هذه الآثار تمنع بواسطة اكتساح الجذور الحرة (Bhatangar, 2006) كما إن احتواء الدقائق بقطر 2.5مايكرون (PM2.5) على المعادن يكون مصدرًا مهمًا لتوليد الأكسدة الخلوية و الآثار غير الصحية الأخرى (Maciejczyk *et al.*, 2010) .

2- 10 تأثير المعادن النزرة والثقيلة الموجودة في الغبار على صحة الإنسان :

تدخل العناصر المعدنية إلى الغلاف الجوي عن طريق الأنشطة الصناعية وتعرية الرياح وحرائق الغابات والدقائق المعدنية أكثر خطورة من المكونات الأخرى للدقائق الغبارية (Konkel, 2009). التعرض لدقائق الغبار الحاقية على العناصر المعدنية يولد جذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) التي تسبب الالتهابات و إصابة الشعب الهوائية وبداية الضرر للجهاز التنفسي (Maciejczy and Chen , 2005).

توجد علاقة بين التعرض للمعادن الانتقالية والتغيرات اللاإرادية للقلب و الأوعية الدموية في الفئران (Lippmann *et al.*, 2006). فدخل هذه الدقائق المعدنية واتصالها مع الخلايا يؤدي إلى توليد ايونات المعادن (Midander *et al.*, 2007).

إن الأشكال الأيونية للمعادن تؤثر على الخلايا و الأعضاء إلى جانب ترسبها في الرئة والشعب الهوائية (Lippmann, 2010). وهذه المعادن نوعان : أساسية Essential metals تكون مديات تراكيزها المثالية للنمو والتكاثر ضيقة ومنها النحاس والحديد والزنك والنيكل و المنغنيز وهي مكونات طبيعية للجسم عند التراكيز الضئيلة أو النادرة (Sikorska and wolnicki, 2006).

و غير أساسية Non-essential metals و هي العناصر التي تكون سامة لجميع الكائنات الحية حتى و إن وجدت بتراكيز واطئة و تشمل الزئبق والرصاص و الكاديوم وليس لها دور في نمو الكائن الحي و تكاثره (Javed and Mahmood, 2001).

إن هذه المعادن يمكن أن تساهم في الآثار المحفزة للتخثر بعد تعرض الإنسان لدقائق الهواء الملوث (Sangani *et al.*, 2010). المعادن الانتقالية مثل الحديد والنيكل والنحاس والزنك تكون سامة على أساس قدرتها على دعم التبادل الإلكتروني وتحفز توليد جذور الأوكسجين التفاعلية مثل جذر الهيدروكسيل ويعتقد أن تشارك في أشكال مختلفة من إصابة الرئة وتعد سامة للجينات و مسرطنة (Knaapen *et al.*, 2004; Chi-Chen and Lippmann, 2009).

أظهر الحديد والنيكل مشاركتها في السمية المناعية بتقليل إزالة البكتيريا من الرئتين في الجرذان المصابة مما يدل على إن المعادن المحيطة المستنشقة يمكن أن تؤدي إلى زيادة الإصابة الرئوية (Zelikoff *et al.*, 2002), يعد الكاديوم و المنغنيز من أكثر المعادن سمية إذ ترسب داخل الغشاء المخاطي للأنف وتنتقل إلى الدماغ وتسبب السمية العصبية ، إذ عثر على المنغنيز في المناطق الغنية بالدوبامين في الدماغ (Bondier *et al.*, 2008; Antonini, 2010).

خلفت حرائق الغابات في سنغافورة زيادة ملحوظة في تركيز الزنك والحديد والنحاس ونتيجة لذلك زادت التهابات الجهاز التنفسي وحالات الربو (Karthikeyan *et al.*, 2006). إن

استنشاق الدقائق التي قطرها 2.5 مايكرون والحاوية على النيكل تسبب تغيرات في معدل ضربات القلب و التأثير على نخاع العظم والخلايا البطانية والحث على الإصابة بتصلب الشرايين في الفئران (Ying *et al.*, 2013). و كذلك في البيانات الوبائية المتعلقة بالتعرض للدقائق الغبارية في الإنسان (Miller *et al.*, 2007; O'Toole *et al.*, 2010). إن وجود الزنك ضمن مكونات الدقائق (PM) يمكن أن يصل إلى القلب بتركيز عالية بعد ترسبه وامتصاصه في خلايا الأوعية الدموية (Wallenborn *et al.*, 2007).

استنشاق تراكيز الدقائق المحيطة (CAPS) والحاوية على المنغنيز , والحديد , والنحاس, والزنك يُنتج زيادة ايجابية في الإجهاد التأكسدي في الرئة والقلب (Gurgueira *et al.*, 2002).

11-2 الجهاز التنفسي :

الجهاز التنفسي هو البوابة لـ(15,000) لتر من الهواء يوميا , إذ يدخل عن طريق الأنف ليصل إلى شبكة دقيقة التنظيم من النسيج الحشوي(parenchyma) للرئة , في هذا الموقع ينتشر الأوكسجين في الخلايا الرئوية ليصل الى الهيموغلوبين في كريات الدم الحمراء (Fortoul *et al* , 2010), إذ يبطن الأنف نسيج ظهاري وصولا إلى الحويصلات الهوائية ويتكون هذا النسيج من مجموعة من الخلايا ذات وظائف متخصصة. وتقع الغدد المخاطية والمصلية في الطبقة تحت المخاطية للقصبات وتحرر افرازاتها الى السطح الخارجي للخلايا الظهارية (Davis and Dicker, 2008) المخاط الذي تنتجه الخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطية مهم لأنه ينظم اللزوجة ودرجة الحموضة (Rose and Voynow, 2006). فالهواء الذي يدخل عن طريق الأنف يصبح رطبًا وصافيًا للوصول إلى الحويصلات الهوائية لنشر الأوكسجين. وان أي تغيير في التكوين والوظيفة لمكونات النسيج الظهاري سوف يكون مرتبطاً مع مجموعة متنوعة من الأمراض التي ترتبط بالتعرض لملوثات الهواء (Mussali-Galante and Fortoul , 2008)

12-2 التعرض لدقائق الغبار و أمراض الجهاز التنفسي :

توجد علاقة عكسية بين وظيفة الرئة وتركيز ملوثات الهواء,فالدقائق المتناهية الصغر التي تخترق أعماق جزء في الرئة وتسبب إصابة النسيج الظهاري للاسناخ ترتبط مع استجابة الالتهابات الحادة وضرر الرئة التراكمي (Lai *et al.*, 2011). وهذه العلاقة العكسية يمكن أن تكون ذات صلة مع التغيرات التركيبية للشعب الهوائية (Flouris *et al.*, 2009).
دقائق PM10 والأصغر منها يمكنها أن تدخل الرئتين بمجرد استنشاقها وتؤثر على القلب والرئتين وتخترق الخلايا وتسبب آثارًا غير صحية خطيرة (Oller and Oberdorster,

(2010) . الدقائق المتناهية الصغر بالمقارنة مع PM10 و PM2.5 يمكن أن تحمل مواد سامة مثل المعادن , لقدرتها على الدخول بعمق في الرئة والحوصلات الهوائية بسبب حجمها الصغير مما يؤدي إلى ترسبها في الرئة ، وإثارة الالتهابات الجهازية (Bathnagar, 2006 ; Schwarze *et al.*, 2006) وان استنشاق الدقائق يحفز العدلات والخلايا البلعمية والخلايا اللمفاوية نتيجة للاستجابة للالتهابات الجهازية في الجرذان (Upadhyay *et al.*,2008) . بين Chuang وجماعته (2007). في دراسته التي أجريت على 76 من الشباب الأصحاء في تايوان أن تلوث الهواء المحيط يؤدي إلى إثارة الالتهابات الجهازية والإجهاد التأكسدي وتخرن الدم وخلل في سيطرة الأعصاب اللاإرادية . وفي دراسة Rückerl (2007). التي أجريت في مدينة اوغسبورغ بين أن PM2.5 تحت الالتهابات الرئوية و الإجهاد التأكسدي . واستنشاق الدقائق الغبارية يثير استجابة الالتهابات في الرئتين وتسبب تحرير الساييتوكينات الالتهابية في الدورة الدموية والتخرن الذي يمكن أن يؤدي إلى عدم استقرار الترسبات الدهنية في جدران الشرايين (Evans *et al.*,2006).

وقد ارتبط التعرض اليومي لتراكيز ملوثات الهواء مع الربو والانفلونزا وذات الرئة (Hwang *et al.*,2011). فالدقائق المتناهية الصغر (UFP) والتي قطرها اقل من 0.1 مايكرون مسؤولة عن الآثار السلبية للجهاز التنفسي وترتبط بقوة مع انخفاض وظائف الرئة في المرضى المصابين بالربو (Mccreanor *et al.*,2007). أن تأثير التعرض للدقائق التي قطرها 2.5 مايكرون من الولادة يؤدي إلى زيادة خطر الربو في عمر السابعة (Carlsten *et al.*,2011).

إذ لاحظ Akinbami وجماعته (2010) وجود علاقة ايجابية بين زيادة المتوسط السنوي للدقائق التي قطرها 2.5 مايكرون والإصابة بمرض الربو في الأطفال بسن (3-17 عام) في الولايات المتحدة .

يوجد ارتباط وثيق بين التعرض (PM2.5 و pm10 و NO₂) وزيادة الإصابة بمرض الانسداد الرئوي المزمن (Atkinson *et al.*,2014) . ويؤدي تلوث الهواء إلى زيادة الالتهابات و تغيرات في بعض مؤشرات الدم والتخرن في المرضى الذين يعانون من الانسداد الرئوي المزمن (Hildebrand *et al.*,2009).

التعرض المزمن للدقائق المتناهية الصغر (UFP) ينتج آثارا ضارة للرئة مثل الالتهابات و الإجهاد التأكسدي و التأثير على الشعب الهوائية في المرضى المصابين بالانسداد الرئوي المزمن(Terzano *et al.*, 2010).. فاستنشاق الدقائق الغبارية قد يسبب الالتهاب الرئوي وزيادة

العدلات وتنشيط الخلايا البلعمية المرتبطة مع استجابة الالتهابات الجهازية واضطراب وظيفة بطانة الأوعية الدموية وتنشيط تخثر الدم (Schulz *et al.*, 2005; André *et al.*, 2006) العديد من الآثار السلبية على الصحة تعزى إلى الدقائق المتناهية الصغر (UFP) هذه الدقائق لا يتم تصفيتها في الأنف و القصيبات , و حجمها يسمح لها أن تترسب بعمق في الرئتين , إذ تكون قادرة على اختراق النسيج الظهاري للحويصلات الرئوية والدخول إلى الأوعية الدموية ليتم امتصاصها مباشرة إلى المجرى الدموي, و بمجرد وصولها إلى المجرى الدموي يمكن أن تترسب في الكبد والطحال والكلى والقلب والدماغ وتسبب الضرر الناتج عن مسارات الإجهاد التأكسدي (Peters *et al.*, 2006) .

إن التليف الرئوي Pulmonary fibrosis هو النتيجة النهائية لمجموعة متنوعة من أمراض الرئة . وعلى الرغم من وجود عدة عوامل للإصابة بالتليف الرئوي , بما في ذلك السموم والدقائق, و تفاعلات المناعة الذاتية , والمخدرات , و الإشعاع .ولكن التأثيرات الضارة للتلوث البيئي على الجهاز التنفسي لا يمكن إنكارها .فاحتراق الوقود و مشتقاته هو السبب الرئيس لانبعاث الملوثات والتي تؤدي بالنتيجة إلى التليف الرئوي (Zuubier *et al.*, 2011) . وهناك مجموعة متنوعة من المحفزات البيئية للتليف مثل الغبار المعدني, دخان السجائر والمخدرات والعوامل المعدية (Araya and Nishimura , 2010). الإجهاد التأكسدي الناتج عن نشاط الخلايا البلعمية macrophage يزيد من استجابة الرئة للتليف (Datta *et al.*, 2011). وتعتمد درجة التليف على استجابة كل فرد حتى في حالة التعرض المماثل ,وان مجموعة العوامل الوراثية تؤثر على استجابة الفرد للتليف الرئوي (Westergren-Thorsson *et al.*, 2010).

13-2 التعرض لدقائق الغبار وأمراض الجهاز القلبي :

يحتوي الهواء المحيط على مجموعة من الملوثات وخاصة الدقائق الأقل من 10 مايكرون (PM10) و آثارها السلبية التي ترتبط مع الزيادة الملحوظة في معدلات أمراض القلب و الأوعية الدموية والوفيات الناتجة عن نقص تروية عضلة القلب و عدم انتظام ضربات القلب (Mann *et al.*, 2002). إن التعرض لدقائق الغبار قد يكون له تأثير سلبي على السيطرة العصبية اللاإرادية للقلب , مما يؤدي إلى زيادة خطر عدم انتظام ضربات القلب (Routledge and Ayres, 2005) إذ بينت دراسة أخرى وجود علاقة بين التغيرات في معدل ضربات القلب والتعرض لدقائق الغبار في الفئران (Chen and Hwang, 2005) .

استنشاق الدقائق الغبارية يؤدي إلى تغيرات في معدل النبض القلبي وتقليص سيطرة عصب vagal في القلب (Routledge *et al.*, 2006 ; Min *et al.*, 2008) وانخفاض سيطرة العصب اللاإرادي (Corey *et al.*, 2006) parasymphetic . إن التعرض اليومي للدقائق بقطر (2.5) مايكرون يؤدي الى زيادة ضغط الدم وتغيير معدل النبض القلبي (HRV) في الأشخاص المصابين بالسكري و أمراض القلب . (Dvonch *et al.*, 2009; Laumbach *et al.*, 2010; Deng *et al.*, 2013) . ويؤدي أيضا إلى زيادة الأطوال الموجية لمخطط القلب الكهربائي وعدم انتظام ضربات القلب (Burri *et al.*, 2006) فاستنشاق الدقائق الغبارية الناعمه على المدى القصير يمكن أن يؤدي إلى ارتفاع ضغط الدم بشكل حاد (Mccracken *et al.*, 2007) . التعرض لمدة طويلة للدقائق التي قطرها 2.5 مايكرون (PM 2.5) يؤدي إلى زيادة كبيرة في مخاطر إصابة الشرايين التاجية والدماغية نتيجة الزيادة في ضغط الدم الانقباضي (Panagiotakos *et al.*, 2005) وارتبط التعرض لملوثات الهواء المتعلقة بحركة المرور مع ارتفاع ضغط الدم الانقباضي والانبساطي (Sughis *et al.*, 2012). وفي دراسة أجريت في ولاية ميشيغان بينت وجود علاقة بين ارتفاع ضغط الدم الانقباضي وزيادة التعرض لـPM2.5 (Dvonch *et al.*, 2009) توجد علاقة بين تلوث الهواء والتعرض للتخثر الوريدي إذ ارتبط التعرض لدقائق الغبار مع زيادة لزوجة البلازما, والخلل في وظيفة بطانة الأوعية الدموية (Shih *et al.*, 2011) . وقد تبين أن تلوث الهواء ارتبط مع تغيرات في التخثر وفرط التجلط بعد التعرض قصير المدى فالالتهابات الأولية وعدم توازن انحلال الفيبرين و الخثرات الصغيرة تقود في نهاية المطاف إلى انسداد الشرايين و احتشاء عضلة القلب (Baccarelli *et al.*, 2007) . يزيد استنشاق PM10 خطر تخثر الأوردة العميقة , في دراسة شملت 870 مريضاً و1210 من الأصحاء في ايطاليا بين عامي 1995 و2005 والنتيجة أن التعرض لمدة طويلة لدقائق الغبار يؤدي إلى تغيرات في تخثر الدم (Baccarelli *et al.*, 2008) .

يحث استنشاق الدقائق المتناهية الصغر (UFP) تصلب الشرايين عبر مسارات مختلفة تؤدي إلى الإجهاد التأكسدي والالتهابات في الرئتين وتشجيع الانجذاب الكيميائي لوحيدات النواة في جدار الوعاء الدموي وزيادة الاختلال الوظيفي للبروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL) (Araujo and Nel, 2009). إن الدقائق المستنشقة تعمل على إثارة الالتهابات الرئوية التي تساعد على زيادة التخثر والساييتوكينات الالتهابية , فالدقائق المتناهية الصغر يمكنها دخول الدورة الدموية و التأثير على سلامة القلب و الأوعية الدموية (Tan *et al.*, 2009) قدرة هذه الدقائق

على عبور حاجز الدم في الرئة وتشكيل مجاميع في الدورة الدموية يضاعف تصلب الشرايين و التخرثر و الآثار السلبية على القلب والأوعية الدموية (Araujo *et al.*, 2008) كما تسبب الدقائق بقطر 2.5 مايكرون (PM 2.5) تغيرات في التعبير الجيني لكريات الدم البيض (Kodavanti *et al.*, 2006) و إن التعرض لملوثات الهواء يؤدي إلى خلل في الأوعية الدموية وهي إحدى الآليات التي تزيد من خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية خاصة في الأشخاص الذين يعانون من الالتهابات الجهازية وزيادة الوزن (*et al.*, Huang 2012).

أجريت دراسة لمعرفة دور الملوثات المتعلقة بحركة المرور والتعرض طويل الأمد للدقائق (PM2.5) وكانت النتيجة زيادة 10.2% في تكلس الشريان التاجي في الأشخاص المقيمين قرب الطرق الرئيسية (Hoffmann *et al.*, 2007).

استنشاق (PM2.5) يحث الالتهابات في الأوعية الدموية وتصلب الشرايين من خلال زيادة توليد أنواع الأوكسجين التفاعلية وتسلسل الخلايا البلعمية (Sun *et al.*, 2008). زيادة تولد الجذور الحرة الاوكسجينية (ROS) يؤدي إلى زيادة الإجهاد التأكسدي واستنزاف مضادات الأكسدة مسببا موت الخلية والاحداث البايولوجية مثل تصلب الشرايين وإصابات نقص الأوكسجين وإعادة الترويه وأمراض القلب والأوعية الدموية والالتهابات (Chen & Nadziejko, 2005) توجد علاقة ايجابية بين ملوثات الهواء خصوصا الناتجة عن حركة المرور و احتشاء عضلة القلب الحاد (Lanki *et al.*, 2006). فالترروبونين الموجود في أنسجة القلب cardiac troponin يملك تسلسل أحماض امينية مختلفًا عن تلك التي توجد في ترروبونين العضلات الهيكلية . وهذا يجعل (TnI & TnT) أكثر تحديدا لتشخيص إصابة العضلة القلبية إذ ينكسر هذا المعقد بعد ضرر العضلة القلبية ويتم تحرير مكونات البروتين الفردية في مجرى الدم حيث يظهر في مصل الدم في وقت مبكر (3-4 ساعة) بعد النوبة الحادة وتبقى مرتفعة لمدة (4-14 يوم) (Kumar and Cannon, 2009)

يقع معقد التروبونين فقط في الخيوط الرقيقة من الخلية العضلية وهي تسيطر على تقلص العضلات بواسطة تنظيم الكالسيوم المعتمد على التفاعل بين المايوسين والاكتين (Guyton and Hall, 2006) , وان زيادة تركيز بروتين C (CRP) في الدم نتيجة التعرض الحاد لملوثات الهواء يعد مؤشرًا على احتشاء عضلة القلب (Peters *et al.*, 2007). وفي دراسته أجريت على تلوث الهواء في مدينة بوسطن وجد ارتباط بين زيادة PM2.5 وخطر دخول المستشفى لاحتشاء العضلة القلبية (Zanobetti and Schwartz, 2006). وتؤدي زيادة الدقائق التي قطرها 10

مايكرون إلى زيادة خطر متلازمة الشريان التاجي الحاد (الذبحة الصدرية غير المستقرة واحتشاء عضلة القلب) (Pope *et al.*, 2006) .

الفصل الثالث

المواد و طرائق العمل

MATERIALS &

METHODS

المواد وطرائق العمل

Materials and Methodes

الأجهزة والمواد الكيميائية التي تم استخدامها في الدراسة الحالية يمكن تلخيصها بالجدولين (1-3) و(2-3) في أدناه :

جدول (1-3) الأجهزة والأدوات المستخدمة حسب المنشأ والشركة

ت	أسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	أنابيب بلاستيك Plastic Tubes	Lab – Tech	كوري
2	انابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر EDTA	Gold star	اردني
3	انابيب شعرية Capillary tubes	Mheco	الصينية
4	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Lab – Tech	كوري
5	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	Apple 303	ياباني
6	جهاز المطياف الذري Atomic absorption Spectrophotometer	PG-990	انكليزي
7	جهاز الحمام المائي Water Path	Lab – Tech	كوري
8	جهاز التقطيع النسيجي Microtome	Histo – line	ايطالي
9	جهاز الفلورة X-Ray Fluorescence	EDX Pocket III	ياباني
10	جهاز حيود الاشعة السينية X-Ray Diffraction	Shimadzu	ياباني
11	جهاز التخطيط الكهربائي Electrocardiograph	Marquette cardio serv	ألماني
12	جهاز عد كريات الدم Hemocytometer	Superoior	ألماني
13	جهاز Humacount	Human	ألماني
14	جار تصيبغ زجاجي Staining Jar	Harshman	ألماني
15	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex	Volac	انكلترا
16	سلة جار تصيبغ Basket Staining Jar	Harshman	ألماني
17	سلايدات SLIDES	China mheco	صيني
18	صفيحة ساخنة Hot Plate	Lab – Tech	كوري
19	عدة تشريح Dissecting set	Pakistan	S.I.E
20	مجهر ضوئي مركب Compound Light Microscope	Human	ألماني
21	مجهر ضوئي مع كاميرا Light Microscope with Camera	Meiji	ياباني

ابيطالي	Roma	vortex مازج	22
سوري	شركة المحاقن الطبية	Syringes محاقن طبية	23
كندا	Bio Basic	Micropipette ماصة	24

جدول (2-3) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة .

المنشأ	الشركة	أسم العدة	ت
الانكليزية	BDH	أوكسيد الزئبق الاحمر (Red Mercuric oxide)	1
الهندية	Thomas Baker	حامض البكريك المائي المشبع (Saturated Aqueous picric Acid)	2
الالمانية	Scharlau	حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic Acid)	3
	Firak	حامض الهيدروكلوريك (Hcl)	4
	Fluka	حامض النتريك (HNO ₃)	5
الالمانية	Scharlau	زايلين (Xylene)	6
الالمانية	Mark	شب البوتاسيوم	7
الابيطالية	Histo – line	شمع البرافين (Paraffin wax)	8
الانكليزية	BDH	C ₂₀ H ₆ Br ₄ Na ₂ O ₆ (Eosin) صبغة الأيوسين	9
الانكليزية	BDH	(Hematoxylin) صبغة الهيماتوكسلين	10
البريطانية	Randox	عدة قياس الكلوکوز Glucose	11
الصينية	Hangzhou	عدة قياس التروبونين Troponin	12
الانكليزية	BDH	فورمالين مختبري (Formalin) تركيز (40%)	13
الالمانية	Scharlau	فوكسين قاعدي (Basic fuchian)	14
الالمانية	Scharlau	كحول أيثانول مطلق (99%)	15
	محلي الصنع	كحول ايثانول صناعي (96%)	16
الاسبانية	Scharlau	كلوروفورم	17
الهندية	Thomas Baker	محلول التخميل (D.P.X)	18

3-1 حيوانات التجربة :

أجريت هذه الدراسة للمدة من كانون الثاني 2014 إلى كانون الثاني 2015 حيث استخدم في هذه التجربة 15 ذكر من الجرذان البيض ، تراوحت أعمارها بين (5-6) أشهر ، و أوزانها بين (250-300) غرام ، تم جلبها من مختبر كلية الصيدلة - جامعة كربلاء ، و وضعت في أقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع لكلية التربية - جامعة كربلاء، وتمت تغذيتها بعليقة من البلت المركز المتكون من (10% بروتين ، و 20% فول الصويا ، و 35% طحين حنطة ، و 35% ذرة ، إضافة الى الفيتامينات والمعادن 1ملغم/كغم) ، واعتمدت الإضاءة الطبيعية طول مدة الدراسة وبواقع 10 ساعات ضوء و14 ساعة ظلام ، وتركت الحيوانات للتأقلم لمدة أسبوعين .

