الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار –عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

كلـية الـعـلـوم

قسـم الـبيـولـوجـيا

أطروحـة قدمت لنـيل شـهـادة الدكتـوراء في العلوم

تخصص : بيولوجيا الحيوان

تأثير بعض المذيبات العضوية(الطوليان ، الإجزيلان) على بعض مؤشرات التكاثر عند الحيوانات المخبرية

تقديم الطالبة:غواري جميل رندة

لجنـة المنـاقشـة

الرئيس:عبد النور شريف	**أستاذ دكتور**	**جامعة عنابـة**
المشرف : خليلي كمال	**أستاذ دكتور**	**جامعة عنابـة**
الممتحن: نسيب يوسف	**أستاذ دكتور**	**جامعة قسنطينة**
الممتحن: نوادري الطاهر	**أستاذ محاضر**	**جامعة قسنطينة**

2017

قال المولى تبارك وتعالى:

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَإِذَا تَوَلَّى سَعَى فِي الأَرْضِ لِيُفْسِدَ فِيهَا وَيُهْلِكَ الْحَرْثَ وَالنَّسْلَ وَاللَّهُ لا يُحِبُّ الْفَسَادَ﴾ **صدق الله العظيم**

(سورة البقرة- الآية ٢٠٥)

شكر و عرفان

احمد الله كثيرا و اشكره شكرا ليس له مثيلا لأنه القائل "ولئن شكرتم لأزيدنكم" فالحمد لك يا الله

أتقدم بشكري وامتناني إلى أستاذي الكريم الأستاذ الدكتور عبد النور شريف لقبوله رئاسة لجنة مناقشة أطروحتي كما اشكره على مساعدته و مساندته لي طيلة فترة دراستي.

أتقدم باحترامي الكبير و امتناني المستمر و شكري الأكبر إلى الأستاذ الدكتور خليلي كمال الذي لم يبخل علي بشرف قبوله الإشراف على أطروحتي، كما زودني بكثير من المعرفة و العلوم وساندني طيلة مشواري الدراسي أين كان لي خير مشرف في كل شهاداتي ، كما كان لي خير عون وسند من اجل إتمام هذا العمل.

اشكر كثيرا الأستاذ الدكتور نسيب يوسف ، من جامعة الإخوة منتوري قسنطينة على تكرمه بقبول مناقشة هذا العمل

اشكر الأستاذ الدكتور نوادري الطاهر من جامعة الإخوة منتوري قسنطينة على تكرمه بقبول مناقشة هذا العمل

أتقدم بكل تقدير واحترام و شكر و عرفان إلى أستاذي الفاضل بولعقود محمد الصالح مدير مخبر ايكوفيسيولوجيا الحيوان بجامعة عنابة، الذي ساندني و مد لي يد العون في كثير من الأحيان و كان لي خير أستاذ و خير مدير واشكر تواضعه وسعة صدره .

كما أتقدم بشكري الكبير و امتناني لزميلتي الدكتورة : عاتي سامية على مرافقتي طيلة هذا العمل و على دعمها المادي و المعنوي و اشكرها على طيب أخلاقها ، و حسن صداقتها وكل مساعداتها.

اشكر الدكتورة أمال طاولي و الدكتورة أمال شوابية على مساعداتهما و دعمهما ، الدكتور هشام معمر الذي كان رفيقا متعاونا وجزءا لا يتجزأ من هذا العمل ولم يبخل أبدا في مساندتي لانجاز الجزء العملي و المقال، اشكر الزميلة الدكتورة درويش فوزية على مساندتها و دعمها خاصة في انجاز المقال العلمي، كما اشكر الدكتورة مريم كريم،منى بن جدو، أسماء بوسيف ، أسماء سايحية، لمية ريحاني و الدكتور بشير لوكيل وكل طلبة الماستر الذين وقفوا معي فترة انجاز الجزء العملي.

كما اشكر فريق مخبر ايكوفيسيولوجيا الحيوان بصفة عامة و مهندسو المخبر بصفة خاصة .

وأخيرا كل الشكر إلى جميع زملائي ا في جامعة عباس لغرور خنشلة و على رأسهم أساتذة الكلية و الطاقم الإداري لكلية علوم الطبيعة والحياة.