3.2 تصميم التجربة :

قسّم خمسة عشر ذكرًا من الجرذان البيض عشوائيا وبصورة متساوية إلى ثلاث مجاميع (خمسة لكل مجموعة) طيلة التجربة :

- 1- مجموعة السيطرة G1 لم تعرض للغبار طيلة مدة التجربة .
- 2- تضمنت المجموعة G2 عرضت للغبار لمدة 5 دقائق يوميا ولمدة 30 يوما
- 3- المجموعة الثالثة G3 عرضت للغبار لمدة 5 دقائق يوميا ولمدة 60 يوما ، تم التضحية بالحيوانات بعد انتهاء التجربة .

3-3 طريقة تعريض الحيوانات للغبار:

صنع صندوق زجاجي (بيئة اصطناعية لإحداث التلوث بالغبار) بطول 45 سم وعرض 45 سم وارتفاع 50 سم ، والصندوق مزود بغطاء وفتحتين جانبيتين بقطر 2 سم ، واحدة لغرض دخول الهواء و الأخرى لغرض التهوية ؛ لضمان تعريض حيوانات التجربة بشكل مباشر للغبار، و تم أخذ كميات من الغبار بشكل عشوائي في كل مرة تعريض و وضعت داخل قنينة بلاستيكية مثقبة ومعلقة بفتحة دخول الهواء الموجودة في الصندوق و باستخدام منفاخ هوائي تم دفع الغبار مع الهواء داخل الصندوق بشكل دفعات منقطعة لتعريض جميع الحيوانات لنفس العامل

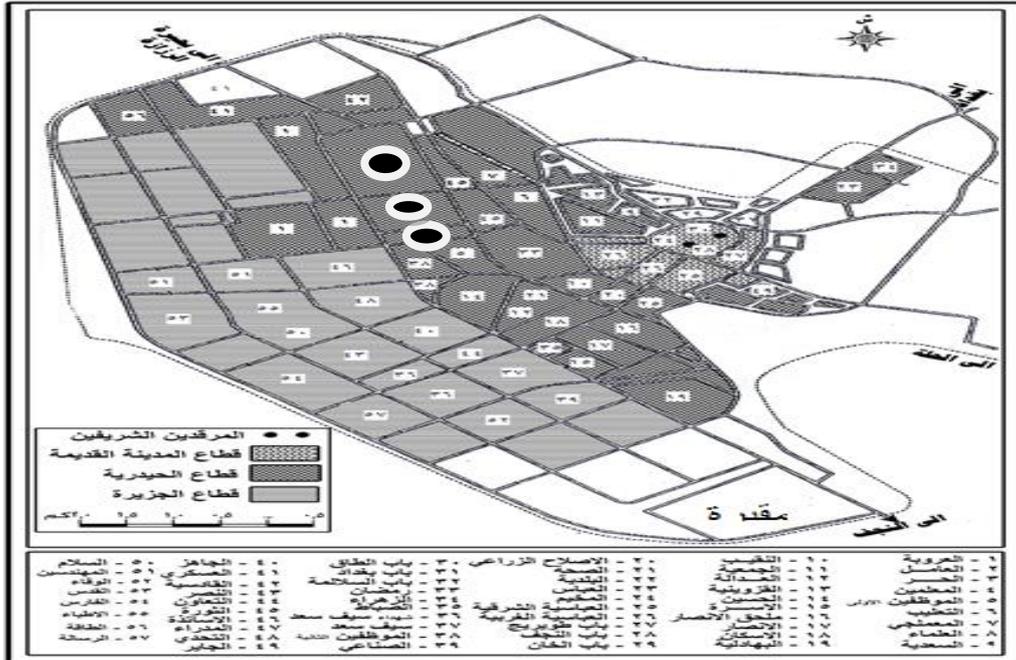
وبدرجات متماثلة داخل الصندوق ولمدة (5) دقائق يوميا لمدتين مختلفتين 30 يوم و60 يوم حسب طريقة (علي, 2008).



شكل (1-3) الصندوق المستخدم لتعريض الحيوانات للغبار .

4-3 جمع عينات الغبار:

جمعت عينات من غبار الأرصفة المتراكم بمقدار 2 كيلو غرام باستخدام أكياس ورقية كبيرة ، و تم الجمع من مقدمة كل شارع ووسطه والجزء الأخير منه ومن كلا الجانبين من نقاط عشوائية لكل منطقة ، إذ تم الجمع من عدة شوارع خدمية وسكنية اختيرت عشوائيا ضمن القسم الثالث للقطاع البلدي الثاني في محافظة كربلاء والذي يتضمن (حي العامل وحي الحر وحي المعلمين) . ثم نقلت العينات إلى المختبر تمهيدا لفحصها , (السلطان وآخرون, 2012) .



شكل (2-3) خارطة مدينة كربلاء تبين مواقع الدراسة . والمؤشرة بالشكل (●)

3-5 تقدير نسبة المعادن الثقيلة في الغبار :**3-5-1 القياس باستخدام جهاز المطياف الذري :**

تم القياس حسب طريقة (Ehi-Eromosele *et al.*, 2012). وذلك بأخذ (1 غم) من الغبار في قنينة حجمية سعة (50 مل) ثم يضاف إليه (12 مل) من حامض الهيدروكلوريك و حامض النتريك بنسبة 3:1، وتم تسخينه على صفيحة ساخنة hot pleat لمدة ساعتين ثم يرشح باستخدام ورق ترشيح whatman و اكمل الراشح إلى (50 مل) من الماء المقطر ثم تقاس الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الذري (Flame Atomic Absorption Spectrophotometer) نوع PG-990 انكليزي الصنع للكشف عن العناصر الثقيلة في عينات الغبار وحسبت التراكيز النهائية بوحدات جزء لكل مليون جزء (ppm) .

3-5-2 القياس باستخدام جهاز الفلورة :

تم قياس نسب المعادن الثقيلة في الغبار بوحدات جزء لكل مليون جزء (ppm) باستخدام جهاز X-Ray Fluorescence والمصنع من قبل شركة EDX POCKET III اليابانية .

3-6 قياس الحجم الحبيبي لذرات الغبار :

تم قياس الحجم الحبيبي لذرات الغبار باستخدام جهاز حيود الاشعة السينية X-Ray Diffraction والمصنع من قبل شركة Shimadzu اليابانية .

3-7 جمع عينات الدم :

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل , إذ تم تخدير الحيوانات بالكلوروفوم و جمع (5-6) مل من الدم لكل حيوان من القلب مباشرة بطريقة طعنة القلب Heart Puncture. سحبت نماذج الدم من الحيوانات باستخدام محاقن طبية ذات سعة 5 مل، ثم وُضع 3 مل منه في أنابيب زجاجية حاوية على مادة مانعة للتخثر EDTA ووضع 3 مل في أنابيب بلاستيكية خالية من مانع التخثر لفصل مصل الدم في جهاز النبذ المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق، وحفظ في حالة التجميد عند درجة حرارة -4°م لغرض إجراء الاختبارات الكيموحيوية عليه والتي شملت : الكلوكوز، والتروبونين ، والمعادن الثقيلة بالمصل، ومعايير الإجهاد التأكسدي GSH وMDA وONOO⁻.

8-3 قياس المعايير الدمية :**1-8-3 تقدير أعداد كريات الدم الحمر (RBC):**

خفف الدم بمحلول Formal citrate المتكون من 1% فورمالين في 38 غم /لتر من ثلاثي سترات الصوديوم Tri-sodium citrate و يتم ذلك بإضافة 20 مايكروليتر من الدم الى 0.4 سم³ من محلول Formal citrate ثم يحرك الدم المخفف بتحريك الأنبوب تحريكاً ميكانيكياً, بعد ذلك يُملأ جهاز العد counting chamber بالدم المخفف باستخدام Pasteur pipette ثم يفحص بالعدسة العينية تحت قوة 40X باستخدام المجهر الضوئي (Dacie and Lewis.1995).

2-8-3 تقدير معدل حجم مكداس الدم (PCV):

تم تحديد النسبة المئوية لحجم كريات الدم المضغوطة الى الحجم الكلي , باستخدام انابيب شعرية زجاجية مفتوحة الطرفين Capillary hematocrite tube غير حاوية على مادة مانعة للتخثر, إذ تم ملء ثلثي الأنبوب الشعري بالدم الموضوع في انابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر (EDTA) و اغلقت احدى نهايات الأنبوب الشعري بمادة خاتمة ثم وضعت هذه الأنابيب في جهاز الطرد المركزي الخاص بها Micro-Hematocrite centerfuge لمدة 5 دقائق بسرعة 5000 دورة /دقيقة على ان يكون الطرف المفتوح الى الداخل , بعد ذلك يقرأ الأنبوب الشعري في مقراء الراسب الدموي Hematocrit reader الذي يمثل النسبة المئوية لحجم كريات الدم المضغوطة. (Hillman and Ault,2002).

3-8-3 قياس معدل تركيز الهيموكلوبين (Hb):

تم تقدير كمية الهيموغلوبين بقسمة حجم خلايا الدم المضغوطة على 3.3 ؛ و ذلك لأن الهيموغلوبين يمثل 1\3 حجم كرية الدم الحمراء وحسب القانون التالي : (Rodac.2002)

$$Hb = \frac{pcv (value)}{3.3} = 100 \quad g/ml$$

3-8-4 تقدير نسبة مؤشرات كريات الدم الحمر :

3-8-4-1 حساب معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV

يحسب كالآتي :

$$MCV = \frac{pcv\%}{RBC \times 10^6} \times 100 \quad fl(\text{femtoliter})$$

3-8-4-2 حساب معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCH

يحسب كالآتي :

$$MCH = \frac{Hb}{RBC \times 10^6} \times 10 \quad pg$$

3-8-4-3 حساب معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCHC

يحسب كالآتي :

$$MCHC = \frac{Hb}{pcv} \times 100 \quad g/dl$$

(Dacie and Lewis, 1995)

3-8-5 تعداد الصفائح الدموية :

تم القياس حسب طريقة (Becton-Dickinson, 1996) وذلك بإضافة 2 مل من 1% اوكسالات الامونيوم في انبوبة اختبار ثم اضافة 0.02 من عينة الدم وتمزج محتويات الانبوبة جيداً وتترك لمدة 3-5 دقائق , وبعد تحضير معداد الكريات Chamber تملأ حجيرة العد بالعينة المخففة وتترك لمدة 3 دقائق حتى تستقر العينة ثم نقوم بحساب عدد الصفائح الدموية في خمسة مربعات باستخدام العدسة الشبكية 40x للمجهر ووفق المعادلة :

$$\text{عدد الصفائح الدموية} = \frac{\text{العدد المحسوب من الصفائح الدموية} \times \text{معامل التخفيف}}{\text{المساحة المعدودة} \times \text{عمق المربع}}$$

المساحة المعدودة × عمق المربع

معامل التخفيف = 100

المساحة المعدودة = 2mm²

عمق المربع = 0.1mm

3-8-6 العد الكلي لخلايا الدم البيض (WBC) :

تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض وذلك باستخدام شريحة عد الكريات Haemocytometer من نوع Improved Neubauer ومحلول ترك (Turks) يتكون من 2% حامض الخليك وصبغة المثيل البنفسجية وتم تخفيف العينة بنسبة 1:20 سم³ وذلك بإضافة 20 مايكروليتر من الدم الى 0.4 سم³ من محلول التخفيف الموجود داخل انبوب زجاجي نظيف وجاف و أغلقت فوهته بغطاء بلاستيكي , ومزج بشكل جيد لمدة دقيقة وترك لمدة 5 دقائق لإكمال تحلل كريات الدم الحمر و اصطبغ انوية خلايا الدم البيض ثم وضعت قطرة من عينة الدم المخفف على شريحة العد وحسب عدد الخلايا البيض من أربعة مربعات كبيرة ذات حجم 0.1x1 ملم باستخدام المجهر الضوئي بقوة تكبير 40x ثم حسب العدد الكلي لخلايا الدم البيض من 1سم³ حسب المعادلة الآتية :

$$\text{العدد الكلي لخلايا الدم البيض} = 200 \times n$$

العدد الكلي في أربع مربعات كبيرة = n

(Dacie and Lewis, 1995).

3-8-7 العد التفريقي لخلايا الدم البيضاء :

أجري العد التفريقي لخلايا الدم البيضاء وذلك باستخدام جهاز Humacount المصنع من شركة Human الألمانية وذلك بوضع عينة الدم داخل الجهاز ثم قراءة النتائج .

3-9-3 قياس المعايير الكيموحيوية :**3-9-1 تقدير تركيز الكلوكوز في مصل الدم :**

تم قياس تركيز الكلوكوز في مصل الدم باستخدام الطريقة الأنزيمية Enzymatic method (Trinder, 1969) إذ تضمنت استخدام عدة التحليل (Kit) والمصنعة من قبل شركة (BioSystem) الإسبانية .

المبدأ

تتم في هذه الطريقة أكسدة مجموعة الالدهايد الموجودة في جزئية الكلوكوز بواسطة أنزيم كلوكوز اوكسيديز، الذي يعطي حامض الكلوكونيك وبيروكسيد الهيدروجين ويكون بيروكسيد الهيدروجين الناتج من التفاعل وتحت تحفيز أنزيم البيروكسيديز مع الفينول و4 امينوأنثيايبرين صبغة الكوينون ايمين ذات اللون الوردي ووفقاً للمعادلات الآتية:



طريقة العمل :

جدول (3-3) المحاليل التي تم تحضيرها لقياس نسبة السكر وكما يأتي:

المحلل الكفئ	المحلل القياسي	العينة	المحاليل
--	10 μ l	--	المحلل القياسي
--	--	10 μ l	العينة
1 ml	1 ml	1 ml	كاشف العمل

تمزج الأنابيب جيداً ثم تترك لمدة (5) دقائق عند درجة حرارة 37 مفي الحاضنة Incubator أو (10) دقائق عند درجة حرارة (16-25م) ثم تقرأ الامتصاصية الضوئية باستخدام جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer عند طول موجي 500 نانوميتر.

الحسابات :

حساب تركيز الكلوكوز يتم من خلال المعادلة التالية:

$$\text{Glucose concentration (mg/dl)} = \frac{A \text{ sample}}{A \text{ standard}} \times n$$

إذ إنَّ n = 100 وهو تركيز المحلول القياسي .

Sample = الامتصاصية الضوئية للعينة .

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلل القياسي .

3-9-2 تقدير التروبونين في مصل الدم :

يعد هذا الاختبار من الاختبارات المناعية الكروموغرافية

Asolid-phase chromatographic immune assay يستخدم في تقدير تركيز Troponin لعينات مأخوذة من الدم أو البلازما أو المصل لتشخيص مرض احتشاء العضلة القلبية . وقد استعملنا المصل في هذه الدراسة .

مبدأ العمل Principle of Method :

يعتمد هذا الاختبار على التفاعل الذي يحدث بين المؤشرات الكيموحياتية القلبية (Troponin) الموجودة في مصل العينة و الاجسام المضادة لها في Reagents لتكون روابط معقدة تهاجر على طول مساحة شريحة الاختبار (Specific antibody-dye conjugates).

طريقة العمل procedure:

- 1- جهزت الشريحة ويفضل استعمال شريحة جديدة لكل عينة من المصل و لا نستعمل الشريحة إذا كانت فاسدة أو انتهت مدة استعمالها .
- 2- إذا كانت عينات المصل مجمدة يجب تركها لتصل إلى درجة حرارة الغرفة ثم استعمالها للاختبار.
- 3- أضيف $150\mu/L$ من مصل العينة على شريحة الاختبار .
- 4- قرأت النتائج خلال ربع ساعة إذ تظهر النتيجة على شكل حزمة وردية اللون على شريحة الاختبار وتكون النتيجة موجبة ، أما في حالة عدم ظهور الحزمة الوردية تكون النتيجة سالبة .

3-9-3 تقدير نسبة المعادن الثقيلة في المصل :

تم قياس نسبة المعادن الثقيلة في مصل الدم حسب طريقة (Rand, 1976) و المحورة من قبل (Kunnaths and Jean, 1981) وذلك لغرض التقليل من كمية الحامضين المستخدمين في عملية الهضم :

- 1- أخذ 1مل من مصل الدم ويوضع في ورق زجاجي حجم (50) مل ويضاف إليه 0.5 مل من محلول الخليط المتكون من [مزج حجم من محلول Triton X – 100 مع حجم فوسفات الامونيوم].
- 2- أضيف إليه (2) مل من حامض النتريك المركز ويكمل الحجم الى (25) مل بالماء المقطر ويوضع على سطح ساخن ويترك إلى أن يصل إلى اقل حجم ممكن .
- 3- أكمل الحجم إلى (25) مل بالماء المقطر، ثم تعدل الدالة الحامضية إلى pH7 باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم ثم يوضع على سطح ساخن مرة أخرى لغرض الوصول إلى اقل حجم .
- 4- أضيف له (2) مل من حامض الهيدروكلوريك المركز و يكمل الحجم إلى (25) مل ثم يجفف مرة أخرى .

5- أكمل الحجم إلى (25) مل بالماء المقطر .

ثم تقاس امتصاصية هذا المحلول بجهاز الامتصاص الذري Atomic absorption spectrophotometer وحسب الطول الموجي لكل عنصر إذ يقاس الكاديوم على الطول الموجي (228.8) nm ، والرصاص على الطول الموجي (217) nm ، والنحاس عند الطول الموجي (324.8)nm ، و يتم حساب النتائج من خلال المقارنة مع محاليل قياسية لكل عنصر محضرة بنفس الطريقة وتحت نفس الظروف.

3-9-4 تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم :

قدر تركيز الكلوتاثيون في المصل حسب طريقة (Sedlak & Lindsay 1968) .

الكواشف Reagents :

1- محلول حامض السلفوساليسيليك 4% sulfosalicylic acid

ويحضر بإذابة 4غم من حامض السلفوساليسيليك في 100 مللتر من الماء المقطر ويحفظ في الثلاجة .

2 – محلول دارى الفوسفات Phosphate buffer solution

حضر بمزج (0.6 M KH₂PO₄) و(0.8 M Na₂HPO₄) , ويضبط الأس الهيدروجيني عند 8.

3 - محلول كاشف المان Ellmans reagent (DTNP 0.1 Mm)

حضر بتركيز 0.1 ملي مول باذابة 0.00369غم من مادة 5-5dithio bis 2-nitrobenzoic acid (DTNB) في 100 مللتر من المحلول المنظم ويحفظ الكاشف في الثلاجة.

طريقة العمل Procedure :

1- تم إضافة (0.15 ml) من 4% sulfosalicylic acid إلى (0.150 ml) من المصل . serum

2- خلط جيدا ويوضع في جهاز الطرد المركزي centrifug عند 2000 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق .

3- اضيف (4.5ml) من Ellmans reagent (DTNP 0.1Mm) إلى (0.15 ml) من الطافي .

4- ثم قيست الامتصاصية بعد مرور دقيقتين بواسطة جهاز المطياف الضوئي spectrophotometrically عند الطول الموجي 412nm .

الحسابات :

يتم حساب تركيز الكلوتاثيون حسب المعادلة الآتية :

$$\text{GSH conc. (micromoles/L)} = (\text{AT} \times 1000000) / \text{E}0 \times \text{L}$$

AT=Absorbance at 412nm

L=light path (1cm)

E0 =Extinction coefficient (13600/M.cm) .

3-9-5 تقدير تركيز المانولديالديهيد في مصل الدم :

قدر تركيز المانولديالديهيد حسب طريقة (Beuge and Aust,1978)

الكواشف Reagents :

1- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور 17.5% trichloroacetic acid (TCA) :

حضر بإذابة 17.5 gm من (TCA) في 100 مل من الماء المقطر .

2- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور 70% trichloroacetic acid (TCA) : حضر بإذابة

70 gm من (TCA) في 100 مل من الماء المقطر . ويحفظ كلا التركيزين في الثلاجة .

3- محلول الثايوباربيتيورك 0.6% thiobarbituric acid (TBA) : حضر بإذابة 0.6

gm من (TBA) في 100 مل من الماء المقطر . ويحضر عند الاستعمال .

طريقة العمل Procedure :

1- اضيف 1ml من (17.5%) TCA الى 0.15ml من المصل ثم يضاف 1ml من

TBA 0.6% .

2- مزج جيدا بواسطة vortex ثم وضع في حمام مائي 95 درجة لمدة 15 دقيقة ثم ترك

ليبرد .

3- اضيف 1ml من 70% TCA ثم ترك المزيج في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة .

4- وضع في جهاز الطرد المركزي 2000 دورة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة .

5- أؤخذ الطافي وقيست الامتصاصية بجهاز Spectrophotometrically عند الطول

الموجي 532 nm .

الحسابات :

يتم حساب تركيز (MDA) حسب المعادلة الآتية :

$$D \times \frac{\text{الامتصاصية عند } 532\text{nm}}{L \times EO} = \text{تركيز (MDA) ملي مول/لتر}$$

L : (1cm)

EO : (1.56×10⁵m⁻¹.cm⁻¹)

$$D = \frac{\text{الحجم الكلي}}{\text{حجم العينة}} = 21$$

3-9-6 تقدير تركيز البيروكسي نايتريت في مصلى الدم:

تم قياس البيروكسي نايتريت حسب طريقة (Vanuffelen *et al* ., 1998) والتي تتضمن الآتي :

الكواشف Reagents :

1- محلول الخليط Mixture solution :

حضر باذابة 5mM فينول في 50mM محلول منظم من فوسفات الصوديوم PH 7.4 (5 mM Phenol in 50 mM Sodium phosphate buffer PH 7.4)

2 -محلول هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide solution

حضر عند تركيز 0.1M هيدروكسيد الصوديوم (0.1M sodium hydroxide) .

طريقة العمل Procedure :

1- تم اضافة (10 µL) من العينة (Serum) الى (1990L µ) من Mixture solution

ويوضع في الحمام المائي بدرجة 37°C لمدة ساعتين .

2- اضيف (15L µ) من محلول Sodium hydroxide .

3 - قرأت الامتصاصية بواسطة جهاز Spectrophotometrically عند الطول الموجي 412nm بعد دقيقتين .