إهداء

إلى الوالدين الغاليين الكريمين» « فظلكما الله لي »

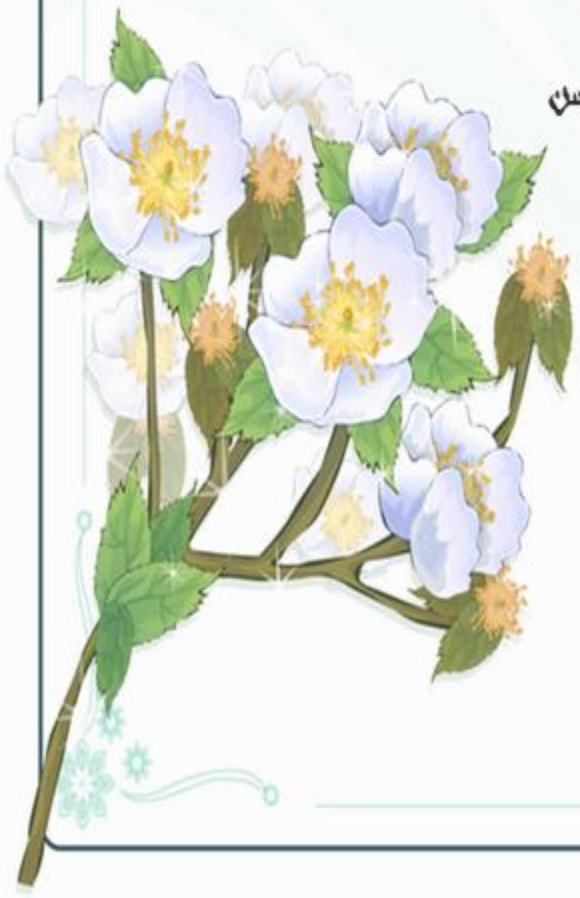
إلى إخواني و أخواتي وزوجاتهم و أزواجهن و أولادهم

إلى فلذات كبدي و روحي وقرة عيني (ريهام، ريماس)

إلى شريك حياتي زوجي نواري لحسن

إلى والدي زوجي وإخوانه

إلى عائلة جميل ، جرادي



الملخص

أظهرت العديد من الدراسات، التأثير السام للمذيبات العضوية على صحة الإنسان و الحيوان : وذلك بسبب قدرتها على إحداث عدة أضرار لأغلب وظائف العضوية، وفي هذا الإطار قمنا بدراسة تأثير مذيبان عضويان (الطوليان و الإجزيلان) على بعض: مؤشرات التكاثر، المؤشرات البيوكميائية و المؤشرات الدموية، إضافة إلى الدراسة النسيجية لكبد و خصي ذكور أرانب من نوع *Oryctolagus cuniculus*.

الأرانبn(1982,54 ±113,15غ) (n =70)، قسمت إلى مجموعتين (n = 35) كل مجموعة قسمت إلى 07 أفواج؛ الفوج الأول من كل مجموعة أعتبر كشاهد (n =5) و الأفواج المتبقية عوملت بثلاث تركيز مختلفة 50، 100،150 ppm من الطوليان أو الإجزيلان إما عن طريق الجرع بمعدل (1ملل/ اليوم/ 6أيام/ 04 أسابيع)، أو عن طريق الشم بمعدل (2ملل/ 2 سا /اليوم/6ايام/ 04 أسابيع).

أوضحت النتائج المتحصل عليها، انخفاض معنوي للوزن النسبي للخصي، البربخ و الكلى وبالمقابل ارتفاع معنوي في وزن الكبد للأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

أما النتائج المتعلقة بمؤشرات التكاثر،فلقد بينت انخفاض معنوي عالي لـ (تركيز، سرعة، نسبة الحركة، نسبة حيوية) الحيوانات المنوية وتركيز هرمون التستوستيرون، عند جميع الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

وبالنظر للنتائج المتعلقة بالمؤشرات البيوكميائية، فلقد سجلنا ارتفاع معنوي عالي جدا في تركيز جميع المؤشرات البيوكميائية (الغلوكوز ، الكولسترول، البروتينات الكلية، اليوريا، الكرياتينين، الألبومين) للأفواج المعاملة بالطوليان

(عن طريق الشم و الجرع) مقارنة بالفوج الشاهد إلا تركيز الغليسريدات الثلاثية الذي انخفض بصفة معنوية عالية عند الأفواج المعاملة بالطوليان، مقارنة بالفوج الشاهد و بالمقابل انخفض تركيز الغلوكوز، الكولسترول، الغليسريدات الثلاثية عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان مقارنة بالفوج الشاهد، في حين ارتفع تركيز البروتينات، الكلية، اليوريا، الكرياتينين، الألبومين عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد. ولقد سجلنا انخفاضا في تركيز معامل ازالة السمية الغلوتاتيون GSH على مستوى الكبد و مستوى الخصي عند الأفواج المعاملة بالطوليان و عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان مقارنة بالفوج الشاهد.