الحسابات :

$$\text{peroxynitrite concentration (Mole/Liter)} = (\Delta A/E0 \times L)$$

$\Delta A =$ الفرق في الامتصاصية بين العينة (sample) والقياسي (blank)

$$E0 = 4400 \text{ m.cm}$$

$$L = 1 \text{ cm}$$

3-10 تسجيل مخطط القلب الكهربائي :

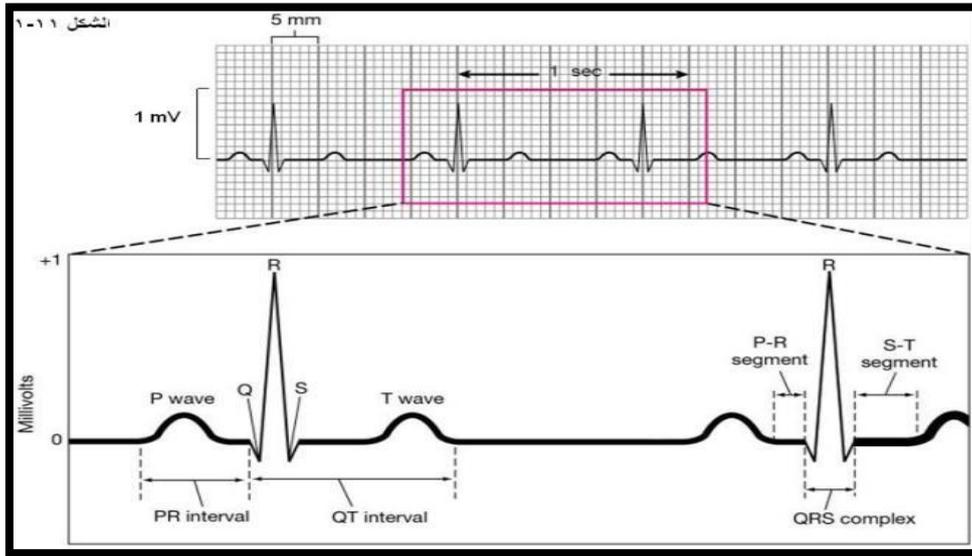
تم التسجيل باستخدام جهاز Electrocardiogram ، وقد تم القياس بعد مرور 30 يوماً على التجربة وبدون تخدير الحيوانات و ذلك بمسك الحيوان من منطقة الظهر ومنعه من الحركة بعد تثبيت الأقطاب الكهربائية على أطرافه الأربعة وتم إعادة نفس الخطوات بعد مرور 60 يوماً على التجربة . كما في الشكل (3-2) .



شكل(3-3) طريقة قياس أطوال الموجات الكهربائية بجهاز (ECG).

إذ تم القياس على أساس طريقة الربط الأحادي والتي تدعى Einthove's Trianangle وتمت القراءة على طريقة Lead II . إذ إن الشكل الأفقي للقراءة (Horizontal axis-time) يمثل الزمن Time، وإن المربع الصغير يساوي بالملي ثانية (1mm=0.04 sec) ، أما الشكل العمودي للقراءة (Vertical axis-voltage) فيمثل الفولتية الكهربائية voltage ويقاس بالملي فولت/mm/v وان المربع الصغير يساوي (1mm=0.1 mv)، وتكون سرعة الورقة أي

standard تساوي 25mm/ sec وتمثل P wave زوال الاستقطاب في الأذنين Depolarization وبما إن عضلات الأذنين تكون أقل سمكا واصغر من عضلات البطينين فلا يمكن للجهاز التقاط الموجات الكهربائية لانبساطها أي(عودة الاستقطاب) Repolarization وتضخيمها من خلال المضخم . أما QRS Complex فتمثل زوال الاستقطاب من عضلة البطين Depolarization وتكون أكبر من موجة P ، أما موجة T wave تمثل عودة الاستقطاب إلى عضلة البطين Repolarization أي حالة استراحة واسترخاء العضلة .



شكل (3-4) تخطيط القلب الطبيعي .

وتم قياس النبض القلبي حسب طريقة (Budden *et al.*, 1980) ووفق المعادلة :

$$HR(\text{beat}/\text{min}) = \frac{\text{المسافة بين موجتي R متتالية}}{\text{سرعة الورقة}} \times 1 \text{min} (60\text{sec})$$

11-3 الدراسة النسجية :

تم جمع عينات القلب والرئتين بعد مرور 30 يوم على التجربة وبحجم 1 إلى 1 سم ، إذ تمت التضحية بالحيوانات بواسطة التخدير بالكلوروفوم وتم استقطاع أجزاء من القلب والرئتين

والقصبه الهوائية وحفظت بالفورمالين 10% لإجراء التقطيع النسيجي عليها , وتمت إعادة نفس الخطوات بعد مضي 60 يوم على التجربة . وتم تحضير شرائح البرافين حسب طريقة (Bancroft and Stevens, 1982) وكالاتي:

1-11-3 تثبيت العينات (Sample Fixation)

ثبتت الأجزاء المراد دراستها نسيجيا والمتمثلة بالقلب Heart والرئتين Lung والقصبه الهوائية Treachea باستخدام الفورمالين 10%.

2-11-3 الغسل (Washing)

بعد مرور ثلاثة أيام على حفظ العينات وتثبيتها تم غسلها بالماء الجاري ولمدة 10 دقائق .

3-11-3 الإنكاز (Dehydration)

مررت العينات بعد الغسل بسلسلة تصاعديه من الكحول الأثيلي بدءًا بتركيز (70%، 80%)، (90%، 100%) ولمدة ساعة إلى ساعة ونصف لكل تركيز وذلك لغرض سحب الماء الموجود في العينة.

4-11-3 الترويق (Clearing)

روقت العينات بتبديلين من (Xylene) ولمدة نصف ساعة لكل تبديل.

5-11-3 التشريب والطمير (Infiltration and Embedding)

وضعت العينات بمزيج من شمع البرافين شركة (Histo line) درجة انصهاره (60°C) مع الزايلين بنسبة (1:1 ml) ولمدة نصف ساعة ووضعت في فرن درجة حرارته (60°C) ، و شربت العينات بشمع البرافين وعلى مرحلتين ولمدة ساعتين لكل تمريرة ، وأخيرا طمرت العينات بنوعية الشمع نفسه داخل قوالب خاصة.

6-11-3 التشذيب والتقطيع (Trimming and cutting)

شدبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بمشروط حاد وقطعت النماذج باستخدام المشراح الدوار من شركة (Histo line) بسمك (5 µm) ، ثم نقلت المقاطع إلى حمام مائي بدرجة (50-45 C°) لغرض تسطيح النسيج ، ووضعت الأشرطة على شرائح زجاجية .

7-11-3 التصبغ (Staining)

استخدمت الملونات الآتية :

أولاً :- صبغة هارس هيماتوكسولين (Harri's Hematoxylin Stain)

حضرت صبغة الهيماتوكسولين وفق طريقة بانكروفت و ستيفن (Bancroft and Stevens, 1982) وكالاتي:

- 1- أذيب 2.5 غم من الهيماتوكسولين مع 25 مل من الكحول المطلق .
- 2- اضيف الى 50 غم من شب البوتاسيوم $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ المذاب في 500 مل من الماء المقطر الدافئ ثم وضع المزيج على النار حتى الغليان .
- 3- أضيف إليه 1.25 غم من أوكسيد الزنبيق الأحمر (Red Mercuric oxide) ، و برد مباشرةً بوضع الدورق الذي يحوي المزيج في الماء البارد .
- 4- أضيف إليه 20 مل من حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic acid) ورشح الخليط قبل الاستعمال.

ثانياً : صبغة الأيوسين (Eosin Stain)

حضرت وفقاً لطريقة (Bancroft and Stevens, 1982) وكالاتي :

- 1- أذيب 1 غم من الأيوسين في 99 مل من الكحول الأيثيلي تركيز 70% بشكل جيد .
- 2- أضيف إليه 1 مل من حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic acid) ورشح قبل الاستخدام في اليوم التالي.

التصبغ باستخدام صبغة الهيماتوكسولين والأيوسين :

صبغت المقاطع النسجية بإتباع طريقة (Humason, 1979) وكالاتي :

1. أزيل الشمع من الشرائح باستخدام الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة (5 min) لكل مرحلة ثم مررت سلسلة تنازلية من الكحول الأيثيلي ابتداءً من (100% , 100% , 90% , 80% , 70%) ولمدة دقيقتين لكل تركيز وغسلت بالماء المقطر.
2. وضعت الشرائح الزجاجية في ملون الهيماتوكسولين هارس (Harri's Hematoxylin) ولمدة (5 min).

3. غسلت الشرائح بالماء الجاري لمدة (10 min) للحصول على أفضل زرقة.
4. لونت الشرائح بملون الأيوسين الكحولي لمدة (3 min).
5. ثم مررت الشرائح بسلسلة تصاعدية من الكحول الايثيلي (, 80% , 90% , 100% , 100%) لمدة دقيقتين و روقت بالزايلين وعلى مرحلتين لمدة (5 min).

ثالثا: صبغة الكوموري الثلاثي الألوان Gomori's One-Step Trichrome Stain

حضرت وفق طريقة (Hansen , 2006) وكالاتي :

خلط 0.6 غم من الكروموتروبوز (Chromotrope 2R) مع 0.3 غم من الأخضر الفاتح (Light green yellowish) و 0.8 غم من الفوسفوتنكستك (Phosphotungstic acid) ثم يضاف 100 مل من الماء المقطر وترج جيدا ثم يضاف 1 مل من حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic acid) , وتحفظ في قنينة زجاجية وتوضع في الثلاجة مدة 24 ساعة قبل الاستعمال.

وحضر محلول بون Bouins solution وفق طريقة (Vacca, 1985) وذلك بخلط 75 مل من حامض البكريك (picric acid) مع 25 مل من الفورمالين (formalin) ثم إضافة 5 مل من حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic acid) .

التصبغ باستخدام صبغة كوموري الثلاثي الألوان :

صبغت المقاطع النسجية بإتباع طريقة (Luna , 1968) وكالاتي :

- 1- أزيل الشمع من الشرائح باستخدام الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة (5) دقائق لكل مرحلة .
- 2- مررت سلسلة تنازلية من الكحول الايثيلي ابتداءً من (100% 90% 70%) ولمدة دقيقتين لكل تركيز وغسلت بالماء المقطر.
- 3- جففت الشرائح ثم وضعت في محلول بون Bouin's solution داخل فرن كهربائي ذي درجة حرارة 56 °C لمدة ساعة .
- 4- غسلت الشرائح بالماء الجاري لحين اختفاء اللون الاصفر.
- 5- وضعت الشرائح في صبغة الهيماتوكسلين لمدة 10 دقائق.
- 6- غسلت الشرائح بالماء الجاري.
- 7- لونت الشرائح باستخدام صبغة Tricrom لمدة 15- 20 دقيقة .
- 8- وضعت الشرائح في 0.5% حامض الخليك لمدة دقيقتين .
- 9- غمست الشرائح بالماء المقطر .

10- مررت الشرائح بالكحول الايثيلي (70, 95, 100%) لمدة دقيقتين .

11- روقت الشرائح بالزايلين xylene الاول ثم الزايلين الثاني .

8-11-3 التحميل (Mounting)

حملت الشرائح باستخدام (D.P.X) (Destrineplastisizerxylene), ثم غطيت المقاطع بغطاء زجاجي Cover slide , وتركت لتجف علي صفيحة ساخنة Hot plate بدرجة حرارة (37 C°).

3- 12 التصوير :

صورت المقاطع النسجية باستخدام مجهضوئي نوع MEIJI light microscope مزود بكاميرا مجهر Digital Camera نوع Canon عالية الدقة.

3- 13 التحليل الإحصائي :

تم إجراء تحليل التباين لدراسة تأثير الغبار في المعايير الكيموحيوية واختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن المعدل (L.S.D.) Revised Least Significant Differences (الساھوكي ووهيب، 1990).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

RESULTS & DISCUSSION

النتائج و المناقشة

Results & Discussion

1-4 تركيز العناصر الثقيلة في الغبار

بينت نتائج الجدولين (1-4) و (2-4) احتواء عينة غبار الأرصفة على تراكيز متباينة من العناصر الثقيلة .

جدول (1-4) نسب العناصر الثقيلة في الغبار باستخدام المطياف الذري (ppm)

العنصر	القيمة (ppm)
الرصاص	2.52
الكاديوم	0.58
الحديد	14.55
النحاس	6.77

جدول (2-4) نسب العناصر الثقيلة في الغبار باستخدام جهاز الفلورة (ppm)

العنصر	القيمة (ppm)	العنصر	القيمة (ppm)	العنصر	القيمة (ppm)
Pb	15.78	Fe	28.93	Zr	84.37
Mn	19.62	Cu	18.56	Ag	1.17
Zn	67.7	Ni	131.25	Sb	1.57
Cd	1.59	Ti	170.64	Ga	36.78
Rb	8.98	Sr	862	Ca	8906.91
Y	29.3				

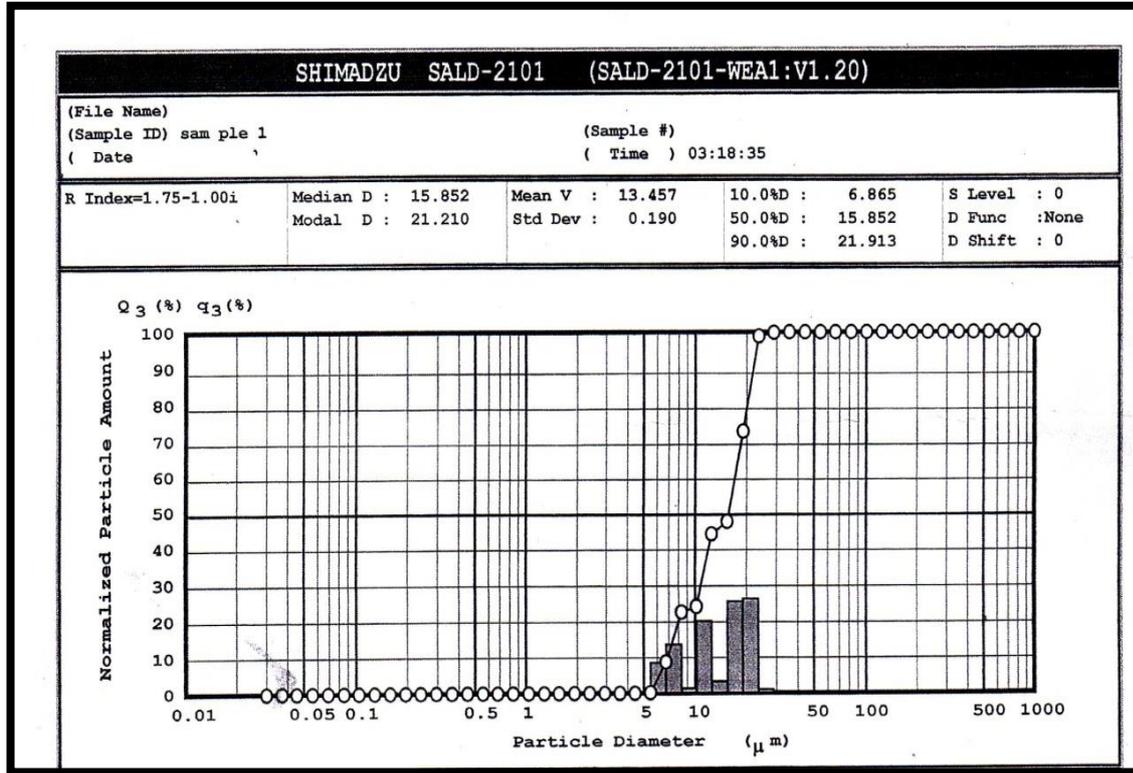
اذ كانت نسبة الرصاص والمنغنيز والكاديوم والزنك أعلى من الحدود المسموح بها , والمحددة $3.5 \mu\text{g/g}$ والمنغنيز $1.25 \mu\text{g/g}$ (WHO,1983) ويعتقد أن ارتفاع الزنك ناتج من حركة المرور وكثافتها ، أما ارتفاع الرصاص من استخدام البنزين المحتوي على الرصاص وزيتوت المحركات و انبعاثات فرامل السيارات , ويلاحظ أيضا من الجدولين (1-4) و(2-4) أن نسبتي النحاس والحديد كانتا ضمن الحدود المسموح بها وهي $37.5 \mu\text{g/g}$ حسب (WHO,1983) وهذا يؤكد احتواء غبار الأرصفة على نسب مختلفة من العناصر الثقيلة, ومستويات التلوث بها

وتوزيعها في جميع مناطق المحافظة تحت تأثير العوامل البيئية وخاصة تيارات الهواء والنقل الميكانيكي عن طريق وسائط النقل المختلفة وهذه النتيجة متفقة مع (السلمان وآخرون , 2012) و نلاحظ تبايناً بين الجدولين في تركيز كل عنصر ؛ وذلك لأن جهاز الفلورة (XRF) يمتاز بالدقة والسرعة في تحديد نسبة الاكاسيد الرئيسية للعناصر وكذلك تحديد العناصر النادرة ذات التراكيز المتدنية (Cristiana-Zizi *et al.*, 2011), ويعتقد أن وجود هذه العناصر في عينة الغبار يعود إلى حجم ونوعية النفايات المتروكة وانتشار الورش الفنية والكثافة المرورية والنشاط العام للسكان وكذلك طبيعة الخدمات المقدمة في منطقة الدراسة , وهذا يتفق مع (السلمان وآخريين 2012, علي, 2008; Alhassan *et al.*, 2012) من خلال دراساتهم في مدن مختلفة , إذ توصلوا إلى أن مستوى العناصر الثقيلة يرتبط بنوعية الأنشطة البشرية وطبيعة المتبقيات الصلبة التي تتراكم في شوارع المدن, وترتبط المخاطر في كمية ونوعية العناصر التي تم الكشف عنها ؛ وذلك لتأثيرها السلبي على الإنسان في الحاضر و في المستقبل ، إذ إن التعرض على المدى الطويل لهذه العناصر يرتبط مع مسببات العديد من الأمراض مثل أمراض القلب والاعوية الدموية وامراض الجهاز التنفسي والسكتة الدماغية (Hoek *et al.*, 2013)، فعلى سبيل المثال يعد الكاديوم والمنغنيز من اكثر المعادن سمية إذ تنتقل إلى الدماغ وتسبب السمية العصبية . (Bondier *et al.*, 2008 ; Antonini, 2010) .

إن ارتفاع تراكيز العناصر الثقيلة في بيئة المدينة ربما يعود إلى تعرضها كبقية أجزاء العراق للعواصف الترابية المتواصلة خلال السنين الأخيرة إذ لاحظ Rodríguez وآخرون (2011) في دراسته أجراها على انتقال العواصف الغبارية من الصحراء و أظهرت النتائج أن الغبار يحتوي على تراكيز من العناصر السامة والمركبات الكيميائية نتيجة اختلاطه مع مخلفات الأنشطة الصناعية، وهذا الغبار الملوث ينتقل من مكان إلى آخر من خلال العواصف الترابية التي تتعرض لها المنطقة .

2-4 الحجم الحبيبي لدقائق الغبار .

تشير نتائج تحليل الحجم الحبيبي لعينة غبار الأرصفة شكل(1-4) إلى خطورة كبيرة على صحة الإنسان ومكونات النظام الحيوي , وذلك من خلال زيادة نسب انبعاث الدقائق الغبارية العالقة والمتركمة والتي تسبب أضرارًا خطيرة حسب نوعها وحجمها وتركيبها الكيميائي.



شكل (1-4) الحجم الحبيبي لعينة غبار الأرصفة .

إذ تتضح من الشكل (1-4) زيادة نسبة الدقائق التي قطرها يتراوح بين (0.01-10) مايكرون والتي تمثل الفئات الحجمية الخطرة جدا ، إذ إن مثل هذه الدقائق يمكن أن تتحول إلى غبار عالق يضر بالصحة أو غبار متراكم ذي تأثيرات مختلفة وهذا يتفق مع (الثويني , 2013) إذ بيّن أن نتائج الفصل الآلي لمكونات غبار الأرصفة بواسطة غرابيل التربة أعطت أكثر من ثلاث فئات حجمية قابلة للتوزيع والانتشار كمكونات غبار ملوث للهواء , وقد يعود ذلك إلى سوء مستوى الخدمات البلدية ونوع النشاط البشري وقلة الوعي السكاني ومصدر المخلفات الصلبة (علي 2008, السلطان, 2011) .

3-4 تأثير الإجهاد البيئي للغبار على التغيرات العيانية للحيوانات المختبرية .

إن تعريض الحيوانات المختبرية للغبار يسبب تغيرات في سلوكية الحيوانات تمثلت بما يلي :

1- الخوف والتجمع .

عند تعريض الحيوانات المختبرية للغبار نلاحظ تجمعها في إحدى زوايا الصندوق , وسكونها خلال مدة التعريض كما في الشكل (2-4) والتنفس مع إصدار أصوات , وكثرة التبول.



شكل (2-4) تجمع الحيوانات أثناء التعرض للغبار .

2- الحك .

تقوم الحيوانات بالحك في جميع مناطق الجسم وخصوصا منطقة الأنف أثناء تعريضها للغبار و بعد انتهائه , كما في الشكل (3-4) , وذلك بخلاف حيوانات السيطرة .



الشكل (3-4) الحك أثناء التعريض

3- البحث عن الأوكسجين .

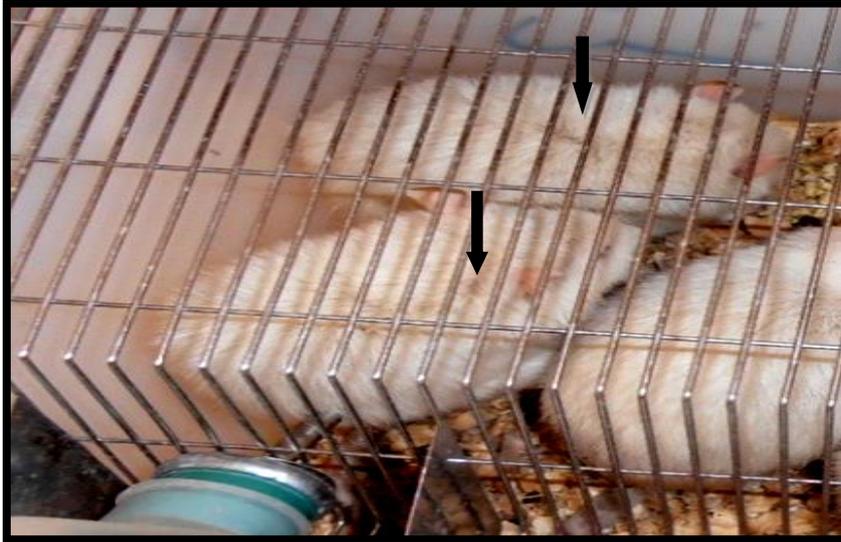
تمت ملاحظة بحث الحيوانات عن الأوكسجين بعد انتهاء عملية التعريض , إذ تقف عند إحدى زوايا الصندوق وخصوصا الزاوية المقابلة لفتحة التهوية ، كما في الشكل (4-4).



الشكل (4-4) البحث عن الأوكسجين

4- تساقط الشعر وظهور أعراض الحساسية .