كما لاحظنا انخفاض في عدد الكريات الدموية الحمراء، نسبة الخلايا اللمفاوية، عدد الصفائح الدموية تركيز الهيموغلوبين عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد أما عدد الكريات الدموية البيضاء فلقد ارتفع عند جميع الأفواج المعاملة.

من خلال الدراسة النسيجية لعضو الكبد و الخصي، لوحظ قدرة الطوليان و الإجزيلان على تغيير أنسجة الكبد و الخصي ، حيث تسببا في تلفا للأنسجة؛ تضخم في الخلايا الكبدية وتغير في حجم وشكل الأنابيب المنوية.

الكلمات المفتاحية : *الطوليان,الإجزيلان،سمية، التكاثر، مؤشرات دموية و بيوكيميائية ،دراسة نسيجية، حيوانات مخبرية.*

Résumé

De nombreuses études ont démontré l'effet toxique des solvants organiques sur la santé humaine et animale en raison de leur capacité de causer des dommages multiples à la plupart des fonctions organiques. Dans ce contexte, nous avons étudié l'effet de deux solvants organiques (toluène et xylène) sur certains paramètres de reproduction, paramètres biochimiques et paramètres hématologique , en plus de l'étude histologique du foie et des testicules chez des lapins mâles *Oryctolagus cuniculus*.

Les lapins (1982,54 ± 113,15 g) (n = 70), ont été divisés en deux groupes (n = 35) et chaque groupe a été divisé en 07 sous-groupes, le premier sous-groupe de chaque groupe est considéré comme témoin (n = 5) et les autres sous-groupesont été traitées avec trois diverses concentrations 50, 100, 150 ppm de toluène ou xylène soit par gavage à raison de (1 ml / jour / 6 jours / 04 semaines), ou par inhalation à à raison de (2 ml / 2 h / jour / 6 jours / 04 semaines).

Les résultats obtenus ont montré une diminution significative du poids relatif des testicules, d'épididyme et du rein et par contre une augmentation significative du poids du foie de sous-groupes traités par rapport au témoin.

Les résultats concernant les paramètres de la reproduction, ont montré une diminution hautement significative pour (concentration, vitesse, rapport de mouvement, pourcentage de vitalité) des spermatozoïdes et la concentration de la testostérone chez tous les sous-groupes traités par rapport au témoin.

Compte tenu des résultats des paramètres biochimiques, nous avons enregistré une augmentation très hautement significative de la concentration de tous les paramètres biochimiques (glucose, cholestérol, protéines totales, urée, créatinine, albumine) pour les sous-groupes traités par le toluène (par gavage et inhalation) par rapport au sous-groupe témoin, sauf la concentration des triglycérides qui a diminuée de manière hautement significative chez les sous-groupes traités par le toluène par rapport au sous-groupe témoin, et par contre la concentration du glucose, du cholestérol et des triglycérides, a diminué chez les sous-groupes traités par le xylène comparativement au sous-groupe témoin, alors que la concentration des protéines totales, de l'urée, de la créatinine et de l'albumine, a augmenté chez les sous-groupes traités par le xylène (par gavage, par inhalation) par rapport au sous-groupe témoin .Nous avons enregistré une diminution de la concentration de indice de l'in-toxicité (glutathion (GSH)), au niveau du foie et testicules chez les sous-groupes traités au toluène et chez ceux traités au xylène par rapport au sous-groupe témoin.

Nous avons aussi observé une diminution du nombre de globules rouges, du pourcentage de lymphocytes, du nombre de plaquettes, de concentration d'hémoglobine chez les sous-groupes traités par rapport au sous-groupe témoin, tandis que le nombre de globules blancs a augmenté chez tous les sous-groupes traités.

A travers l'étude histologique du foie et des testicules, il a été observé la capacité de toluène et de xylène d'altérer les tissus du foie et des testicules, où ils ont causé des dommages tissulaires, une inflation de cellules hépatiques et un changement dans la taille et la forme des tubules séminifères.

Mots - clés: *toluène, xylène, toxicité, reproduction, paramètres hématologiques et biochimiques, étude histologique, les animaux de laboratoire*

Abstract

Many studies have shown the toxic effect of organic solvents on human and animal health due to their ability to cause multiple damages to most organic functions. In this context, we studied the effect of two organic solvents (toluene and xylene) on some reproduction, biochemical, and hematological parameters in addition to the histological study of the liver and testes in male rabbits *Oryctolagus cuniculus* .

Rabbits (1982.54 ± 113.15 g) (n = 70) were divided into two groups (n = 35) and eachgroup was divided into 07 subgroups, the first subgroup of each group is considered as a control (n = 5) and the other subgroups were treated with three different concentrations 50, 100, 150 ppm toluene or xylene either by gavage at a rate(1 ml / day / 6 days / 04 week) or by inhalation at a rate of (2 mL / 2 h / d / 6 days / 04 week).

The results obtained showed a significant decrease in the relative weight of testes, epididymis, and kidney and in contrast a significant increase in liver weight of subgroups treated versus control subgroup. .

The results for reproductive parameters showed a highly significant decrease in (concentration, speed, movement ratio, vitality percentage) of spermatozoia and the concentration of testosterone in all subgroups treated versus control subgroup.

Given the results of biochemical indicators, we have registered a very highly significant increase in the concentration of all biochemical parameters (glucose, cholesterol, total proteins, urea, creatinine, albumin) for subgroups treated with toluene (by gavage and inhalation)compared with the control subgroup, except the concentration of triglycerides which highly significantly decreased in the subgroups treated with toluene compared to control subgroup, and against the concentration of glucose, cholesterol and triglycerides, decreased in subgroups treated with xylene compared to the control subgroup, while the concentration of total proteins, urea, creatinine and albumin, increased in subgroups treated with xylene (by gavage, by inhalation) compared with the control subgroup. We have registered a decrease in the concentration of parameter of toxicity (glutathione (GSH)), in the liver and testes both in subgroups treated with toluene and xylene compared to the control subgroup.

We also observed a decrease in the number of red blood cells, the percentage of lymphocytes, the number of platelets, hemoglobin concentration in the treated subgroups compared with the control subgroup, while the number of white blood cells increased in all treated subgroups.

Through histological study of the liver and testicles, it was observed the ability of toluene and xylene to alter liver and testes tissues, where they have caused tissue damage, inflation in the liver cells and a change in the size and shape of the seminiferous tubules .

Keywords: *toluene, xylene, toxicity, reproduction, hematological and biochemical parameters, histological study, laboratory animals.*

قائمة الاختصارات

ATP	Adénosine Triphosphate
AVI	Analyse De La Variance A Un Facteur(*ANOVA)*
BBC	Bleu Brilliant De Commassie
BCG	Bromo Cresol Green
BSA	Albumine de Sérum Bovin
CAS	Chemical Abstracts Service
COV	Composés Organiques Volatils
Cyp p450	Cytochromes P450
DO	Densité Optique
DTNB:	Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoique) ou réactif d'Ellman
EDTA	Ethylène Diamine Tetraacetate
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FNS	Formule De Numération Sanguine.
GSH	Glutathion SH (Réduit)
OMS	Organisation Mondiale De Santé
VLMCT	Valeur Limité Professionnelle A Court Terme
VLMP	Valeur Limité Professionnelle
VLMP-8h	Valeur Limité Professionnelle Sur 08 Heurs
–SH	Groupement Sulfhydrile
ppm	Partie Par Million

عناوين الجداول و الأشكال

عناوين الجداول	
الجدول (01) : يمثل الخصائص الفيزيوكيميائية للطوليان	7
الجدول(02): يمثل الخصائص الفيزيوكيميائية للإجزيلان ومتماكباته	19
الجدول (03): تغير متوسط نسبة الوزن النسبي للأعضاء(الخصية اليسرى ، البربخ الأيسر، الكبد و الكلية اليسرى) إلى وزن الجسم للأفواج المعاملة (الطوليان ،الإجزيلان) و الفوج الشاهد%	56