نلاحظ تساقط شعر الحيوانات المعرضة للغبار وظهور دمامل في منطقة الظهر . وحمولها وقلة تناولها الطعام بعد مرور 60 يوم على التجربة كما في الشكل (5-4) .



شكل (5-4) تساقط الشعر ↓ وحمول الحيوانات

4-4 تأثير التلوث بالغبار على المعادن الثقيلة في مصل الدم :

نلاحظ من الجدول (3-4) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز الرصاص والكاديوم في مصل الدم في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار ولكلا المدتين (30يوم و 60يوم) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الارتفاع معنويًا ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة

جدول(3-4) تأثير التلوث بالغبار على بعض المعادن النزره والثقيلة في مصل الدم .

G3	G2	G1	
2.93A ±0.09	1.84B ±0.23	0.55C ±0.25	µg/ml Pb
0.68A ±0.33	0.31B ±0.27	0.006C ±0.04	µg/ml Cd
31.88C ±0.28	33.4B ±0.54	35.54A ±0.24	µg/ml Cu
25.14B ±1.70	28.25B ±3.82	56.93A ±5.03	µg/ml Fe

المعدل + الخطا القياسي, $n = 5$ \ المجموعة .

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$.

G1 مجموعة حيوانات السيطرة , G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهر , G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهرين .

يتضح لنا من الجدول (3-4) وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز النحاس والحديد في مصل الدم في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30يوم و 60يوم) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الانخفاض معنويًا ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة

أظهرت نتائج الجدول (3-4) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في تركيز الرصاص و الكاديوم في مصل الدم لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30 و 60 يوم) ، كما أظهرت نتائج الجدول وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في مستوى النحاس والحديد وهذه النتائج جاءت متفقة مع (Dalal, et al.,2013) . ويعتقد أن سبب ارتفاع الرصاص و الكاديوم في مصل الجرذان المعرضة للغبار هو وجود عنصر الرصاص و الكاديوم في عينة الغبار ، إذ إن المصدر الرئيس للرصاص في الهواء هو حركة وسائط النقل وعوادم السيارات التي تساهم في زيادة نسبة هذه العناصر على جوانب الطرق وتواجد هذه العناصر في الدم يسبب أضرارًا صحية

خطيرة لسمية هذه المعادن وتأثيرها المباشر على الأعضاء الحيوية (Jain *et al.*, 2005). كما أشارت نتائج الجدول إلى وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في تركيز النحاس والحديد في مصل الدم في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار وطول مدة التجربة وهذه النتيجة متفقة مع (Radwan *et al.*, 2008). ويعتقد أن سبب انخفاض تركيز النحاس والحديد في الدراسة الحالية هو ارتفاع عنصري الرصاص و الكاديوم إذ تؤدي هذه المعادن السامة إلى اضطراب في المعادن الأساسية (النحاس والحديد والزنك) و إعادة امتصاص النحاس والزنك من المصل والبلازما إلى الكبد والكلية (Wasowicz *et al.*, 2001) ولقد وجد Turgut وآخرين (2009) أن مستوى الرصاص والكاديوم مرتفع في مصل الدم بالنسبة للمرضى الذين يعانون من الانيميا بالإضافة إلى انخفاض النحاس والحديد في المصل وبين ان تلوث البيئة بعنصر الرصاص والكاديوم نتيجة التطور الصناعي أدى إلى ارتفاع نسبة الإصابة بالانيميا في المناطق الصناعية. ويعتقد أن انخفاض النحاس أثر في انخفاض الحديد, فالنحاس هو عنصر أساسي ومحفز مهم لتصنيع وامتصاص الحديد, ويعدّ النحاس والحديد والزنك أكثر ثلاثة عناصر وفرة في الجسم, إذ يعد النحاس أحد مكونات الساييتوكروم اوكسيداز Cytochrome oxidases, والدوبامين, والسريلوبلازمين فهو عامل مساعد Co-factor في مسار الأوكسدة. التوافر البيولوجي للنحاس من النظام الغذائي حوالي 65-70% اعتمادا على مجموعة متنوعة من العوامل بما في ذلك الشكل الكيميائي والتفاعل مع المعادن الأخرى, عمره النصف في الغذاء البيولوجي هو 13-33 يوم ويزال بصورة رئيسة عبر الصفراء. ويعد النحاس عاملاً مساعداً Cofactor أو مكوناً تركيبياً لمضادات الأوكسدة الإنزيمية مثل الكلوتاثيون (GSH) (Siddiqui *et al.*, 2006). وتؤدي زيادة الكاديوم والرصاص إلى انخفاض المعادن الأساسية مثل النحاس والزنك وانخفاض GSH وارتفاع MDA (Patra *et al.*, 2011).

5-4 تأثير التلوث بالغبار على بعض المعايير الدمية :

أظهرت نتائج الجدول (4-4) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد كريات الدم الحمراء RBC في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30يوم و 60يوم) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة, وكان الارتفاع معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة.

جدول(4-4) تأثير التعرض المزمن لغبار الهواء لمدتي شهر وشهرين على بعض المعايير الدموية لذكور الجرذان

G3	G2	G1	
9.80 A ±0.27	8.23 B ±0.08	6.26 C ±0.06	RBC (n×10 ⁶ /mm ³)
13.30 A ±0.10	12.26 B ±0.08	11.42 B ±0.18	Hb g/dl
43.79 A ±0.13	40.45 B ±0.19	37.69 C ±0.10	PCV %
778 A ±12.31	685 B ±10.85	580 C ±8.46	PLT (n×10 ³ /mm ³)

المعدل ± الخطأ القياسي, n = 5 \ المجموعة .

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمال $P < 0.05$.

G1 مجموعة حيوانات السيطرة, G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهر, G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهرين .

كما أظهرت نتائج الجدول (4-4) وجود ارتفاع غير معنوي في معدل تركيز الهيموكلوبين Hb في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة. والى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز الهيموكلوبين Hb في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

وقد أظهرت نتائج الجدول (4-4) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل حجم مكذاس الدم في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المديتين (30يوم و 60يوم) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الارتفاع معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .

بينت نتائج الجدول (4-4) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد الصفائح الدموية في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار ولكلا المديتين (30يوم و 60يوم) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الارتفاع معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .

ويعتقد إن الارتفاع في المعايير الدموية والذي أشارت إليه الدراسة الحالية قد يعود إلى احتواء الدقائق الغبارية على المعادن الانتقالية وحصول حالة نقص الأوكسجين Hypoxia التي تؤدي إلى زيادة عامل (HIF-1) والذي يؤدي بدوره إلى زيادة الارثروبويتين هذا الهرمون يؤدي الى زيادة تحفيز الخلايا الجذعية Stem cell في نخاع العظم على إنتاج كريات الدم الحمراء. وقد جاءت هذه النتائج متفقة مع (Kooter et al.,2006 ; Smith et al.,2006)

بين Bradford (2007) إن نقص الأوكسجين Hypoxia يسبب زيادة الصفائح الدموية وتشكل الخثرة الدموية. ويعتقد ان زيادة الصفائح الدموية في الدراسة الحالية ناتجة عن

نقص الأوكسجين وهذه النتيجة تتفق مع (Poursafa *et al.*,2011) إذ وجدت زيادة في أعداد الصفائح الدموية بعد التعرض لملوثات الهواء في الأطفال والمراهقين في مدينة أصفهان . و يؤدي تلوث الهواء إلى زيادة تجمع الصفائح الدموية وتنشيط التخثر وهذا ما يفسر تأثير تلوث الهواء على أمراض القلب والأوعية الدموية الناتجة من نقص الأوكسجين (Rudez *et al.*,2009)

6-4 التغيرات الناتجة عن التلوث بالغبار على بعض المعايير الدمية الحسابية :

أظهرت نتائج الجدول (4-5) وجود انخفاض غير معنوي في معدل حجم كريات الدم الحمراء في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما أظهرت نتائج الجدول وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل حجم كريات الدم الحمراء في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول(4-5) تأثير التعرض المزمن لغبار الهواء لمدتي شهر وشهرين على بعض المعايير الدمية الحسابية لذكور الجرذان

G3	G2	G1	
49,6 B ±0.25	55,6 A ±1.40	56.2 A ±0.73	MCV (fl)
35.14 A ±0.80	33.04 B ±0.33	33.52 B ±0.54	MCHC g/dl
17.54 A ±0.35	18.5 A ±0.76	18,78 A ±0.08	MCH (Pg)

المعدل ± الخطأ القياسي, n = 5 \ المجموعة .

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$.

G1 مجموعة حيوانات السيطرة , G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهر , G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهرين .

كما أظهرت نتائج الجدول (4-5) وجود انخفاض غير معنوي في معدل تركيز الهيموكلوبين في كريات الدم في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة . وقد أظهرت نتائج الجدول وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز الهيموكلوبين في كريات الدم في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

أشارت نتائج الجدول (4-5) إلى وجود انخفاض غير معنوي في معدل محتوى الهيموكلوبين في كريات الدم الحمر في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار ولكلا المدتين (30 يوم و60 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل حجم كرية الدم MCV وحصول ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز الهيموغلوبين MCHC و انخفاض غير معنوي في معدل محتوى الهيموغلوبين MCH بعد التعرض للغبار لمدة 60 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع (Kooter et al.,2006) إذ يشير إلى انخفاض معدل حجم كرية الدم الحمراء Microcytic بعد التعرض للدقائق الغبارية المتناهية الصغر (UFP). وتعرف هذه الحالة بفقر الدم العام من النوع الثانوي Secondary Polycythemia وتلاحظ هذه الحالة في المرضى الذين يعانون من أمراض القلب الولادية وأمراض الرئة ونقص الأوكسجين إذ توجد زيادة في أعداد كريات الدم الحمراء ، وحصول انخفاض في MCV يرافقه انخفاض في مستوى الحديد.

إن ارتفاع مستوى الرصاص في الدم يؤدي إلى انخفاض MCV وMCH وانخفاض الحديد (ربما يعود لحصول اضطراب في امتصاص الحديد في الأمعاء) وانخفاض الحديد يؤدي إلى خلل في تصنيع الهيم مما يؤدي إلى نقص الأوكسجين (Golalipour et al.,2007), ويعتقد إن انخفاض MCV وMCH في الدراسة الحالية نتيجة لارتفاع مستوى الرصاص في الدم وحصول حالة نقص الأوكسجين Hypoxia التي تؤدي إلى ارتفاع أعداد كريات الدم الحمراء وانخفاض MCV وMCH وانخفاض الحديد في مصل الدم .

4-7 التغيرات الناتجة عن التلوث بالغبار على أعداد خلايا الدم البيضاء الكلي والتفريقي .

تشير نتائج الجدول (4-6) إلى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد خلايا الدم البيضاء في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار ولمدة (30يوم) . وقد أظهرت نتائج الجدول وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد خلايا الدم البيض في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول (4-6) تأثير التعرض المزمن لغبار الهواء لمدتي شهر وشهرين على أعداد خلايا الدم البيض الكلي والتفريقي لذكور الجرذان .

G3	G2	G1	
6.9 C ±0.04	13.9 A ±0.25	9.3 B ±0.13	WBC ×10 ³ /mm ³
34.8 C ±4.10	83.5 A ±2.15	58.8 B ±1.61	Lymphocyte %
4.8 C ±0.05	21.1 A ±0.29	8.4 B ±0.13	Monocyte %
29.4 C ±0.19	50.6 A ±0.49	32.8 B ±0.60	Granulocyte %

المعدل ± الخطأ القياسي، n = 5 \ المجموعة .
الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمال P ≤ 0.05 .
G1 مجموعة حيوانات السيطرة، G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهر، G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهرين .

بينت نتائج الجدول (4-6) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد الخلايا اللمفية في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار ولمدة (30 يوم) والى وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد الخلايا الوحيدة في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

كما أظهرت نتائج الجدول (4-6) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد الخلايا الوحيدة في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يوماً) مقارنة مع مجموعة السيطرة . والى وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد الخلايا الوحيدة في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

بينت نتائج الجدول (4-6) ارتفاعاً معنوياً ($p \leq 0.05$) في أعداد الخلايا الحبيبية في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة . والى وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد الخلايا الحبيبية في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

أشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد خلايا الدم البيضاء WBC بعد التعرض للغبار لمدة (30 يوماً) وجاءت هذه النتيجة متفقة مع (Kodavanti *et al.*, 2011; Poursafa *et al.*, 2005) ، ويعتقد أن السبب هو زيادة نشاط الخلايا البلعمية Macrophage نتيجة لحصول الالتهابات الرئوية بعد استنشاق الدقائق الغبارية إذ يعمل هذا النشاط على تحفيز نخاع العظم على إطلاق Polymorphonuclear (PMN) غير ناضجة وبكميات كبيرة تعمل على رفع أعداد خلايا الدم البيضاء WBC (Smith *et al.*, 2006). إذ إن الدقائق الغبارية التي قطرها 2.5 مايكرون يمكن أن تدخل المسالك التنفسية وتحدث الالتهابات الرئوية (Upadhyay *et al.*, 2008).

كما أظهرت نتائج الجدول وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في أعداد خلايا الدم البيضاء بعد التعرض للغبار لمدة (60 يوماً) وقد جاءت هذه النتيجة متفقة مع (Cozzi *et al.*, 2006) ويعتقد أن سبب الانخفاض هو زيادة ارتشاح الخلايا العدلة Neutrophils إلى النسيج البرنكي للثة نتيجة لزيادة الالتهابات بعد استنشاق الدقائق وهذا يؤدي إلى انخفاض العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء (Ghio *et al.*, 2003).

4-8 تأثير التلوث بالغبار على بعض المعايير الوظيفية .

نلاحظ من الجدول (4-7) وجود ارتفاع غير معنوي في معدل تركيز الكلوكوز في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، كما أشار الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز الكلوكوز في الجرذان المعرضة لمدة (60 يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول (4-7) تأثير الغبار على بعض المعايير الوظيفية في ذكور الجرذان البيضاء .

G3	G2	G1	
156 a ±2.45	107.4 b ±0.60	107 b ±0.85	Glucose (mg/dl)
+	—	—	Troponin

المعدل ± الخطأ القياسي، n= 5 \ المجموعة .

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$.

G1 مجموعة حيوانات السيطرة، G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهر، G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهرين .

أظهرت نتائج الجدول (4-7) عدم وجود فرق في تركيز التروبونين في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يوماً) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

كما أظهرت نتائج الجدول وجود زيادة إيجابية في تركيز التروبونين في الجردان المعرضة للغبار لمدة (60 يوماً) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

تشير نتائج الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز الكلوكون في مصل الدم للجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يوم) , ويعتقد أن سبب الزيادة في الدراسة الحالية هو زيادة المعادن الثقيلة في مصل الدم وخصوصاً عنصر الكاديوم إذ يتنافس مع الزنك ويرتبط مع Metallothionein لأن الزنك و الكاديوم من نفس المجموعة في الجدول الدوري (ثنائي التكافؤ) إذ تلعب نواقل الزنك دوراً مهماً في تراكم المعادن الثقيلة في خلايا β (Dalton *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2007; El Muayed *et al.*, 2012)

يتواجد الزنك بتراكيز عالية داخل خلايا β في جزر لانكرهانز وخاصة داخل الحويصلات الإفرازية (Lemaire *et al.*, 2009) وهذا يعني أن ارتفاع معدل تركيز الكلوكون في الدم بعد التعرض للكاديوم هو نتيجة لاضطراب في وظيفة خلايا β الطبيعية . وتشير بعض الأدلة إلى أن التعرض المزمن لمستويات منخفضة من الكاديوم في البيئة قد يترافق مع زيادة خطر اضطراب مستوى سكر الدم و الإصابة بمرض السكري (Afridi *et al.*, 2008; Schwartz *et al.*, 2003).

كما أشار الجدول إلى وجود زيادة إيجابية في التروبونين في مصل الجردان المعرضة للغبار لمدة (60 يوماً). ويعتقد أن سبب الزيادة الإيجابية في التروبونين هو احتواء الدقائق الغبارية على المعادن وخاصة النيكل، هذه المعادن تساهم في زيادة جذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) والالتهابات المرتبطة مع أمراض القلب وزيادة بروتين C (CRP) (Dominici *et al.*, 2010) .

9-4 تأثير التلوث بالغبار على معايير الإجهاد التأكسدي .

يشير الجدول (8-4) الى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز المالونالديهيد (MAD) في مجموعة الجردان المعرضة للغبار و لكلا المديتين (30 يوماً و 60 يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الارتفاع معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة

جدول (8-4) تأثير الغبار معايير الإجهاد التأكسدي في ذكور الجرذان البيضاء.

G3	G2	G1	
4.38 A ±0.04	3.40 B ±0.17	1.48 C ±0.14	MDA Mmol/L
0.08 A ±0.003	0.05 B ±0.004	0.01 C ±0.005	ONOO⁻ mol/L
2.22 C ±0.03	3.14 B ±0.06	5.48 A ±0.09	GSH Micomol/L

المعدل ± الخطأ القياسي, n = 5 المجموعة .

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$.
G1 مجموعة حيوانات السيطرة , G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهر ,
G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهرين .

يشير الجدول (8-4) إلى وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز البيروكسي نايتريت في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30يوماً و 60يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الارتفاع معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .
يتبين لنا من الجدول (8-4) وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل تركيز الكلوتاثيون في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30يوماً و 60يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الانخفاض معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .

أشارت الدراسة الحالية إلى حصول ارتفاع معنوي في مستوى المألونديهايد (MDA) والبيروكسي نايتريت (ONOO⁻) في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار مقارنة مع مجموعة السيطرة . و يعتقد أن الدقائق الغبارية تسبب الالتهابات التي تحث الإجهاد التأكسدي و زيادة جذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) أو بسبب وجود المعادن على سطح هذه الدقائق إذ تعمل على توليد الجذور التفاعلية عن طريق تفاعلات الفنتون , وهذا الإجهاد يسبب أكسدة الدهون واطئة الكثافة وزيادة مستوى (MDA) (Sorensen *al.*,2003 ; Pereira *et al.*,2007)

وكذلك زيادة تولد جذر O₂· وتفاعلها مع NO· وتكوين البيروكسي نايتريت (*et al.*,2009 ; Halliwell , 2001; Xu *et al.*,2009 ; Zhu *et al.* ,1998). فالبيروكسي نايتريت (ONOO⁻) هو مؤكسد قوي ينظم بواسطة المحتوى الخلوي من الكلوتاثيون (GSH) ، وينتج من تفاعل جذر السوبر اوكسايد O₂· مع اوكسيد النترريك NO (Katzung, 2001). و اوكسيد النترريك (NO) هو عامل حماية مهم ينتج من بطانة الأوعية ويعمل على حمايتها ضد تصلب

الشرابين , فهو عنصر مهم في ميكانيكية دفاع الخلايا البطانية إذ يعمل على تثبيط الالتهابات , وتكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية , و يعزز توسيع الأوعية (Allen et al., 2009) . وقد وجد أن التعرض للدقائق الغبارية بقطر (2.5) ميكرون يسرع تدمير (NO) بواسطة تولد جذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) التي تلعب دوراً مهماً في انخفاض التوافر الحيوي من اوكسيد النترريك (Rajagopalan et al., 2005) . أي زيادة تولد البيروكسي نايتريت . لذا فإن ارتفاع مستوى (ONOO⁻) و (MDA) دليل على حصول حالة إجهاد تأكسدي قوي بسبب تولد الجذور الحرة (Free radicals) التي تهاجم أنسجة الجسم و بالأخص نسيجي القلب والرئة والتي تلعب دوراً مهماً في الإصابة بالأمراض إذ إنها تؤدي إلى تحطيم الفوسفوليبيدات الموجودة في أغشية الخلايا وتلف الأنسجة (Ferrari et al., 1992) .

إن زيادة مستوى أكسدة الدهون تؤدي إلى خلل في نفاذية الأغشية الخلوية وخاصة الخلايا البطانية بالإضافة إلى التحورات التأكسدية للبروتينات الدهنية واطئة الكثافة إذ تعمل على نشوء آفات التصلب الشرياني في جدران الأوعية الدموية (Eder et al., 1997). وهذه النتائج لم تتفق مع (Medina-Navarro et al., 1997) الذي قام بدراسة تأثير ملوثات الهواء على مجموعة من الأشخاص في مدينة مكسيكو وتم قياس مستوى المالونديهايد في الأسبوع الأول والأسبوع السادس عشر ووجد انخفاض في مستوى المالونديهايد في الأسبوع السادس عشر؛ وقد عزى الأسباب إلى قدرة الكائن الحي على التكيف .

كما أشارت الدراسة الحالية إلى وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصلى مجموعة الجرذان المعرضة للغبار , وهذه النتيجة تتفق مع (Meng and Zhang, 2006) . ويعتقد أن سبب انخفاضه في الدراسة الحالية هو أن الدقائق (PM) تحت الإجهاد التأكسدي بسبب وجود المعادن الانتقالية على سطحها والتي تعمل على توليد جذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) التي تساهم في أكسدة الكلوتاثيون (Lin et al., 2009) فالخلية تمتلك آلية دفاعية ضد الإجهاد التأكسدي هي مضادات الأكسدة الداخلية , وهي دقائق تحمي الأعضاء البيولوجية ضد ضرر الأكسدة , بمنعها تولد (ROS) أو اكتساحها السريع قبل مهاجمة الأعضاء البيولوجية المهمة (Niki , 2010) ويعد الكلوتاثيون المختزل من أهم مضادات الأكسدة الداخلية , و مدة بقائه 3-4 أيام وهو من أوفر مركبات الثايول تواجدا في الأنسجة (Kerksick & Willoughby, 2005) وتقدر نسبته في الخلايا (0.5-10 Mm) و يوجد بكميات قليلة في السوائل الخارج خلوية مثل اللف والبلازما (Livingstone & Davis, 2007) . فانخفاض مستوى الكلوتاثيون دليل واضح على حصول الإجهاد التأكسدي واستنزاف الكلوتاثيون في الجسم .

10-4 تأثير التلوث بالغبار على موجات القلب الكهربائية :

يشير الجدول (9-4) إلى وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في معدل النبض القلبي في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار ولكلا المدتين (30 يوماً و 60 يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الانخفاض معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .

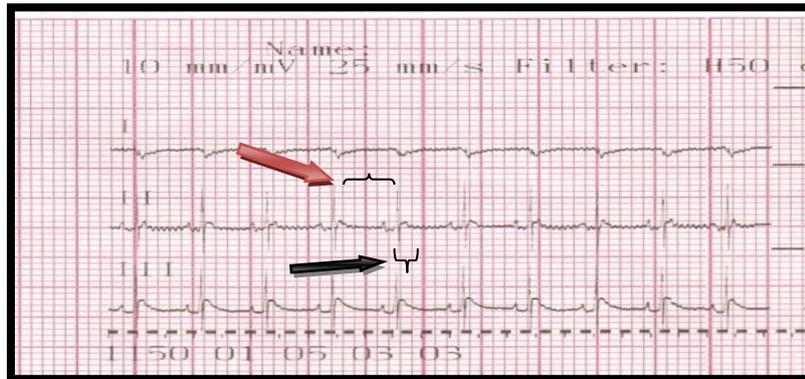
جدول (9-4) تأثير الغبار على موجات القلب بالمللي ثانية (msec) في ذكور الجرذان البيضاء

G3	G2	G1	
250 C ±3.94	300 B ±4.73	375 A ±5.92	HR (beat/min)
0.04 A ±0.003	0.03 B ±0.003	0.02 C ±0.003	P Wave
0.05 C ±0.003	0.06 B ±0.003	0.07 A ±0.003	QT
0.02 C ±0.003	0.03 B ±0.003	0.04 A ±0.003	QRS complex
0.06 A ±0.003	0.05 B ±0.003	0.05 B ±0.003	P-R interval
0.24 A ±0.001	0.20 B ±0.003	0.16 C ±0.001	R-R

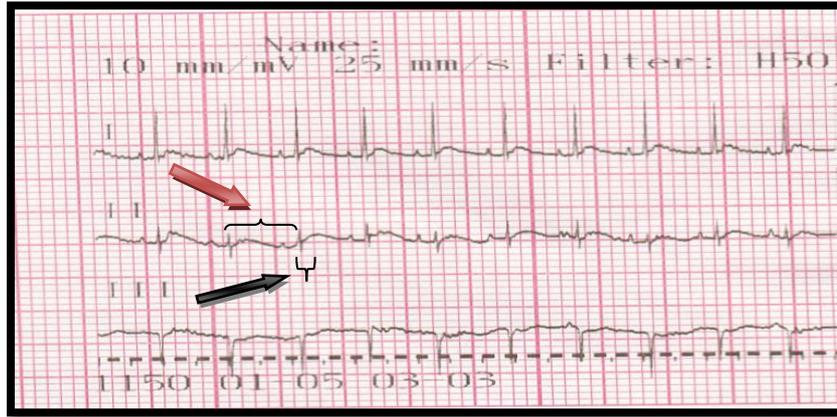
المعدل ± الخطأ القياسي, $n = 5$ \ المجموعة .

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$.

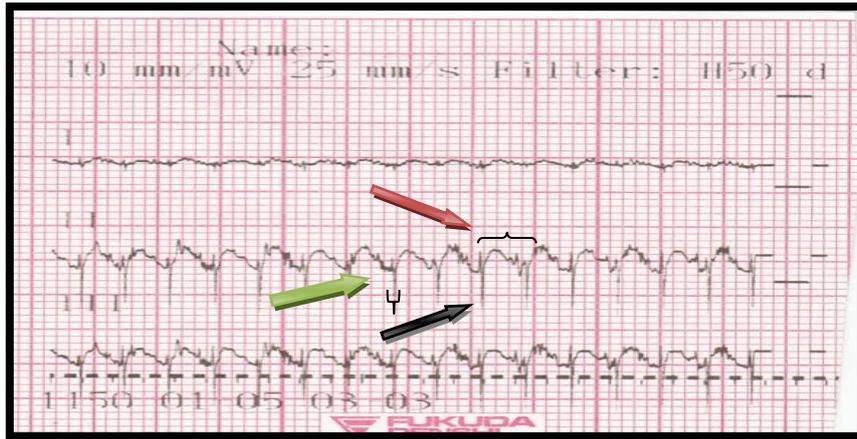
G1 مجموعة حيوانات السيطرة , G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهر , G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 5 دقائق يوميا /لمدة شهرين .



الشكل (6-4) المخطط الكهربائي لقلب ذكر جرذ من مجموعة السيطرة G ونلاحظ من المخطط النظم الطبيعي لضربات القلب (R-R) وقيمتها 0.16 → وقيمة المدة الفاصلة لأنقباض وانبساط البطين QT interval وقيمتها 0.07 →



الشكل (7-4) مخطط القلب الكهربائي لذكر جرذ من مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 30 يوم G2 ويشير الشكل إلى تأثير الغبار على نظم القلب R-R Rhythm يلاحظ انها اصبحت اطول في المسافه 0.003 ± 0.20 mm/s \rightarrow مقارنة مع مجموعة السيطرة . وقصر الفترة الفاصلة لانقباض وانبساط البطين QT- interval وقيمتها 0.003 ± 0.6 mm/s \rightarrow



الشكل (8-4) مخطط القلب الكهربائي لذكر جرذ من مجموعة الحيوانات المعرضة للغبار لمدة 60 يوم G3 يبين حالة التباطيء في نظم القلب (طول مسافه R-R) إذ بلغت ± 0.24 mm/s \rightarrow 0.001 كما يشير الشكل الى انحدار شديد في QRS \rightarrow وقصر الفترة الفاصلة لانقباض وانبساط البطين QT-intervale وقيمتها 0.003 ± 0.05 mm/s \rightarrow

أظهرت نتائج الجدول (9-4) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في طول المدة لموجة P في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المديتين (30 يوماً و 60 يوماً) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان طول المدة معنوياً ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .

يشير الجدول (4-9) إلى وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في طول الزمن مثلًا موجة QT في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30 يومًا و 60 يومًا) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الانخفاض معنويًا ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .

أظهرت نتائج الجدول (4-9) وجود انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في طول معقد QRS في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30 يومًا و 60 يومًا) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وكان الانخفاض معنويًا ($p \leq 0.05$) طول مدة التجربة .

أظهرت نتائج الجدول (4-9) عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) في موجة P-R في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة (30 يومًا) مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما أظهرت نتائج الجدول وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في موجة P-R في الجرذان المعرضة للغبار لمدة (60 يومًا) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

يلاحظ من الجدول (4-9) وجود ارتفاع معنوي ($p \leq 0.05$) في موجة R-R في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار و لكلا المدتين (30 يومًا و 60 يومًا) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة , وعلى طول مدة التجربة .

أشارت نتائج الجدول (4-9) إلى حصول حالة التباطئ في نظمية القلب (Bradycardia) من خلال طول المسافة (R-R) وكذلك نقصان (HR) وقصر موجة (QT) وقصر معقد (QRS) وزيادة موجة (P) وهذه النتائج متفقة مع (Ghelfi et al.,2008). إذ إن استنشاق الدقائق الغبارية يسبب زيادة إنتاج جذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) والتي تؤدي الى تغيرات في نشاط الأعصاب اللاإرادية للقلب مسببة تغيرات في زوال وعودة الاستقطاب البطيني (Simkhovich et al.,2008) , إن التعرض على المدى القصير للدقائق الغبارية (PM) يرتبط مع التغيرات في الوظائف الإرادية للقلب وفقا لتقييم النبض القلبي (HR) في الحيوانات المختبرية وفي مجموعة واسعة من البالغين الأصحاء وكبار السن والمرضى الذين يعانون من أمراض القلب و الأوعية الدموية (Delfino et al.,2005; Riojas-Rodriguez et al.,2006;Wu et al.,2010)

إن طول موجة (QT) يمثل قياس عودة الاستقطاب للبطين والتي تحدد بواسطة توازن عودة الاستقطاب حيث تيارات الكالسيوم والصوديوم للداخل وتيارات البوتاسيوم والكورايد للخارج لهذا ان قصر موجة (QT) مرتبط إما بحصول طفرة في قنوات الصوديوم و البوتاسيوم للقلب (Tanabe et al.,2006) أو بحصول تغيرات في نشاط العصب التائه Vagal (Zamotrinsky et al.,2001) ويلاحظ قصر موجة (QT) في المرضى المصابين بفرط الكالسيوم (Gussak et al.,2002) وعند تثبيط قنوات الصوديوم والكالسيوم بواسطة

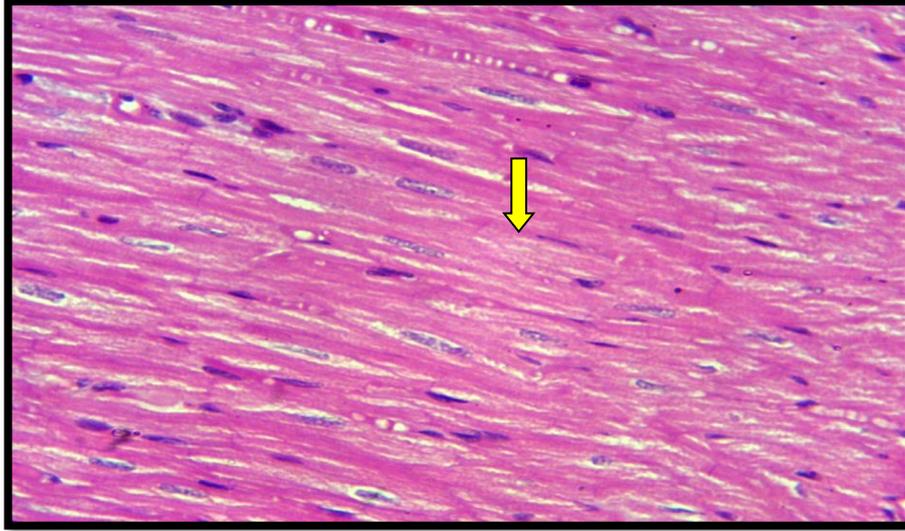
الليدوكائين (lidocaine) يؤدي إلى قصر في موجة (QT) وزيادة خطر الرجفان البطيني ، فالتعرض لتراكيز الدقائق المحيطة (CAP) concentration ambient particles يؤدي إلى تقصير موجة (QT) لزيادة تحفيز العصب التائه vagal للقلب وتنشيط قنوات الصوديوم Na والكالسيوم Ca أو قنوات البوتاسيوم K. قياس موجة (P) يعكس وقت التوصيل داخل الأذنين وزيادة موجة (P) تشير إلى وجود تحول في توازن الأعصاب الإرادية للقلب نحو تحفيز الأعصاب اللاإرادية وهذه النتيجة تتفق مع (Rhoden *et al.*,2005).

إن الزيادة في الجذور الحرة الاوكسجينية (ROS) تعمل على تغيير نشاط زوال الاستقطاب depolarization من خلال تأثيرها على قنوات الكالسيوم Ca و البوتاسيوم K التي تشكل أساس الاستثارة العصبية في الخلايا العصبية داخل القلب (Whyte *et al.*,2009) . فجذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) وخصوصا جذر الأوكسجين O₂· وجذر الهيدروكسيل OH· تعمل على منع انتقال النبضة العصبية في العقدة العصبية داخل القلب للجرذان مع زيادة عواقب تنظيم الأعصاب اللاإرادية لوظائف القلب مؤدية إلى بداية عدم انتظام ضربات القلب (Dyavanapalli *et al.*,2010) قياس معقد (QRS) يعكس زوال الاستقطاب في البطين depolarization فالتغير في معقد (QRS) مؤشر على التغير في قوة التوصيل ضمن نظام (His-Purkingy). و إن أي تغير في قيمة المدة الفاصلة (P-R و QRS) تعني علامة تشخيصية تشير إلى عدم انتظام نظمية القلب أو تضخم البطين Ventricular hypertrophy أو احتشاء عضلة القلب أو اختلال كهربائي في خلايا عضلة القلب Electrolyte derangement (ذباب وجماعته, 2009) فاستنشاق تراكيز الدقائق المحيطة (CAP) ينتج تيارات غير طبيعية للصوديوم Na والكالسيوم Ca تقود إلى تغيرات في قوة التوصيل وإعادة الاستقطاب البطيني وعدم انتظام ضربات القلب ، فمكونات الدقائق المحيطة (CAP) ومصدرها مسؤولة عن هذه التأثيرات (Nadziejko *et al.*,2004 ; Ghelfi *et al.*,2008) . ويعتقد أن سبب انخفاض النبض القلبي HR في الدراسة الحالية لوجود المعادن الانتقالية مثل المنغنيز والنيكل على سطح الدقائق وهذه النتائج تتفق مع (Cavallari *et al.*,2008) ، فهناك علاقة بين استنشاق الدقائق الغبارية الحاوية على المعادن الانتقالية وتولد جذور الأوكسجين التفاعلية (ROS) (Maciejczyk &Chen,2005) ، وتوجد علاقة بين التعرض للمعادن الانتقالية وحصول تغيرات في الأعصاب اللاإرادية للقلب في الفئران (Lippmann *et al.*, 2006).

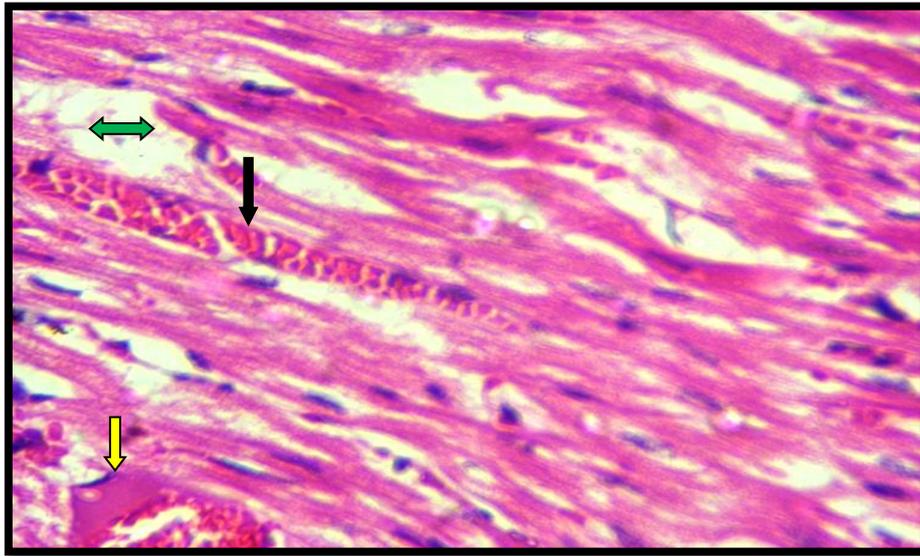
11-4 التغيرات النسيجية Histological changes

1-11-4 تأثير الغبار على نسيج عضلة القلب :

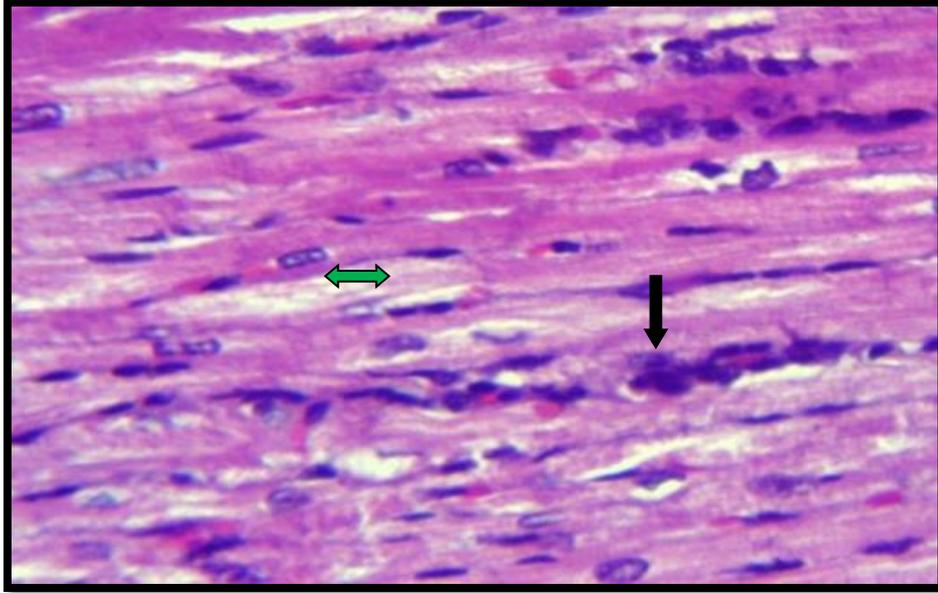
يلاحظ من الصورتين (2-4) و (3-4) عدم انتظام المقطع العضلي للقلب وحصول احتقان دموي Congestion وحالة استسقاء Edema وتنكس خلايا الليف العضلي Degeneration وحصول تفجي Vaculation و ارتشاح التهابي Inflammatory infiltration بعد التعرض للغبار لمدة 30 يوم , أما الصورة (4-4) فيلاحظ فيها حصول حالة التليف بعد التعرض للغبار لمدة 60 يوم , بالمقارنة مع صورة (1-4) التي تمثل نسيج عضلة القلب في مجموعة السيطرة .



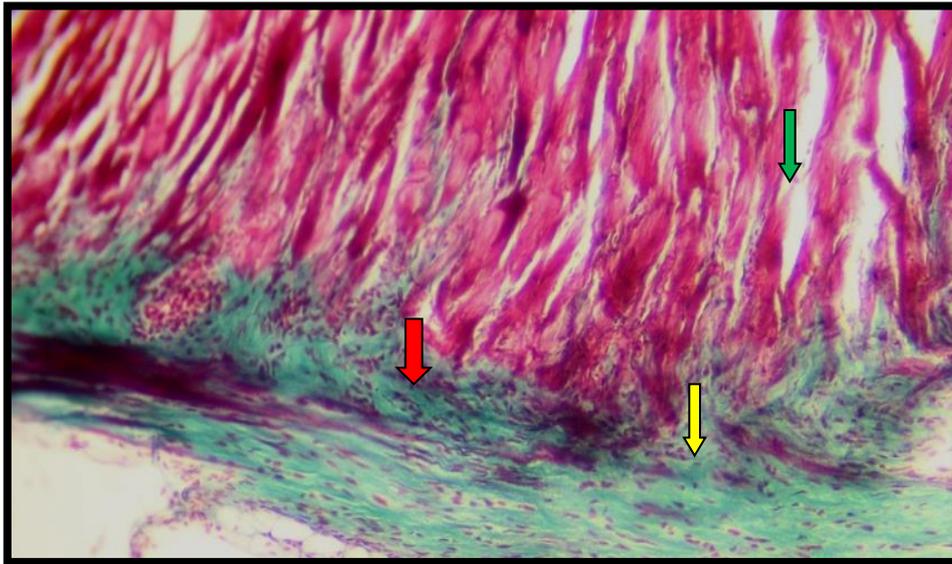
صورة (1-4) مقطع في نسيج عضلة القلب لذكر جرذ من مجموعة السيطرة نلاحظ فيها الالياف المخططة اللارادية. (H&E 100X)



صورة (2-4) مقطع في نسيج القلب لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهر يبين الاحتقان الدموي Congestion تنكس خلايا الليف العضلي Degeneration والاستسقاء Edema . (H&E 100X)



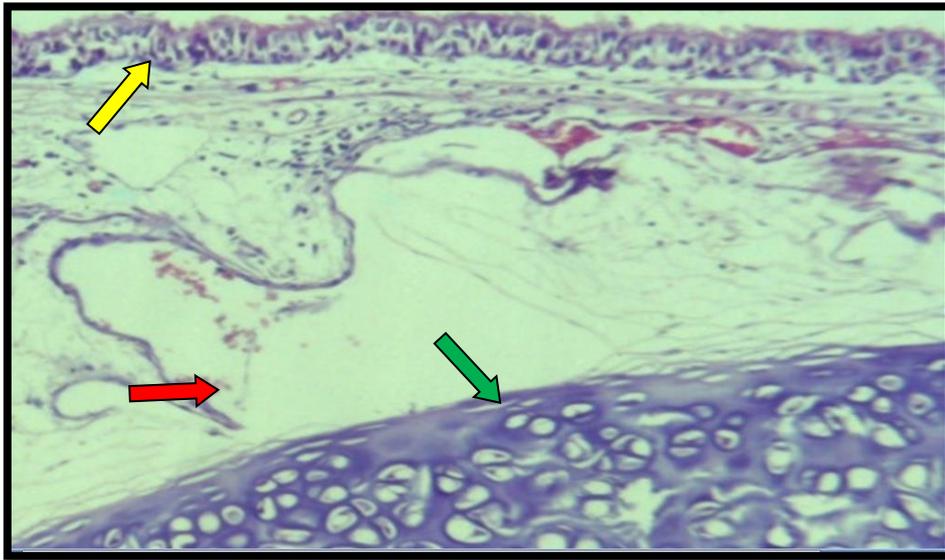
صورة (3-4) مقطع في نسيج القلب لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهر نلاحظ فيها تنكس خلايا الليف العضلي Degeneration ← و الارتشاح الالتهابي Inflammatory infiltration ↓.
(H&E 100X)



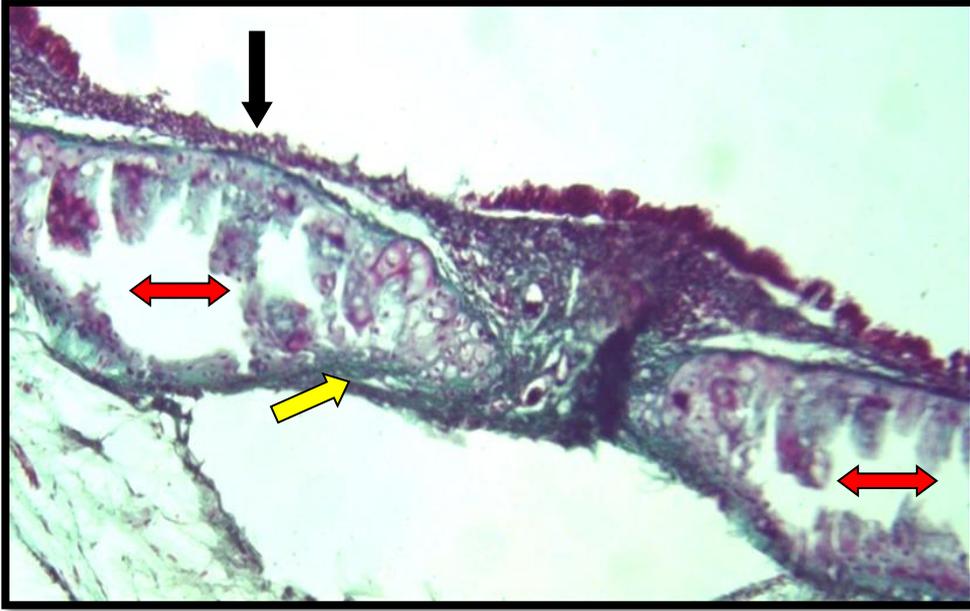
صورة (4-4) مقطع في نسيج القلب لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهرين يبين تنكس خلايا الليف العضلي Degeneration ↓ وزيادة الالياف وزيادة الانوية القلبية ↓.
(Gomori s One-Step Trichrome Stain 100X)

2-11-4 تأثير الغبار على نسيج القصبة الهوائية :

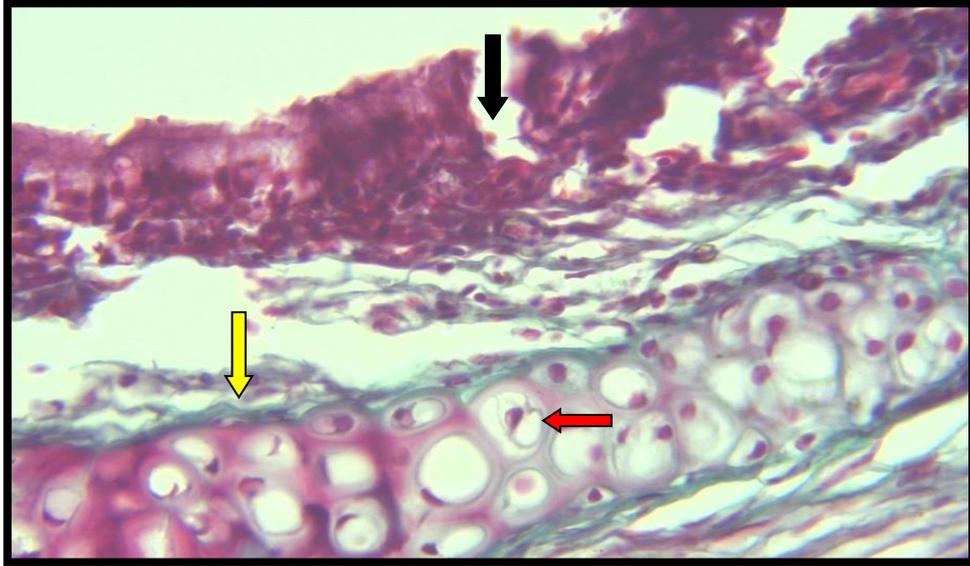
تبين الصورة (4-5) مقطعاً في نسيج القصبة الهوائية لمجموعة السيطرة , إذ يلاحظ فيه الطبقة الظهارية العمودية المطبقة الكاذبة المهدبة ciliated psedustratefid columnar epithelial tissue والطبقة تحت الظهارية والغضروف الزجاجي .
 أما في الصور (4-6) و(4-7) فيلاحظ فيها حصول انسلاخ النسيج الظهاري العمودي المطبق الكاذب وتحطمه مع تحطم في نسيج الغضروف الزجاجي وزيادة الألياف إذ تظهر زيادة في الصبغة الخضراء عند استخدام صبغة كوموري ثلاثي الألوان, في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار. مقارنة مع مجموعة السيطرة .