عناوين الأشكال	
الشكل (01): البنية والتركيبة الكيميائية لطوليان.	5
الشكل (02): ميتابوليزم الطوليان عند الإنسان و الحيوان	10
الشكل (03) : البنية التركيب و الكيميائي للإجزيلان ومتماكبته	18
الشكل (04) : ميتابوليزم الإجزيلان عند الإنسان و الحيوان	21
الشكل (05) : المخطط التجريبي	30
الشكل(06): رسم تخطيطي يوضح التغيرات الشكلية للحيوانات المنوية تحت ضغط أسموزي منخفض	34
الشكل(07):.تغير متوسط الفرق النسبي للوزن الكلي لجسم الحيوانات المعاملة (%) خلال فترة المعاملة	52
الشكل(08) : تغير تركيز الحيوانات المنوية $\times 10^{6}$ /ملل عند الأفواج مقارنة بالفوج الشاهد	58
الشكل(09) : تغير نسبة حركة الحيوانات المنوية(%) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	60
الشكل(10) : تغير متوسط سرعة الحيوانات المنوية (مكم/ثا) عند الأفواج مقارنة بالفوج الشاهد	62
الشكل(11) : تغير متوسط نسبة حيوية الحيوانات المنوية (%) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	64
الشكل(12) :تغير متوسط نسبة حيوية الحيوانات المنوية (%) (اختبار الضغط الأسموزي المنخفض) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	66
الشكل(13): كمية هرمون التستوستيرون في المصل (نانوغ/ملل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	68
الشكل (14) : تغير تركيز الغلوكوز (غ/ل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	70
الشكل(15) : تغير تركيز الكولسترول (غ/ل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	72
الشكل(16) : تغير تركيز الغليسيريدات الثلاثية (غ/ل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	74
الشكل(17) : تغير تركيز البروتينات الكلية (غ/ل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	76
الشكل(18) : تغير تركيز اليوريا (غ/ل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	78
الشكل(19) : تغير تركيز الكرياتينين (ملغ/ل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	80
الشكل(20) : تغير تركيز الألبومين (غ/ل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.	82

الشكل(21) : تغير تركيز الغلوتاتيون في الكبد (نانومول/ملغ بروتين) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	84
الشكل(22) : تغير تركيز الغلوتاتيون في خصي (نانومول/ملغ بروتين) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	86
الشكل(23) : تغير متوسط عدد كريات الدم الحمراء (10^6/ملل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	88
الشكل (24) : تغير متوسط عدد كريات الدم البيضاء (10^3/مكل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	90
الشكل(25) : تغير متوسط تركيز الهيموغلوبين (غ/سل) مقارنة بالفوج الشاهد	92
الشكل(26) : تغير نسبة الهيماتوكريت (%) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	94
الشكل(27) :تغير متوسط عدد الصفائح الدموية (10^3/مكل) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.	96
الشكل(28) : تغير متوسط نسبة الخلايا اللمفاوية(%) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	98
الشكل(29) : تغير نسبة الخلايا وحيدة النواة (%) عند الأفواج مقارنة بالفوج الشاهد.	100
الشكل(30) : تغير متوسط نسبة الخلايا المحببة (%) عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد	102
الشكل (31) : صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي الأرانب المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400)	104
الشكل (32) : صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي الأرانب المعاملة بالطوليان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)	105
الشكل (33) : صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي الأرانب المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400).	107
الشكل(34) : صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي الأرانب المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)	108
الشكل(35) : صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالطوليان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400)	110
الشكل(36) : صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالطوليان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)	111
الشكل(37) : صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400)	113
الشكل(38) : صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالاجزيلان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)	114

جدول العناوين

المقدمة 01

الجزء الأول: الجزء النظري

I. الطوليـان..... 5
1.I. تعريـف..... 5
2.I. مصادر الطوليان واستعمالاته..... 5
3.I. الخصائص الفيزيوكيميائية للطوليان..... 7
4.I .مسـار الطوليان داخـل عضويـة الإنسان و الحيوان 8
4.I. 1.الإمتصـاص..... 8
4.I. 2 .التوزيــع 8
4.I. 3. الميتابوليـزم 9
4.I. 4. الطـرح..... 11
5.I. التأثيرات السامة للطوليان على الإنسان والحيوان..... 11
5.I. 1 .التأثيرات ذات السمية الحادة..... 11
2.5.I. التأثيرات ذات السمية المزمنة..... 12
5.I. 3 .الأمراض السرطانيـة 13
5.I. 4. التأثيـر السـام علـى المادة الوراثية 14
5.I. 5.التأثير على وظيفة التكاثر والتطور الجيني..... 14
5.5.I. 1.التأثير على وظيفة التكاثر 15
5.5.I. 1.1. الجهاز التناسلي الأنثوي..... 15
5.I .1.5. 2 .الجهاز التناسلي الذكري..... 15
5.I. 5. 2 التطـور الجنينـي 16
II . الإجزيـلان..... 17
1.II. تعريـف..... 17
2.II. مصادر الإجزيلان واستعمالاته..... 17
3.II. الخصائص الفيزيوكيميائية لإجزيلان..... 19
4.II .مسـار الإجزيلان داخـل عضويـة الإنسان و الحيوان 20
4.II. 1.الإمتصـاص..... 20
4.II. 2 .التوزيــع 20
4.II. 3. الميتابوليـزم 21
4.II. 4. الطـرح 22
5.II. التأثيرات السامة للإجزيلان على الإنسان والحيوان..... 22
5.II. 1 .التأثيرات ذات السمية الحادة..... 22

II.2.5. التأثيرات ذات السمية المزمنة.. 23
II.5. 3 .الأمراض السرطانية 25
II.5. 4. التأثير السام على المادة الوراثية 25
II.5. 5.التأثير على وظيفة التكاثر والتطور الجيني.. 26
II.5.5. 1.التأثير على وظيفة التكاثر 26
II.5.5. 1.1. الجهاز التناسلي الأنثوي... 26
II.5 .5.1 .2 .الجهاز التناسلي الذكري.. 26
II.5. 5 .2 التطور الجنيني 27

الجزء الثاني: الجزء العملي

I.المواد المستعملة... 28
I.1 المادة البيولوجية... 28
I .2 المعاملة... 28
I.3 طريقة المعاملة... 28
I.3.1 المعاملة عن طريق الجرع(عبر الجهاز الهضمي).. 28
I.3.2 المعاملة عن طريق الشم(عبر الجهاز التنفسي).. 29
I.4 الحصول على العينات... 31
I.4.1 الحصول على الدم.. 31
I.4.2 الحصول على الأعضاء... 31
I.4.3 الحصول على السائل المنوي... 31
II المؤشرات المدروسة 32
II.1 مؤشرات التكاثر... 32
II.1.1الدراسةالبيولوجية للحيوانات المنوية.. 32
II .1.1.1.تقديرتركيز الحيوانات المنوية... 32
II.1.1. 2 تقدير نسبة حركة الحيوانات المنوية. 32
II.1.1.3 تقدير نسبة حيوية الحيوانات المنوية... 33
II.1.2 تقدير تركيز هرمون التستوستيرون في مصل الدم... 35
II.2 دراسة المؤشرات الدموية.. 36
II . 3 دراسة المؤشرات البيوكيميائية للدم... 37
II . 3. 1 تقدير تركيز الغلوكوز في البلازما... 37
II.3.2 تقدير تركيز الكولسترول في البلازما.. 39
II.3. 3 تقدير تركيز الغلسيردات الثلاثية في بلازما الدم... 41
II.3.4. تقدير تركيز البروتينات الكلية في البلازما... 42
II.3.5 تقدير تركيز اليوريا في الدم... 43
II .3.6 تقدير تركيز الكرياتينين في الدم... 45
II .3.7 تقدير تركيز الألبومين في الدم.. 46

II .8.3 تركيز الغلوتاتيون(GSH) على مستوى الكبد و الخصي..... 47
4.II الدراسة النسيجية..... 50
III- الدراسة الاحصائية 51