صورة (4-5) مقطعاً نسيجياً في القصبة الهوائية لمجموعة السيطرة يلاحظ فيه الطبقة الظهارية العمودية المطبقة الكاذبة المهدبة ciliated psedustratefid columnar epithelial tissue والطبقة تحت الظهارية والغضروف الزجاجي (H&E 40x)



صورة (4-6) مقطع في نسيج القصبة الهوائية لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهرين يلاحظ فيها تحطم في نسيج الغضروف الزجاجي للقصبة الهوائية ← وانسلاخ في النسيج الظهاري العمودي المطبق الكاذب ↓ وزيادة في الألياف ← (Gomori's One-Step Trichrome Stain 40X)



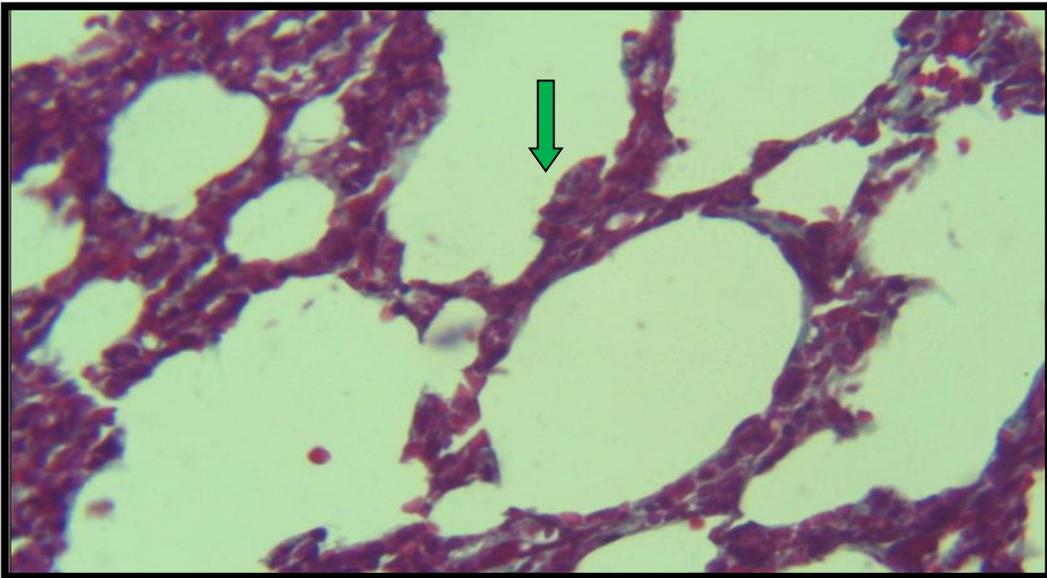
صورة (4-7) مقطع في نسيج القصبة الهوائية لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهرين تبين تحطم النسيج الظهاري ↓ وكبير في حجم الفجوات lacuna وصغر في حجم الخلية الغضروفية للغضروف الزجاجي للقصبة الهوائية ← وزيادة في الألياف ↓ (Gomori's One-Step Trichrome Stain 100X) .

3-11-4 تأثير الغبار على نسيج الرئتين :

تبين الصورة (4-8) مقطعاً في نسيج الرئة لمجموعة السيطرة , حيث يلاحظ فيه رقة جدران الاسناخ . أما في الصورتين (4-9) و(4-10) فيلاحظ فيهما حصول تثخن في جدران الاسناخ الهوائية Thickening the walls of the alveoli وارتشاح التهابي Inflammatory ونزف دموي Hemorrhage وحدث حالة استسقاء Edema. في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهر , أما الصورتين (4-11) و(4-12) فيلاحظ فيهما زيادة الألياف وحصول حالة التليف في مجموعة الجرذان المعرضة للغبار لمدة شهرين مقارنة مع مجموعة السيطرة .

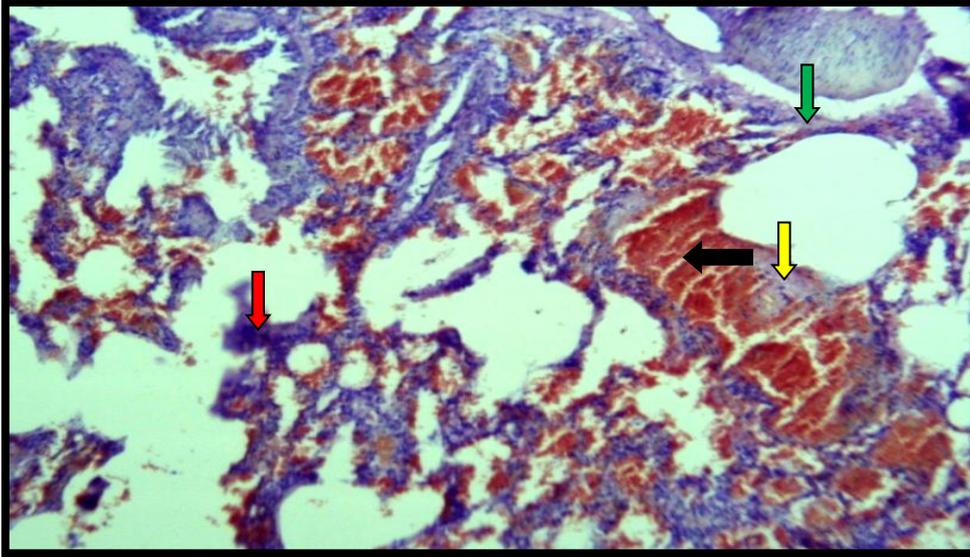


صورة (4-8) مقطع في نسيج الرئة لجرذ من مجموعة السيطرة يلاحظ فيه رقة جدران الاسناخ (H&E 100X) ↙

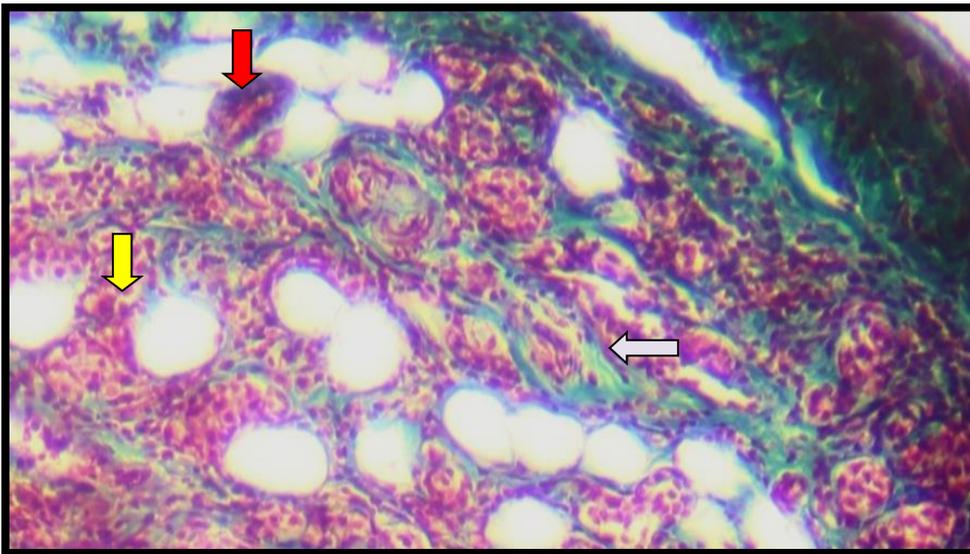


صورة (4-9) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهر تبين تثخن جدران

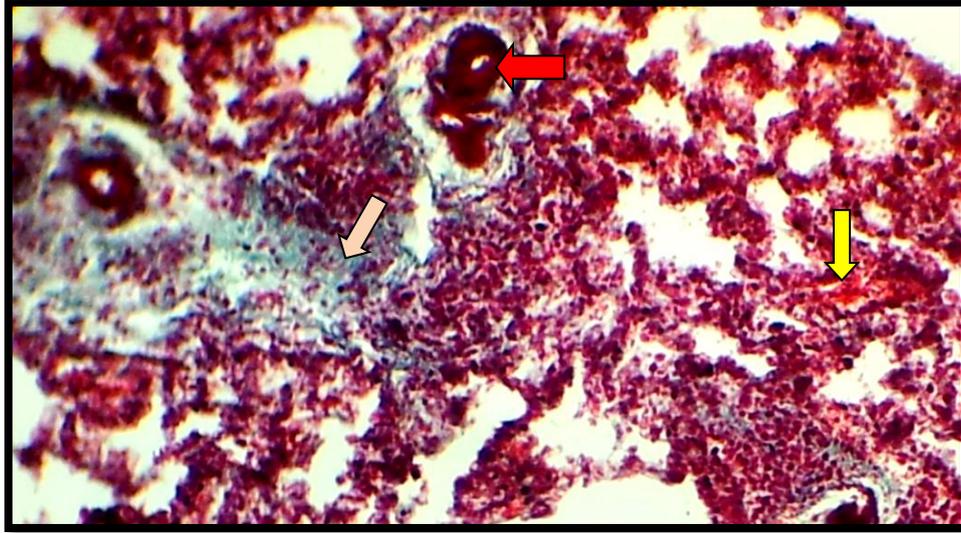
الاسناخ . (H&E 100X) ↓



صورة (4-10) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهر تبين حصول تثخن جدران الاسناخ وارتشاح التهابي Inflammatory infiltration و الاستسقاء Edema ونزف دموي داخل الاسناخ . (H&E 40X).



صورة (4-11) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهرين تبين حصول تثخن جدران الاسناخ وارتشاح التهابي Inflammatory infiltration وزيادة بالاليف و زيادة بالاليف (Gomori's One-Step Trichrome Stain 40X)



صورة (4-12) مقطع في نسيج الرئة لمجموعة الجرذان المعرضة للغبار 5 دقائق يوميا لمدة شهرين تبين حصول نزف دموي وخرثرة دموية ← زيادة بالألياف (Gomori's One-Step Trichrome Stain) (40X)

إن التعرض للدقائق الحاوية على العناصر الثقيلة أو الهيدروكربونات العطرية نتيجة لقربها من الحركة المرورية يؤدي إلى زيادة الساييتوكينات الالتهابية و حدوث الإجهاد التأكسدي مما يؤدي إلى انخفاض قدرة مضادات الأكسدة وزيادة أكسدة الدهون غير المشبعة و هذا يؤدي إلى الضرر في أنسجة الرئتين وحصول تغيير شامل في بنية الحويصلات الرئوية وتجمع الخلايا البلعمية المحملة بالدقائق في الاسناخ وزيادة سمك أنسجة الرئة تمهيدا إلى تطور التليف التدريجي (Lei *et al.*, 2012). وتسبب الدقائق زيادة الالتهابات الرئوية وزيادة الإجهاد التأكسدي وتشكل الجذور الحرة داخل عضلة القلب مما يؤدي إلى زيادة الأكسدة والضرر الخلوي إذ تعمل الدقائق على تغيير نفاذية الأوعية الدموية مما يؤدي إلى حصول وذمة القلب (Cozzi *et al.*, 2006). ويعتقد أن إصابة القلب بعد التعرض للدقائق ناتجة من تنشيط بطانة الأوعية أو نتيجة لحصول الالتهابات الرئوية (Gadleski, 2006). ويؤدي التعرض للدقائق الغبارية الصغيرة إلى حصول الالتهابات الرئوية وزيادة الارتشاح الالتهابي وهذا يظهر بوضوح من خلال نضح السوائل إلى فضاء الاسناخ الرئوية وحصول الوذمة في الرئة ، وتساهم PM2.5 في تفاقم احتقان القلب وأمراض نقص تروية القلب (Rivero *et al.*, 2005). ويعود سبب حدوث الضرر لنسيج الرئة إلى الإجهاد التأكسدي الناتج من الارتفاع في تركيز العديد من جذور الأوكسجين الفعالة مثل جذورالهيدروكسيل (OH[•]) hydroxyl radicle وبيروكسيد الهيدروجين (H₂O₂) Hydrogen radical peroxide والسوبر اوكسايد Superoxidanion وبكميات تفوق قابلية دفاعات الأنسجة المضادة للأكسدة للتخلص من هذه

الجدور محدثا الضرر والتخريب في الأنسجة (Lin *et al.*, 2009) ، يرافقه تحطيم الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة إذ يتم الكشف عنها من خلال زيادة مستوى المالونديهايد وحصول الضرر الخلوي الذي يساهم في زيادة احتشاء عضلة القلب (Dick *et al.*, 2003) . و احتواء الدقائق بقطر 2.5 مايكرون (PM2.5) من المعادن يكون مصدراً مهماً لتوليد الأكسدة الخلوية و الآثار غير الصحية الأخرى (Maciejczyk *et al.*, 2010) . إذ إن الدقائق المتناهية الصغر (UFP) لها القدرة على إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية ROS وتسبب ضرراً في عضلة القلب واضطراب بطانة الأوعية الدموية (Wold *et al.*, 2006).

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

*CONCLUSIONS &
RECOMMENDATIONS*

الاستنتاجات

أُسْتُنْتِجَ من الدراسة الحالية :

أن التعرض المزمن للغبار أدى إلى تغيرات في المعايير الدمية المتمثلة

1- ارتفاع معنوي في أعداد كريات الدم الحمراء والهيموكلوبين ومعدل حجم خلايا الدم المرصوفة والأقراص الدموية وأعداد خلايا الدم البيضاء, مع انخفاض معنوي في حجم خلايا الدم MCV وارتفاع معنوي في MCHC .

والوظيفية في حصول حالة Bradycardia بالإضافة إلى انخفاض معنوي في مستوى النحاس والحديد مع ارتفاع معنوي في الرصاص و الكادميوم في مصل دم الجرذان , وزيادة في التروبونين وارتفاع معنوي في مستوى الكلوكوز و MDA و-ONOO وانخفاض معنوي في GSH .

2- حصول تغيرات نسجية في القلب والقصبة الهوائية والرئتين تمثلت بالنزف الدموي وحصول خثرة والارتشاح الالتهابي وتثخن في جدران الاسناخ الهوائية بالإضافة إلى حصول حالة التليف بعد مرور شهرين التعرض المزمن للغبار .

التوصيات

- 1- إجراء دراسة وراثية لمعرفة تأثير الغبار على الجينات والحيوانات المنوية الذكرية .
- 2- إجراء دراسة نسجية ووظيفية لمعرفة تأثير الغبار على الجهاز العصبي .
- 3- إجراء دراسة نسجية ووظيفية لمعرفة تأثير الغبار على الكبد والكلية والطحال .

المصادر

REFERENCES

أولاً : المصادر العربية :

- الثويني , منتهى نعمة,السلمان , ابراهيم مهدي عزوز,مهدي,جنان حسين(2013).تقدير تراكيز العناصر الثقيلة في المتبقيات الصلبة وغبار الارصفة من شوارع مدينة بغداد,مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية ,المجلد(26) العدد(2) .
- الجبوري , صبا حافظ مهدي , (2012) تقدير كمية انبعاث الغبار من الترب المتعرية في مناطق مختارة من العراق. الماجستير, قسم علوم الجو/كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية.
- خالد , عمر ليث , (2009) تحديد مناطق مصادر العواصف الغبارية في العراق بأستخدام بيانات TOMS والبيانات السطحية الأثوائية , رسالة ماجستير, الجامعة المستنصرية , كلية العلوم, ص 1 – 82 .
- ذياب ,دينا سعدون وتوما,باسم شابا وخضير ,خالصة كاظم (2009). تأثير بيروكسيد الهيدروجين على كفاءة عمل العضلة القلبية في ذكور الارانب .رسالة ماجستير,كلية الطب البيطري.جامعة بغداد.
- الساهوكي,مدحت .ووهيب ,كريمة محمد . (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب، جامعة بغداد .
- السلمان , ابراهيم مهدي,المثناني , عبد السلام, علي, سعدة معتوق(2011). تقييم نوعية وكمية الغبار العالق ودوره في تلوث هواء بيئة المدن الصحراوية,مجلة جامعة الكوفة,عدد خاص عن مؤتمر العلمي الاول - كلية التربية للبنات,جامعة الكوفة- العراق (24-25) نيسان .
- السلمان , ابراهيم مهدي, عيسى,انعام خلف , الثويني,منتهى نعمة (2012) .دراسة نوعية لغبار الارصفة في منطقتين من مدينة بغداد,المؤتمر العلمي الاول - لكلية التربية للعلوم الصرفة ,جامعة كربلاء- العراق 2012/5/28 .
- الشمري,عامر موسى جودة (1999). دراسة في تحديد تراكيز الملوثات الاساسية في هواء مدينة النجف الأشرف. رسالة ماجستير – كلية القائد للتربية للبنات – جامعة الكوفة.
- الشمري , عماد مطير خليف ,فتحي در دار ,نهاد خضير كاظم الكناني (2012) . البيئة والتلوث دراسه للتلوث البيئي في العراق , مطبعة الأيك, بغداد , 198- 213 .
- العبيدي , عبد الوهاب حسين محمد علي (2002) .تأثير الغبار على قياسات الأقمار الاصطناعية نوع لاند سات , رسالة ماجستير, الجامعة المستنصرية , كلية العلوم, ص 6 – 7 .
- علي ,سعدة معتوق,(2008) دراسة تأثير المتبقيات الصلبة والغبار على سكان مدينة سبها ,رسالة ماجستير ,قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة سبها /ليبيا.

- المالكي، ميثم عبد الله (2005). دراسة ملوثات الهواء والماء والتربة في مدينة بغداد باستخدام نظام المعلومات الجغرافية GIS. أطروحة دكتوراه ، قسم علوم الأرض_كلية العلوم/ جامعة بغداد.
- محمود , داود شاكر وساجدة علي .(2010) توزيع ظاهرة الغبار في العراق , الهيئة العامة لأنواء الجوية والرصد الزلزالي , بغداد, ص1-25 .
- موسى، علي حسن (2000) التلوث البيئي. دار الفكر / دمشق، دار الفكر المعاصر / بيروت، الطبعة الأولى.

ثانيًا : المصادر الأجنبية :

- Afridi, HI.; Kazi, TG.; Kazi, N.; Jamali MK.; Arain MB.; Jalbani N;
(2008) Evaluation of status of toxic metals in biological samples of diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract*; 80:280-288; <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2007.12.021>
- Akinbami,L.J. ; Lynch, C.D. ; Parker, J.D. and Woodruff T.J. (2010)
The association between childhood asthma prevalence and monitored air pollutants in metropolitan areas,United States.*Environ Res*110:294-301.
- Alhassan, A.J.; Sule, M.S.; Atiku, M.K.; Wudil, A.M.; Dangambo, M.A.; Mashi, J.A. and Ibrahim N.A., (2012).Study of Correlation Between Heavy Metal Concentration , Street Dust and Level of Traffic in Major Roads of Kano Metropolis,Nigeria,Nigerian Journal of Basic and Applied Science. 20 (2):161-168.
- Allen, R.W.;Criqui, M.H.;Diez Roux, A.V.;Allison, M. and Shea S. (2009) Fine particulate matter air pollution, proximity to traffic and aortic atherosclerosis. *Epidemiology*. 20:254-64.
- André, E.; Stoeger, T.; Takenaka, S.; Bahnweg, M.; Ritter, B.; Karg, E.;Lentner, B.; Reinhard, C.; Schulz, H. and Wjst, M.(2006) Inhalation of ultrafine carbon particles triggers biphasic pro-inflammatory response in the mouse lung. *Eur Respir J*,28 (2):275-85.

- Antonini, J. ; Jenny, R.; Rebecca, C.; Joleen, S.; Andrew, G. and Krishnan S. (2010) "Pulmonary toxicity and extrapulmonary tissue distribution of metals after repeated exposure to different welding fumes." *Inhalation Toxicology*, 22(10): 805-816.
- Araujo, J.A.; Barajas, B.; Kleinman, M.; Wang, X.; Bennett, B.J.; Gong, K.W.; Navab, M.; Harkema, J.; Sioutas, C.; Lulis, A.J. and Nel, A.E. (2008) Ambient particulate pollutants in the ultrafine range promote early atherosclerosis and systemic oxidative stress. *Circ Res*. 102:589–596.
- Araujo, J.A. and Nel, A.E. (2009) Particulate matter and atherosclerosis : role of particle size, composition and oxidative stress. *Part Fibre Toxicol*, 6 (24).
- Araya, J. & Nishimura, S.L. (2010) Fibrogenic reactions in lung disease. *Annual Review of Pathology*, (5): pp77-98.
- Atkinson, R.W.; Carey, I.M.; Kent, A. J.; van Staa, T.P.; Anderson H.R. and Cook D.G. (2014) Long-term exposure to outdoor air pollution and the incidence of chronic obstructive pulmonary disease in a national English cohort, *Occup Environ Med*, 0:1-7.
- Bathnagar, A. (2006) Environmental cardiology. Studying mechanistic links between pollution and heart disease. *Cir Res*, 99:692-705.
- Baccarelli, A.; Zanobetti, A.; Martinelli, I.; Grillo, P.; Hou, L.; Giacomini, S.; Bonzini, M.; Lanzani, G.; Mannucci, P.M.;

- Bertazzi, P.A. and Schwartz J. (2007) Effects of exposure to air pollution on blood coagulation. *J Thromb Haemost.* 5:252–260.
- Baccarelli, A.; Martinelli, I.; Zanobetti, A.; Grillo, P.; Hou, L.F.; Bertazzi, P.A.; Mannucci, P.M. and Schwartz J. (2008) Exposure to particulate air pollution and risk of deep vein thrombosis. *Arch Intern Med*; 168:920–927.
- Bancroft, J.D. and Steven, A. (1982) Theory and practice of histological technique. Second edition. Churchill Livingstone, Edinburgh. xiv-662.
- Becton-Dickinson, (1996) Unopette WBC/Platelet determination for manual methods. Rutherford, N.J.: Becton, Dickinson, and Company.
- Beuge, J. A.; Aust, S.D. (1978) "Estimation of Serum Malondialdehyde Level". *Methods in Enzymology*. Academic Press. London, 51:302p.
- Bernstein, J.; Neil, A. ; Barnes, Ch. ; Bernstein, L. ; Bernstein, J. ; Nel, A.; Peden, D. ; Diaz, S.D.; Tarlo, S. & Williams, B. (2004) Health effects of air pollution. *Environmental and Occupational Respiratory Disorders*, 114 (5): pp. 1116 -1123.
- Bhatnagar, A. (2006) Environmental cardiology. Studying mechanistic links between pollution and heart disease. *Cir Res*; 99:692–705.