الجزء الثالث: النتائج

I -المؤشرات المرفولوجية..... 52
1.I تغير نسبة الوزن الكلي للحيوانات المعاملة والفوج الشاهد..... 52
I . 2 تغير الوزن النسبي لأعضاء الأفواج المعاملة والفوج الشاهد..... 53
II . دراسة تأثير الطوليان و الإجزيلان على بعض مؤشرات الخصوبة عند الذكر..... 57
II .1 التغير في متوسط تركيز الحيوانات المنوية..... 57
II .2.1 تغير متوسط نسبة حركة الحيوانات المنوية..... 59
II .3.1 تغير متوسط سرعة الحيوانات المنوية..... 61
II .4.1 تغير نسبة حيوية الحيوانات المنوية..... 63
II .1.4.1 عن طريق إستعمال الملون الحيوي..... 63
II .2.4.1 اختبار الضغط الأسموزي المنخفض..... 65
II .2 تقدير تركيز هرمون التستوستيرون..... 67
II .المؤشرات البيوكيميائية..... 69
12.III تغير تركيز الغلوكوز..... 69
2.III تغير تركيز الكولسترول..... 71
3.III تغير تركيز الغليسيريدات الثلاثية..... 73
4.III تغير تركيز البروتينات الكلية..... 75
5.III تغير تركيز اليوريا..... 77
6.III تغير تركيز الكرياتينين..... 79
7.III تغير تركيز الألبومين..... 81
8.III. تقدير تركيز الغلوتاتيون في الأعضاء..... 83
IV.المؤشرات الدموية..... 87
1.IV متوسط عدد كريات الدم الحمراء..... 87
2.IV تغير متوسط عدد كريات الدم البيضاء..... 89
3.IV تغير تركيز الهيموغلوبين..... 91
4.IV.تغير نسبة الهيماتوكريت..... 93
5.IV.تغير متوسط عدد الصفائح الدموية..... 95
6.IV.تغير نسبة الخلايا اللمفاوية..... 97
7.IV.تغير متوسط نسبة الخلايا وحيدة النواة..... 99
8.IV.متوسط نسبة الخلايا المحببة..... 101
V.الدراسة النسيجية..... 103

الجزء الرابع :المناقشة

المناقشة..... 115
أفاق البحث..... 122
المراجع..... 123

المقدمة

المقدمـــة

التكاثر هو مجموع الآليات البيولوجية التي تؤمن استمرار الكائنات الحية، من خلال ظهور أفراد جدد، ومن أهم وأبرز هذه الآليات التكاثر الجنسي عند النباتات، الحيوان والإنسان، والذي يستوجب تواجد فردين مختلفين جنسيا (الذكر والأنثى) ومن نفس النوع، ليكونا فردا ثالثا جديدا ومختلفا وراثيا عن الآباء (**Joïlle *et al* . , 2015**).

تتأثر وظيفة التكاثر سلبا بالعديد من العوامل الخارجية كالملوثات الكيميائية، التي من شأنها أن تحدث تأثيرا ساما على وظيفة التكاثر و/أو التطور الجنيني، وحسب العديد من الدراسات التي أجريت من أجل معرفة آلية تأثير هذه الملوثات على وظيفة التكاثر، اكتشف أن لها القدرة على التأثير على النظام الهرموني منذ بداية التخليق إلى غاية استجابة الخلايا المستهدفة مما يحدث تشوهات في الأعضاء التناسلية ،فقدان القدرة على الإنجاب (العقم) عند الجنسين الذكر والأنثى، إضافة لإحداث تشوهات جنينية (**Evanthia *et al* ., 2009 ; Joïlle *et al* .,2015**) .

ومن بين هذه الملوثات الكيميائية التي تبدي تأثيرا ساما على وظيفة التكاثر والصحة العامة المذيبات الكيميائية (**INRS ,2011**) وهي عبارة عن سوائل لها القدرة على إذابة وتحلل مواد أخرى، دون إحداث تفاعلات أو تغيرات كيميائية لكل من المذيب أو/و المادة المذابة (**INRS , 2009**). وتنقسم هذه المذيبات إلى ثلاث عائلات كيميائية أساسية تتمثل في؛ المذيبات الأوكسيجينية، المذيبات الهالوجينية والمذيبات البترولية (**Mahoui & Boust, 2007**) وتتواجد هذه المركبات بصفة كبيرة وواسعة في البيئة والمحيط بسبب استخداماتها المتنوعة في العديد من المنتجات الصناعية والمنزلية مثل: الصباغات، الدهانات، مواد الصقل، الحبر، وقود السيارات، مواد الطباعة، مستحضرات التجميل .... الخ (**Desoille *et al* ., 1992 ; Lauwerys , 1999**)، ولقد بلغ معدل استخدامها سنويا بأربعة عشر مليون طن (**Bray , 2003**)، ولقد جعل هذا الاستعمال المكثف واللاعقلاني هذه المركبات الكيميائية محل دراسة مكثفة من طرف المختصين في الصحة المهنية، والمكلفين بالصحة العامة (**Bray *et al* .,1949**; **Lundberg *et al* .,2005**)، خاصة بعدما أثبت تأثيرها السام على الإنسان والمحيط، ومن أبرز تأثيراتها السامة؛ التأثير على الجهاز العصبي المركزي والمحيطي، إحداث التهابات جلدية، إحداث قصور كلوي، أمراض سرطانية، التأثير على وظيفة