- Bondier, J-R.; Michel G. and Propper A. (2008). "Harmful Effects of Cadmium on olfactory System in Mice." *Inhalation Toxicology*, 20: 1169-1177.
- Bradford, A.(2007) The role of hypoxia and platelets in air travel-related venous thromboembolism. *Curr Pharm Des*;13:2668-2672.
- Brunekreef, B.; Forsberg, B. (2005) Epidemiological evidence of effects of coarse airborne particles on health. *Eur Respir J*, 26 (2) : 309–318.
- Brook, R.D.; Franklin, B.; Cascio, W.; Hong, Y.; Howard, G.; Lipsett, M.; Luepker, R.; Mittleman, M.; Samet, J.; Smith, SC Jr. and Tager I.(2004) .Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. *Circulation*, 109 (21): 2655–2671.
- Brook, RD.; Urch, B.; Dvonch, JT.; Bard, RL.; Speck, M.; Keeler, G.; Morishita, M.; Marsik, FJ.; Kamal, AS.; Kaciroti, N.; Harkema, J.; Corey, P.; Silverman, F.; Gold, DR.; Wellenius, G.; Mittleman, MA.; Rajagopalan, S. and Brook, JR.(2009). Insights into the mechanisms and mediators of the effects of air pollution exposure on blood pressure and vascular function in healthy humans. *Hypertension*;54(3):659–667.
- Brook, RD.; Rajagopalan, S.; Pope, CA.; Brook, JR.; Bhatnagar, A.; Diez-Roux, AV.; Holguin, F.; Hong, Y.; Luepker, RV.; Mittleman, MA.; Peters, A.; Siscovick, D.; Smith, SC Jr.; Whitsel, L. and Kaufman, JD. (2010). Particulate matter air

pollution and cardiovascular disease: an update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*;121(21):2331–2378.

Burri, H.; Chevalier, P.; Fayn, J.; Forlini, M.C.; Rubel, P. and Touboul, P. (2006) Beat-to-beat variations of the electrocardiogram in survivors of sudden death without structural heart disease. *J Electrocardiol*; 39: 310-314.

Budden, R.; Buschmann, G. & Kuhl, V.G. (1980) The rat ECG in acute pharmacology and toxicology. In: Budden R., Detweiler D.K. & Zbinden, G. (Eds.), the rat electrocardiogram in pharmacology and toxicology. Pergamon press,Oxford: pp42-81.

Carlsten, C.; Dybuncio, A.; Becker, A.; Chan-Yeung, M.and Brauer M. (2011). Traffic-related air pollution and incident asthma in a hig risk birth cohort. *Occup Environ Med* 68: 291-295.

Cavallari, J.M.; Eisen, E.A.; Fang, S.C.; Schwartz, J.; Hauser, R.; Herrick,R.F. and Christiani, D.C.(2008) PM2.5 metal exposures and nocturnal heart rate variability: a panelstudy of boilermaker construction workers,*Environmental Health*,7(36):1-8.

Cao, J.;Yang, C.; Li, J.; Chen, R.; Chen, B.; Gu, D.and Kan H. (2011) Association between long-term exposure to outdoor air pollution and mortality in China: a cohort study. *J Hazard Mater*,186:1594–1600.

- Chen, L.C.; Hwang, J.S. (2005) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. IV. Characterization of acute and chronic effects of ambient air fine particulate matter exposures on heart-rate variability. *Inhal Toxicol*; 17:209–216.
- Chen, L. C. & Nadziejko, C. (2005) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. V. CAPs exacerbate aortic plaque development in hyperlipidemic mice. *Inhalation Toxicology*, 17(4-5): pp. 217-224.
- Chi-Chen, L.and Lippmann M.(2009) "Effects of Metals within Ambient Air Particulate Matter (PM) on Human Health." *Inhalation Toxicology*,21:1-31.
- Chen, H.; Goldberg, M. S. and Viileneuve, P. J. (2008) “A systematic review of the relation between long-term exposure to ambient air pollution and chronic diseases,”*Reviews on Environmental Health*, 23(4): pp. 243–297.
- Chuang, K.J.; Chan, C.C.; Su, T.C.; Lee, C.T.and Tang, C.S. (2007).Urban air pollution on inflammation, oxidative stress, coagulation and autonomic dysfunction in young adults. *Am J Respir Crit Care Med*, 176(4) : 370–376.
- Chuang, K.J.; Chan C.C., Su T.C., et al. (2007).The effect of urban air pollution on inflammation, oxidative stress, coagulation, and

- autonomic dysfunction in young adults. *Am J Respir Crit Care Med*;176(4):370–376.
- Cozzi, E.; Hazarika, S.; Stallings, H.W.; Cascio, W.E.; Devlin, R.B.; Lust, R.M.; Wingard, C.J. and Van Scott, M.R. (2006) Ultrafine particulate matter exposure augments ischemia-reperfusion injury in mice, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 291: H894–H903.
- Corey, L.M.; Baker, C. and Luchtel, D.L. (2006) Heart-rate variability in the apolipoprotein E knockout transgenic mouse following exposure to Seattle particulate matter. *J Toxicol Environ Health A*; 69: 953–965.
- Cornejo, P.; Varela, P.; Videla, L.A. and Fernandez, V. (2005) Chronic iron overload enhances inducible nitric oxide synthase expression in rat liver-Nitric oxide, 13:54-61.
- Cristiana-Zizi, R.; Zorica, B.; Stoian, E.V.; Poinescu, A.A.; Ungureanu, D.N. and Fluieraru, C.P. (2011). Heavy metals trace element analysis by X-Ray fluorescence (XRF) spectrometry in eaf dust, *International Journal of Energy and Environment*: 5.(4).PP503-511.
- Datta, A.; Scotton, C.J. & Chambers, R.C. (2011) Novel Therapeutic Approaches for Pulmonary Fibrosis. *British Journal of Pharmacology*. Epub ahead of print, 163(1):141-172.
- Davis, C.W. & Dicker, B.E. (2008) Regulated Airway Goblet Cell Mucin Secretion. *Annual Review of Physiology*, 70: pp.487-512.

- Dalal,P.;Chaudhry,D.and Shukla,V. (2013) Analysis of heavy metals concentration in ambient air and in human population of Rohtak,India, *Journal of Environmental Biology*,34:945-949.
- Dalton, TP.; He, L.; Wang B.; Miller ML.; Jin L.; Stringer KF.(2005) Identification of mouse SLC39A8 as the transporter responsible for cadmium-induced toxicity in the testis. *Proc Natl Acad Sci USA*;102:3401-3406. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0406085102>
- Dacie,V. & Lewis,S.M. (1995) *Practical Hematology*.2nd.ed. Philadelphia,Tokyo,352-354.
- Deng, F.; Huang, J.;Wang, H.; Shima, M.; Wang, X.; Qin, Y.;Zheng, C.; Wei, H.; Hao, Y.; Lv, H.; Lu, X.and Guo, X. (2013).Blood pressure changes and chemical constituents of particulate air pollution:results from the healthy volunteer natural relocation study. *Environ Health Perspect*, 121(1):66–72.
- Delfino, R. J.; Sioutas, C. & Malik, S. (2005) Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particle mass and cardiovascular health.*Environmental Health Perspectives*;113 (8) 934-946.
- Dominici, F.; Peng, RD; Barr, CD; Bell, ML. (2010) Protecting human health from air pollution: Shifting from a single-pollutant to a multipollutant approach. *Epidemiology* 21: 187-194.

Donaldson, K.; Mills, N.; MacNee, W.; Robinson, S. & Newby, D. (2005) Role of inflammation in cardiopulmonary health effects of PM. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207 (2):pp.483-488.

Donaldson, K.; Tran, L.; Jimenez, LA.; Duffin, R.; Newby, DE.; Mills, N.; MacNee, W. and Stone, V. (2005). Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure. *Part Fibre Toxicol*; 2(10):pp1-14.

Dolan, L.M.J.; van Bohemen, H.; Whelan, P.; Akbar, K.F.; O'Malley, V.; O'Leary, G. and Keizer, P.J. (2006) Towards the Sustainable Development of Modern Road Ecosystem. In: *The Ecology of Transportation Managing Mobility for the Environment*, Davenport J. and J.L. Davenport (Eds.). Springer Netherlands, UK., 10:pp.275-331. Environment. htm. Environment and health. Agius . com domain <http://www.agius.com/P1-4>.

Dvonch, J.T.; Kannan, S.; Schulz, A.J.; Keeler, G.J.; Mentz, G.; House, J.; Benjamin, A.; Max, P.; Bard, R.L. and Brook R.D. (2009). Acute effects of ambient particulate matter on blood pressure: differential effects across urban communities. *Hypertension*, 53(5):853–859.

Dvonch, J. T.; Kannan, S.; Schulz, A. J.; Keeler, G. J.; Mentz, G.; House, J.; Benjamin, A.; Max, P.; Bard, R.L. and Brook R.D., (2009). Acute Effects of Ambient Particulate Matter on Blood Pressure Differential Effects Across Urban Communities, *American Heart Association*; 53:853-859.

- Dyavanapalli, J.; Rimmer, K. & Harper, A. A. (2010) Reactive oxygen species alters the electrophysiological properties and raises [Ca²⁺] in intracardiac ganglion neurons. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*; 299 (1):42-54.
- Eder, K. and Kirchgessner, M. (1997) Concentrations of lipids in plasma and lipoproteins and oxidative susceptibility of low-density lipoproteins in zinc-deficient rats fed linseed oil or olive oil. *J. Nutr. Biochem.* 8(8):461-468.
- Ehi-Eromosele, C.O.; Adaramodu, A.A.; Anake, W.U.; Ajanaku, C.O. and Edobor-Osoh, A. (2012). Comparison of Three Methods of Digestion for Trace Metal Analysis in Surface Dust Collected from an Ewaste Recycling Site, *Nature and Science*; 10 (10).42-49.
- El Muayed, M.; Raja, M R.; Zhang X.; MacRenaris K W.; Bhatt S.; Chen X.; Urbanek M.; O'Halloran T V. and Lowe W L. (2012) Accumulation of cadmium in insulin-producing β cells ; *Islets* 4(6): 405 -416.
- Evans, S.A.; AL-Mosawi, A.; Adams, R.A. and Berube K.A. (2006). Inflammation, edema and peripheral blood changes in lung-compromised rats after instillation with combustion-derived and manufactured nanoparticles *Exp Lung Res*; 32: 363-378.

- Ferrari, R.; Ceconi, C.; Curello, S.; Cargnoni, A.; De Giuli, F. and Visioli, O. (1992). Occurrence of oxidative stress during myocardial reperfusion. *Mol. Cell. Biochem.* 111(1-2): 61-69.
- Flouris, A.D.; Metsios, G.S.; Carrillo, A.E.; Jamurtas, A.Z.; Gourgoulianis, K.; Kiropoulos, T.; Tzatzarakis, M.N.; Tsatsakis, A.M. and Koutedakis, Y. (2009). Acute and short-term effects of secondhand smoke on lung function and cytokine production. *Am J Resp Crit Care*, 179:1029–1033.
- Fortoul, T.I. ; Rodriguez-Lara, V. ; Lopez-Valdez, N. & Falcon-Rodriguez, C.I. (2010). Sistema Respiratorio, In: *Histologia y Biologia Celular*. T.I. Fortoul van der Goes, (Ed.), McGraw-Hill: 187-195.
- Francini, M. and Mannucci, P.M. (2007). Short-term effects of air pollution on cardiovascular diseases: outcomes and mechanisms. *J Thromb Haemost*; 5:2169 –74.
- Ghio, A.J.; Hall, A.; Bassett, M.A.; Cascio, W.E.; Devlin, R.B. (2003) Exposure to concentrated ambient air particles alters hematologic indices in humans, *Inhal Toxicol*, 15(14):1465-1478.
- Ghelfi, E.; Rhoden, C.R.; Wellenius, A.G.; Lawrence, J.; and Gonzalez-Flecha, B. (2008) Cardiac oxidative stress and electrophysiological changes in rats exposed to concentrated ambient particles are mediated by TRP-Dependent pulmonary reflexes, *Toxicological sciences* , 102(2):328-336.

- Godleski, JJ. (2006) Responses of the heart to ambient particle inhalation. *Clin Occup Environ Med* 5:849–864.
- Golalipour, M.J.; Roshandel, D.; Roshandel, G.; Ghafari, S.; Kalavi, M. and Kalavi, K.(2007) Effect of Lead Intoxication and D-Penicillamine Treatment on Hematological Indices in Rats, *Int. J. Morphol.*, 25(4):717-722.
- Guyton, A.C.& Hall, J.E. (2006). *Textbook of Medical Physiology* (11 th ed.). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders:pp1116.
- Gurgueira, SA.; Lawrence, J.; Coull, B.;Murthy, GGK.and Gonzalez-Flecha, B.(2002). Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation. *Environ Health Perspect*; 110(8): 749-755.
- Halliwell, B. (2001). Free Radicals and other reactive species in Disease, *Encyclopedia of life sciences*, 7 (1):pp1-7
- Hansen,L.(2006).Gomorirapid one step trichrome stain; origin: *Am.J. Clin. Pathol.*1950, 20:661-63.
- Heidorn, K.C. (2002).”Dust in the wind” weather Almanac:june,http:

[//www.islandnet.com/see/weather/almanac/are2002/almo2jum.htm](http://www.islandnet.com/see/weather/almanac/are2002/almo2jum.htm).

Hildebrandt, K.; Rückerl, R.; Koenig, W.; Schneider, A.; Pitz, M.; Heinrich, J.; Marder, V.; Frampton, M.; Oberdörster, G.; Wichmann, H.E. and Peters A. (2009). Short term effects of air pollution: a panel study of blood markers in patients with chronic pulmonary disease. Part Fibre Toxicol; 6: 25.pp1-13.

Hillman, R.S. and Ault, K.A. (2002). Haematology in clinical practice .3rd.ed. McGraw-Hill. Companies, New York.

Hoffmann, B.; Moebus, S.; Mohlenkamp, S.; Stang, A.; Lehmann, N.; Dragano, N.; Schmermund, A.; Memmesheimer, M.; Mann, K.; Erbel, R. and Jockel, K.H. (2007). Residential exposure to traffic is associated with coronary atherosclerosis. Circulation.; 116:489–496.

Hoek, G.; Krishnan, R.M.; Beelen, R.; Peters, A.; Ostro, B.; Brunekreef, B. and Kaufman, J.D. (2013). Long-term air pollution exposure and cardio-respiratory mortality: a review, Environmental Health, 12:43.pp2-15.

Hodges, L., 1973, "Environmental pollution Survey emphasizing physical and chemical principles ", New York, Holt Rinehart and Winston.

- Humason,G.L.(1979). Animal tissue technique.(4th ed). W.H. freeman Co., San Francisco, 661-xiii.
- Huang, W.; Zhu, T.; Pan, X.; Hu, M.; Lu, S. E.;Lin,Y.; Wang, T.; Zhang, Y. and Tang, X. (2012).Air Pollution and Autonomic and Vascular Dysfunction in Patients With Cardiovascular Disease:Interactions of Systemic Inflammation, Overweight, and Gender, College of Environmental Sciences and Engineering and Centre for Environment and Health, Peking University,American Journal of Epidemiology.176(2):117-126.
- Hwang, B.F.;Lee,Y.L.;Jaakkola, J.J.(2011).Air pollution and stillbirth : a populationbased case – control study in Taiwan . Environ Health Perspect, 119:1345–1349.
- Javed, M. and Mahmood, G. (2001). Metal toxicity of water in a stretch of river Ravi from Shahdera to Baloki headworks, Pakistan. J. Agric. Sci., 38: 37 – 42.
- Jain, NB.;Laden, F.;Culler, U.; Shankar, A.; Kazani, S.and Garshick, E.(2005).Relation between blood lead levels and childhood anemia in India. Am J Epidemiol, 161:968-73.
- Juranek, J.and Bezek, S. (2005).Controversy of the free radical Hypothesis:reactive oxygen species-Causesor consequence of tissue injury- Gen physiol Biophys, 24(3):263-278.
- Katzung, B.G. (2001). “Nitric Oxide, Donors and Inhibitors. In : Basic and Clinical Pharmacology”.8thed. Lange Medical Books/

McGraw-Hill Medical Publishing Division , New York,PP. 326 - 332.

Karthikeyan, S.; Balasubramanian, R.and Iouri,K. (2006). "Particulate air pollution from bushfires: human exposure and possible health effects." *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 69(21): 1895-1908.

Kerksick,C. and Willoughby,D. (2005).The antioxidant vole of glutathione and N-Acetyl-Cysteine Supplements and exercise-Induced oxidative strees.*J.Int.Soc.Sports.Nutr.*,2(2):38-44.

Knaapen, M.; Borm, P.J.A.;Albrecht, C. and Schins, R. (2004)."Mini Review: Inhaled particles and lung cancer. Part A: Mechanisms." *International Journal of Cancer*:109: 799-809.

Kooter, I.M.; Boere, A. J. F.; Fokkens, P.H.B.; Daan, LAC.; Leseman, AMA.; Dormans, J. and Cassee, F.R. (2006).Response of spontaneously hypertensive rats to inhalation of fine and ultrafine particles from traffic: experimental controlled study,*Particle and Fibre Toxicology*, 3:7.pp1-14.

Konkel, L. (2009). "Heavy Metal: Some Airborne Particles Pose More Dangers than Others." *Environmental Health News* .
<http://www.environmentalhealthnews.org/ehs/news/metal-particles> .

Kodavanti, U.P.;Schladweiler, M.C.;Ledbetter, AD.; McGee, JK.; Walsh, L.;Gilmour, PS.; highfill, JW.; Davies, D.; Pinkerton, KE.; Richards,JH.; Crissman, K.; Andrews, D.and Costa, D.L. (2006). Consistent Pulmonary and Systemic Responses from

- Inhalation of Fine Concentrated Ambient Particles: Roles of Rat Strains Used and Physicochemical Properties ,*Environ Health Perspect*,113:1561-1568.
- Kumar, A. & Cannon, C.P. (2009).Acute coronary syndromes: diagnosis and management, part I. *Mayo Clin Proc*;84: 917- 38.
- Kunnaths, S.S. and Jean, C. M. (1981). A rapid electrothermal atomic absorption Spectrophotometric method for cadmium and lead in human whole blood. *Clin. CHE.*, 27: 1866-1871.
- Lai, H.K.; Hedley, A.J.; Repace, J.; So, C.; Lu, Q.Y.; McGhee, S.M.;Fielding,R.and Wong,C.M. (2011).Lung function and exposure to workplace second-hand smoke during exemptions from smoking ban legislation: an exposure-response relationship based on indoor PM2.5 and urinary cotinine levels. *Thorax*, 66:615–623.
- Lai, H.-K.; Tsang, H . and Wong, C. M. (2013).Meta-analysis of adverse health effects due to air pollution in Chinese Populations,*BMC Public Health*.13.360.
- Laumbach, R.J.; Rich, D.Q.; Gandhi, S.; Amorosa, L.; Schneider, S.; Zhang, J.; Ohman-Strickland, P.; Gong, J.; Lelyanov, O.and Kipen,HM. (2010).Acute changes in heart rate variability in subjects with diabetes following a highway traffic exposure. *J Occup Environ Med*, 52(3):324–331.

- Lanki, T.; Pekkanen, J.; Aalto, P.; Elosua, R.; Berglind, N.; Ippoliti, D.; Kulmala, M.; Nyberg, F.; Peters, A.; Picciotto, S.; Salomaa, V. and Forastiere, F. (2006). Associations of Sunyer J., Tiittanen P., von Klot S., traffic related air pollutants with hospitalisation for first acute-myocardial infarction: the HEAPSS study. *Occup Environ Med*; 63: 844–51.
- Lemaire, K.; Ravier, MA.; Schraenen, A.; Creemers, JW.; Van de Plas R.; Granvik M.; et al. (2009) Insulin crystallization depends on zinc transporter ZnT8 expression; but is not required for normal glucose homeostasis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 106:14872-14882.
- Lei, T; Wei ,Z; Zhi Qing, L; Hua Shan, Z; XI Zhu, Ge; Jian Hua CH; and Wei W. (2012) Impact of Traffic Emissions on Local Air Quality and the Potential Toxicity of Traffic-related Particulates in Beijing; *China Biomed Environ Sci*; 25(6): 663-671.
- Livingstone, C. and Davis, J. (2007). Review: Targeting Therapeutics against glutathione depletion in diabetes and its Complications, *The British Journal of Diabetes and disease, Vascular*. 7(6):258-265.
- Lippmann, M.; Ito, K.; Hwang, J.S.; Maciejczyk, P. and Chen, L.C. (2006). Cardiovascular effects of nickel in ambient air. *Environ Health Perspect*, 114(11):1662-1669.
- Lippmann, M. (2010). "Targeting the components most responsible for airborne particulate matter health risks." *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*: 117-118.

- Lin,Z.Q.; Xi,Z.G.; Yang,D.F.; Chao,F.H.; Zhang,H.S.; Zhang,W.; Liu,H.L.; Yang,Z.M.and Sun, R.B.(2009) Oxidative Damage to Lung Tissue and Peripheral Blood in Endotracheal PM2.5-treated Rats,Biomedic Aland Environmental Sciences. 22: 223-228.
- Luna, L.G. (1968). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology,Third edition McGraw–Hill Book, New York . Pp.93- 94 .
- Mann, J. K.; Tager, I.B.; Lurmann, F.; Segal, M. ; Quesenberry, ; Jr, Lugg, M.M.;Shan, J.and Eeden S.K V.D.(2002). Air pollution and hospital admissions for ischemic heart disease in persons with congestive heart failure or arrhythmia. Environ Health Perspect 110(12):1247–1252.
- Maciejczyk, P.and Chen, L.C. (2005).Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice . Sourcerelate Daily variations in vitro responses to CAPs. Inhal Toxicol , 17 (4-5): 243-253.
- Maciejczyk, P.; Zhong, M.; Lippmann, M.and Chen,L.C. (2010)." Oxidant generation capacity of source-apportioned PM 2.5." Inhalation Toxicology (Early Online): 22(S2).PP29-36.
- Mccreanor, J.;Cullinan, P.;Nieuwenhuijsen, M.J.; Stewart-Evans, J.; Malliarou, E.; Jarup, L.; Harrington, R.; Svartengren, M.; Han, I.K.;Ohman-Strickland, P.;Chung, K.F.and Zhang, J. (2007).

Respiratory effects of exposure to diesel traffic in persons with asthma. *N Engl J Med*; 357(23): 2348-2358.

McCracken, J.P.;Smith, K.R.; Díaz, A.; Mittleman, M.A.and Schwartz, J. (2007).Chimney stove intervention to reduce long-term wood smoke exposure lowers blood pressure among Guatemalan women. *Environ Health Perspect*;115:996 –1001.

Medina-Navarro, R; Lifshitz, A; Wachter N; Hicks JJ: (1997) Changes in human serum antioxidant capacity and peroxidation after four months of exposure to air pollutants. *Arch Med Res*; 28:205-208.

Meng, Z.Q.and Zhang, Q.X.(2006) Effects of dust storm fine particles instillation on oxidative damage in hearts, livers, lungs of rats, *Wei Sheng Yan Jiu*. 35(6):690-693. Abstract

Midander, K.; Pan, J.; Wallinder, O.I. and Leygraf, C. (2007). "Metal release from stainless steel particles in vitro - influence of particle size." *Journal of Environmental Monitoring*,9:74-81.

Miller, K.A.;Siscovick, D.S.;Sheppard, L.;Shepherd, K.;Sullivan, J.H.;Anderson,G.L.and Kaufman,J.D. (2007). Long – term exposure to air pollution and incidence of cardiovascular events in women. *N Engl J Med* 356(5): 447-458.

Min, K.B.; Min, J.Y.; Cho, S.I.and Paek, D. (2008).The relationship between air pollutants and heart-rate variability among community residents in Korea. *Inhal Toxicol*; 20:435–444.

- Mills, NL.; Donaldson, K.; Hadoke, PW.; Boon, NA.;MacNee, W.; Cassee, FR.;Sandström, T.;Blomberg, Aand Newby, DE. (2009). Adverse cardiovascular effects of air pollution , Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine,vol. 6, no.1, pp.3644.
- Mussali-Galante,P. & Fortoul, T.I. (2008). Atmospheric pollution, In:Environmental Research Progress, F.P. Maes, (Ed.), Nova Science Publishers, New York, USA:147-160.
- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and *in vivo*.Free Radical Biology & Medicine, 49(4):pp503-515.
- Nieboer, E.; Thomassen, Y.; Chashchin, V.and Odland, J.O. (2005). "Occupational exposure assessment of metals." Journal of Environmental Medicine: 7: 411-415.
- Oller, A.R. and Oberdorster, G. (2010)."Incorporation of particle size differences between animal studies and human workplace aerosols for deriving exposure limits." Regulatory Toxicology and Pharmacology: 57: 181-194.
- O'Neill, M.S.;Veves, A.;Zanobetti, A.; Sarnat, JA.;Gold, DR.; Economides, PA.; Horton, ESand Schwartz, J.(2005).Diabetes enhances vulnerability to particulate air pollution-associated impairment in vascular reactivity and endothelial function. Circulation;111(22):2913–2920.
- O'Toole, T.E.; Hellmann, J.; Wheat, L.; Haberzettl, P.; Lee, J.; Conklin, DJ.; Bhatnagar, Aand Pope, CA. (2010).Episodic

exposure to fine particulate air pollution decreases circulating levels of endothelial progenitor cells. *Circ Res*107(2): 200-203.

Panagiotakos, D.B.;Kromhout, D.; Menotti, A.;Chrysohoou, C.; Dontas, A.;Pitsavos, C.; Adachi, H.; Blackburn, H.; Nedeljkovic, S.and Nissinen, A. (2005).The relation between pulse pressure and cardiovascular mortality in 12,763 middle-aged men from various parts of the world. *Arch Intern Med*;165(18):2142–2147.

Patra, R.C.; Rautray, A.K.and Swarup, D. (2011).Oxidative Stress in Lead and Cadmium Toxicity and Its Amelioration, *Veterinary Medicine International*, pp 2-9.

Peters,A.; Veronesi, B.;Calderon-Garciduenasl, G.P.;Chen, L.C.; Geiser,M.; Reed, W.;Rothenrutishauser, B.; Schurch, S.and Schulz,H. (2006).Translocation and potential neurological effects of fine and ultrafine particles a critical update. Part *Fibre Toxicol*, 3: 1-13.

Peters, A.;Schneider, A.;Greven, S.;Bellander, T.;Forastiere, F.; Ibald-Mull, A.; Illig, T.; Jacquemin, B.;Katsouyanni, K.; Koenig, W.;Lanki, T.;Pekkanen, J.;Pershagen, G.;Picciotto, S.;Rückerl, R.;Rosario,A.S.; Stefanadis, C.and Sunyer, J. (2007).Air pollution and inflammatory response in myocardial infarction survivors:gene-environment interactions in a high-risk group. *Inhal Toxicol*,19:161-175.

- Pereira, C.E.L.; Heck, T.G.; Saldiva, P.H.N. and Rhoden, C.R. (2007). Ambient particulate air pollution from vehicles promotes lipid peroxidation and inflammatory responses in rat lung, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 40: 1353-1359.
- Pope, C.A. and Dockery, D.W. (2006). "Health effects of fine particle air pollution: lines that connect." *Journal of Air and Waste Management*: 56: 709-742.
- Pope, C. A.; Muhlestein, J.B.; May, H.T.; Renlund, D.G.; Anderson, J.L. and Horne, B.D. (2006). Ischemic heart disease events triggered by short-term exposure to fine particulate air pollution. *Circulation*; 114: 2443–8.
- Pope, C.A.; Ezzati, M. and Dockery, D.W. (2009). Fine-particulate air pollution and life expectancy in the United States. *N Engl J Med*; 360: 376-386.
- Poursafa, P.; Kelishadi, R.; Amini, A.; Amini, A.; Amin, MM.; Lahijanzadeh, M. and Modaresi, M. (2011) . Association of air pollution and hematologic parameters in children and adolescents, *J Pediatr (Rio J)*; 87(4):350-356.
- Ravindra, K.; Marianne, S. and Rene, V. G. (2008). "Chemical Characterization and Multivariate Analysis of Atmospheric PM_{2.5} Particles." *Journal of Atmospheric Chemistry*: 59: 199-218.

- Rand, M. C.(1976). Standard method. Joint Editorial Board WPCF chairman, USA.
- Radwan, M. E.;Rateb, H. Z. and Abdel All, Th. S. (2008). Effect of Environmental Pollution by Lead on Hemogram Picture and Some Macro and Micro Elements in Mules in Assiut Governorate, Assiut University. Bull. Environ. Res. 11 (1).PP7.
- Rajagopalan, S.;Sun, Q.and Chen, LC. (2005).Particulate pollution and endothelial function: déjà vu all over again in the air. Circulation. 111:2869-71.
- Rhoden, C.R.; Wellenius, G.A.;Ghelfi, E.; Lawrence, J.and Gonzalez-Flecha, B. (2005).PM-induced cardiac oxidative stress and dysfunction are mediated by autonomic stimulation. Biochim Biophys Acta:1725 (3): 305–313.
- Rivero, D.; Soares, S.; Lorenzi-Filho, G.; Saiki M.;Godleski John J.; Antonangelo, L.; Dolhnikoff, M.; and Saldiva, P. (2005) Acute Cardiopulmonary Alterations Induced by Fine Particulate Matter of Sa~ o Paulo; Brazil TOXICOLOGICAL SCIENCES 85; 898–905.
- Riojas-Rodriguez, H.; Escamilla-Cejudo, J.A.; Gonzalez-Hermosillo, J. A.; Tellez-Rojo, M.M.; Vallejo, M.; Santos-Burgoa, C. & Rojas-Bracho, L. (2006) Personal PM2.5 and CO exposures and heart rate variability in subjects with known ischemic heart disease in mexico city. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*;16(2):131-137.

- Routledge, H.C. and Ayres, J.G. (2005). Air pollution and the heart, *Occupational Medicine*; 55:439–447.
- Routledge, H.C.; Manney, S.; Harrison, R.M.; Ayres, J.G. and Townend, J.N. (2006). Effect of inhaled sulphur dioxide and carbon particles on heart rate variability and markers of inflammation and coagulation in human subjects. *Heart*; 92:220–227.
- Rose, M.C. & Voynow, J.A. (2006). Respiratory Tract Mucin Genes and Mucin Glycoproteins in Health and Disease. *Physiological Reviews*; 86(1): 245-278.
- Rodac, S.B. (2002). Hematological clinical principles and application .2nd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 156
- Rodríguez, S.; Alastuey, A.; Alonso-Pérez, S.; Querol, X.; Cuevas, E.; Abreu-Afonso, J.; Viana, M.; Pérez, N.; Pandolfi, M. and de la Rosa, J. (2011). Transport of desert dust mixed with North African industrial pollutants in the subtropical Saharan Air Layer, *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 6663–6685.
- Rudez, G.; Janssen, N.A.; Kilinc, E.; Leebeek, F.W.; Gerlofs-Nijland, M.E.; Spronk, H.M.; *et al.* (2009) Effects of ambient air pollution on hemostasis and inflammation. *Environ Health Perspect.*; 117:995-1001.
- Rubes, J.; Selevan, S.G.; Evenson, D.P.; Zudova, D.; Vozdova, M.; Zudova, Z.; Robbins, W.A. and Perreault, S.D. (2005). Episodic air pollution is associated with increased DNA fragmentation in

human sperm without other changes in semen quality. *Hum Reprod*; 20: 2776-2783.

Rückerl, R.; Greven, S.; Ljungman, P.; Aalto, P.; Antoniadou, C.; Bellander, T.; Berglind, N.; Chrysohoou, C.; Forastiere, F.; Jacquemin, B.; vonKlot, S.; Koenig, W.; Küchenhoff, H.; Lanki, T.; Pekkanen, J.; Perucci, C.A.; Schneider, A.; Sunyer, J. and Peters, A. (2007). Air pollution and Inflammation (interleukin-6, C-reactive protein, fibrinogen) in myocardial infarction survivors. *Environ Health Perspect*, 115(7):1072-1080.

Sangani, R.G. ; Soukup, J.M. and Ghio, A.J. (2010). "Metals in Air Pollution Particles Decrease Whole-Blood Coagulation Time. " *Inhalation Toxicology*: 22.(8).PP 621- 626.

Schwartz, GG.; Il'yasova, D.; Ivanova A. (2003) Urinary cadmium; impaired fasting glucose; and diabetes in the NHANES III. *Diabetes Care*; 26:468-478.

Schulz, H.; Harder, V.; Ibal-Mulli, A.; Khandoga, A.; Koenig, W.; Krombach, F.; Radykewicz, R.; Stampfl, A.; Thorand, B. and Peters, A. (2005). Cardiovascular effects of fine and ultrafine particles. *J Aerosol Med*, 18:1-22.

Schwarze, P.E.; Ovrevik, J.; Lag, M.; Refsnes, M.; Nafstad, P.; Hetland, R.B. and Dybing, E. (2006). Particulate matter properties and health effects : consistency of epidemiological and toxicological studies. *Hum Exp Toxicol*; 25: 559–79.

- Schikowski, T.; Sugiri, D.; Ranft, U.; Gehring, U.; Heinrich, J.; Wichmann, H.E. & Kramer, U. (2005). Long-term air pollution exposure and living close to busy roads are associated with COPD in women. *Respiratory Research*, 22(6):pp152-161.
- Sedlak, J.; Lindsay, R.H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*; 25:192-205.
- Shih, R. A.; Griffin, B. A.; Salkowski, N.; Jewell, A.; Eibner, C.; Bird, C.E.; Liao, D.; Cushman, M.; Margolis, H.G.; Eaton, C.B. and Whitsel, E.A. (2011). Ambient Particulate Matter Air Pollution and Venous Thromboembolism in the Women's Health Initiative Hormone Therapy Trials. *Environ Health Perspect*, 119(3):326-331.
- Simkhovich, B.Z ; Kleinman, M.T.; Kloner, R.A. (2008) Air Pollution and Cardiovascular Injury *Epidemiology, Toxicology, and Mechanisms*, American College of Cardiology: 52 (9):pp719726.
- Siddiqui, I.; Farooqi, J. Q.; Shariff, D. A.; Khan, A. H. and Ghani F. (2006). Serum Copper Levels in Various Diseases: A Local Experience at Aga Khan University Hospital, Karachi, *International Journal of Pathology*; 4(2): 101-104.
- Sikorska, J., and Wolnicki J. (2006). Cadmium toxicity to Rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) larvae after short-term exposure. *Arch. Pol. Fish.*, 14 (1): 15-27.

- Smith, K.R.;Veranth, J.M.;Kodavanti, U.P.;Aust, A.E. and Pinkerton, K.E. (2006). Acute Pulmonary and Systemic Effects Of Inhaled Coal Fly Ash in Rat: Comparison to Ambient Environmental Particles ,Toxicological Sciences 93(2).390-399
- Spaan, S. ;Schinkel, J. ;Wouters, I.M.; Preller, L. ;Tielemans, E.; NijE,T. & Heederik, D. (2008). Variability in endotoxin exposure levels and consequences for exposure assessment. *Annals of Occupational Hygiene*, 52(5):pp303-316.
- Sughis, M.;Nawrot, T.S.;Ihsan-ul-Haque, S.;Amjad, A. and Nemery, B. (2012).Blood pressure and particulate air pollution in schoolchildren of Lahore, Pakistan, *BMC Public Health*, 12:378.
- Sun, Q.;Yue, P.; Kirk, R.I.;Wang, A.;Moatti, D.;Jin, X.;Lu, B.;Schechter, A.D.;Lippmann, M.;Gordon, T.;Chen, L.C.;Rajagopalan,S. (2008). Ambient air particulate matter exposure and tissue factor expression in atherosclerosis. *Inhal Toxicol*; 20:127–137.
- Tan, HH.;Fiel, MI.; Sun, Q.; Guo, J.;Gordon, RE.; Chen, LC.; Friedman, SL.;Odin, JAand Kupffer A.J. (2009).cell activation by ambient air particulate matter exposure may exacerbate non-alcoholic fatty liver disease. *J Immunotoxicol*,6(4):266-275.
- Tanabe,Y;Hatada,K;Natio,N;Aizawa,Y;Chinushi, M.;Nawa, H.(2006) Over-expression of kv 1.5 in Rat cardiomyocytes extremely

shortens the duration of the action potential and causes rapid excitation .*Biochem.Biophys.Rescommun.*345:1116-1121.

Terzano, C.; Stefano, F.; Conti, V.;Graziani, E.and Petroianni, A. (2010).Air pollution ultrafine particles: toxicity beyond the lung,*European Review for Medical and Pharmacological Sciences*; 14: 809-821.

Trinder,P.(1969).Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor.*Ann.Clin.Biochem.* pp.24-27.

Turgut, S.; Hacıoğlu, S.; Emmungil, G.; Turgut, G.and Keskin, A. (2009).Relations between Iron Deficiency Anemia and Serum Levels of Copper, Zinc, Cadmium and Lead, *Polish J. of Environ. Stud*,18(2):pp 273-277.

Upadhyay, S.; Stoeger, T., Harder, V., Thomas, R.F., Schladweiler M.C.,Semmler- Behnke M., Takenaka S., Karg E., Reitmeir P., Bader M.,Stampfl A., Kodavanti U.P., Schulz H., (2008).Exposure to ultrafine carbon particles at levels below detectable pulmonary inflammation affects cardiovascular performance in spontaneously hypertensive rats. *Part Fibre Toxicol*, 5(19):1-18.

Valavandis, A.; Konstantinos, F. and Thomas, V. (2008) . " Airborne Particulate Matter and Human Health: Toxicological Assessment and Importance of Size and Composition of Particles for oxidative Damage and Carcinogenic

- Mechanisms." *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 26: 339-362.
- Van Uffelen, B.E.; J. Van der Zee, B.M. deKoster, J. VanStereninck and Elferink, J.G. (1998). Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration. *Biochem. J.*, 330: 719-722.
- Vacca,L.(1985).Laboratory manual of histochemistry.Ravan press , New York.Pp. 328.
- Wang, B.; Schneider, SN.; Dragin N.; Girijashanker K.; Dalton TP; He L; et al.(2007) Enhanced cadmium-induced testicular necrosis and renal proximal tubule damage caused by gene-dose increase in a Slc39a8-transgenic mouse line. *Am J Physiol CellPhysiol*;292:C1523-1535.
- Wallenborn, J.G.; McGee, J.K.; Schladweiler, M.C.; Ledbetter, A.D.and Kodavanti, U.P. (2007).Systemic translocation of particulate matter-associated metals following a single intratracheal instillation in rats. *Toxicol Sci.*;98:231–239.
- Wasowicz, W.; Gromadzinska, J. and Rydzynski, K. (2001).Blood Concentration of Essential Trace Elements and Heavy Metals in Workers Exposed to Lead and Cadmium, *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 14(3):223—229.

- Wellenius, G.A.; Schwartz, J. and Mittleman, M.A. (2005). Air pollution and hospital admissions for ischemic and hemorrhagic stroke among medicare beneficiaries. *Stroke*; 36: 2549–53.
- Westergren-Thorsson, G. ;Larsen, K. ; Nihlberg, K. ; Andersson-Sjoland, A. ; Hallgren, O. ; Marko-Varga, G. & Bjermer, L. (2010). Pathological airway remodeling in inflammation. *The Clinical Respiratory Journal*, 4(1) : pp. 1-8.
- WHO (World Health Organization) (1983) . 27th Report of Expert Committee. Geneva.
- Whyte, K. A.; Hogg, R. C.; Dyavanapalli, J.; Harper, A. A. & Adams, D. J. (2009) Reactive oxygen species modulate neuronal excitability in rat intrinsic cardiac ganglia. *Autonomic Neuroscience : Basic & Clinical*; 150(1-2):45-52.
- Wold, L.E.; Simkhovich, B.Z.; Kleinman, M.T.; Nordlie, MA.; Dow, JS.; Sioutas, C. and Kloner, RA. (2006). In vivo and in vitro models to test the hypothesis of particle-induced effects on cardiac function and arrhythmias. *Cardiovasc Toxicol*, 6(1):69-78.
- Wu, S.; Deng, F.; Niu, J.; Huang, Q.; Liu, Y. & Guo, X. (2010) Association of heart rate variability in taxi drivers with marked changes in particulate air pollution in Beijing in 2008. *Environmental Health Perspectives*; 118 (1): 87-91.
- Xu, An; Chai, Y; Nohmi T and Hei TK. (2009) Genotoxic responses to titanium dioxide nanoparticles and fullerene in *gpt* delta

- transgenic MEF cells *Particle and Fibre Toxicology* ,6(3): 13pp.
<http://www.particleandfibretoxicology.com/content/6/1/3>
- Ying, Z.; Xu, X.; Chen, M.; Liu, D.; Zhong, M.; Chen, L.; Sun, Q. and Rajagopala, S. (2013). A synergistic vascular effect of airborne particulate matter and nickel in a mouse model. *Tox Sci*, 135(1): 72-80.
- Zamotrinsky, AV; Kondratie, VB; Dejong, JW. (2001) Vagal neurostimulation in patients with coronary artery disease *Auton. Neurosci*; 88:109-116.
- Zanobetti, A. and Schwartz, J. (2006). Air pollution and emergency admissions in Boston, MA. *J Epidemiol Community Health*; 60:890–895.
- Zelikoff, J.T.; Schermerhorn, K.R.; Fang, K.; Cohen, M.D. and Schlesinger, R.B. (2002). "A role for associated transition metals in the immunotoxicity of inhaled ambient particulate matter." *Environmental Health Perspectives*, 110(5): 871-875.
- Zhu, S.; Manue, M.; Tanaka, S.; Choe, N.; Kagan, E. and Matalon, S. (1998). Contribution of Reactive Oxygen and Nitrogen Species to Particulate- Induced Lung Injury, *Environmental Health Perspectives* ,106 (5).1157-1163.
- Zurbier, M. ; Hoek, G. ; Oldenwening, M. ; Meliefste, K. ; van den Hazel P. & Brunekreef, B. (2011) Respiratory Effect of Commuters' Exposure to Air Pollution in Traffic. *Epidemiology*, 22(2): pp. 219-227.

Summary

This study aimed to investigate the effect of dust on some physiological and functional parameters and some oxidative stress parameter in male rats was measured Red blood cell countes RBC, Hemoglobin determination Hb, Packet cell PCV, Platelets PLT, Mean corpuscles volume MCV, Mean corpuscles hemoglobin MCH, Mean corpuscles hemoglobin concentration MCHC, White blood cell countes WBC, Lymphocyte, Granulocyte , Monocyte, and electrocardiogram, and level of Iron Fe, Copper Cu, Lead Pb, Cadmium Cd and Troponin and Glucose and some oxidative stress parameter Manoldialdehyde MDA , Peroxy nitrate ONOO^- and Glutathion GSH

and estimate the concentration level of heavy metals in sample of soil particles which collected from street dust from services and dwelling street in the second municipal sector in Karbala city.

Fifteen adult males rats aged (5-6) months ,and weights(250-300)g, were randomly divided into three groups (5/group) , the first group was served as control group ,second group was exposed to dust, and killed five animals randomly after thirty days ,third group five animals was still exposed to dust for end experiment after sixty days .The results of this study were :-

- Showed significant increase($P \leq 0.05$) was observed in (RBC ,Hb,PCV,PLT) which compared with control group.
- Showed significant decrease ($P \leq 0.05$) in MCV and non significant decrease was observed in MCH in one and two months ,and Showed significant increase($P \leq 0.05$)in MCHC after sixty days. which compared with control group.

- Significant increase ($P \leq 0.05$) was observed in (WBC, Lymphocyte, Granulocyte , Monocyte) after thirty days and Showed significant decrease ($P \leq 0.05$) WBC, Lymphocyte, and non significant decrease was observed in (Granulocyte , Monocyte) after sixty days, which compared with control group.
- Bradycardia was occurred by elongation of R-R wave and with short in pulse rate HR and QT and QRS which compared with control group .
- Significant decrease ($P \leq 0.05$) in (Fe,Cu) and significant increase ($P \leq 0.05$) in (Pb,Cd) in blood serum for one and two months which compared with control group.
- Non significant increase was observed in Glucose in thirty days , and Showed significant increase ($P \leq 0.05$) in Glucose after sixty days.
- Increase was observed in Troponin after sixty days.
- Showed significant increase ($P \leq 0.05$) in MDA and $ONOO^-$ for one and two months , and Significant decrease ($P \leq 0.05$) was observed in GSH which compared with control group .
- After behavioral study of laboratory animals under the influence of environmental stress of dust observed animals gathered and fear at the beginning of exposure to dust and search for oxygen and itchiness in all areas of the body, especially nose area the hair loss and the appearance of symptoms of allergic
- After dust sample analysed find lead , iron ,cadmium, copper in addition of elements determined by X-Ray Fluorescence .
- The present study indicated for histological changes represented crash lining of the trachea and thickening the walls of the alveoli in the lungs and edema and inflammatory infiltration as well as for the case of fibrosis in the heart and lungs .

We conclude from the current study that chronic exposure to dust led to functional changes and histological in male rats .

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
Karbala University
Education College for Pure Science
Biology Department



**The Effect of air dust exposure on some body
tissues and some hematological and
biochemical criteria on male albino rats**

A Thesis Submitted by

Thanaa Abdul-Sadaa Al-okabi

To Council of Education College for Pure Science / University of
Karbala

In Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of
Master of Science in Biology- Zoology

Supervised by

Assist professor .Wefak Gaborry Al-Bazii

Prof. Dr.Nagem Abdul- Hussein

2015 AD

1436 H