التكاثر و/ أوالتطور الجنيني **(Proust, 1989 ; Desoille *et al*.,1992 ; Lauwerys, 1999 ; INRS,2011)**

ومن أجل الحد من التأثيرات السامة للمذيبات الكيميائية اقترح من طرف الجهات المختصة بمراقبة الصحة المهنية و الصحة العامة، إجراء مجموعة من التدابير الوقائية، أهمها استبدال المذيبات السامة و/ أو القابلة للاشتعال بمواد أقل خطورة (**Gérin & Bégin , 2004**)، وفي قائمة هذه المذيبات البنزين الذي استبدل بالطوليان أو الإجزيلان بعدما أكدت الكثير من الدراسات التجريبية خطورته على البيئة والمحيط بصفة عامة، والإنسان بصفة خاصة **(IARC , 1989)** .

الطوليان و الإجزيلان مذيبان عضويان، ينتميان لعائلة الهيدروكربونات العطرية وحيدة الحلقة البنزينية، يشتركان في العديد من الخصائص الفيزيوكيميائية: كالحالة الفيزيائية (سائل شفاف)، القدرة على التبخر، والتطاير، الرائحة، القدرة على الاشتعال والانفجار ...الخ، يستعملان في صناعة العديد من المنتجات الصناعية مثل: الصباغات ، مواد التشحيم، مواد التنظيف، ويستعملان كمذيبين من أجل استخلاص المواد الفعالة لصناعة المواد الصيدلانية ومواد التجميل ،المبيدات...الخ **(Lauwerys , 1999).**

وحسب العديد من التجارب فلقد ثبت قدرة هذين المركبين على النفوذ للعضوية (إنسان أو حيوان) بطرق مختلفة، وأهمها عبر الجهاز التنفسي مع هواء الزفير، ولكن نسبة امتصاصهما تختلف من مركب لأخر؛ حيث تقدر نسبة امتصاص الطوليان عبر الجهاز التنفسي تقدر بـ: 50%، أما الإجزيلان فتقدر بـ: 65% (**Engstrom *et al*. ,1978**)، أما نسبة امتصاصهما عبر الجهاز الهضمي عن طريق الجرع تقدر بـ: 100% ، إلا أن هذا المسار نادر الحدوث، ويكون فقط في حالة التطوع أو الخطأ، كما يمكن أن ينفذا عبر الجلد ولكن بنسب جد ضئيلة. بعد عبور هذان المركبان إلى العضوية يتثبت كل واحد منهما في بروتينات البلازما و هيموغلوبين الدم **(Engstrom *et al* ., 1978; Baelum *et al* .,1993)** ليتوزعا إلى سائر أعضاء الجسم وخاصة الأعضاء الغنية بالدهون كالجهاز العصبي ، الجهاز التناسلي ، الكبد، الرئتين، غدة الثدي... **(KIRK - Othmer , 1997).**

80 % من الطوليان الممتص يتعرض لعملية الأيض عن طريق إنزيمات السيتوكروم P 450 على مستوى الكبد ليتحول إلى حمض البنزويك الذي يتحد مع الجلسين لتشكيل حمض الهيبريك Acide hippurique ويمثل نسبة 80% من نواتج عملية الهدم، و 20 % الأخرى عبارة عن نواتج ميتابوليزمية، لا تقل سمية عن حمض الهيبريك، ودائما وعلى مستوى الكبد، 95 % من الإجزيلان

الممتص يتأكسد إلى Acide méthlbenzoïque، الذي يترافق مع الجلسين ليكون حمض ميثيل الهيبريك (**ATSDR ,2000**) تطرح هذه النواتج عبر الجهاز الإطراحي البولي، أو مع هواء الزفير بنسب مختلفة (**Engstrom *et al* ., 1978 ; Barlow & Sullivan ,1982**).

يظهر هذين المركبين العديد من مظاهر السمية التي ترتبط شدتها بتركيزهما، مدة و/ أو طريقة المعاملة أو التعرض لهما (**Lauwerys , 1982**).

تقسم هذه التأثيرات إلى نوعين: تأثيرات ذات سمية حادة، وأخرى ذات تأثيرات سمية مزمنة وأهمها: الغثيان، التقيؤ، نزيف الأنف، الدوار، الالتهابات الجلدية ،الموت(**Sax-Ntax & Lewis ,1989**) كما يؤثران على الجهاز العصبي المركزي والمحيطي (**IARC,1989**)، ومن مظاهر هذه التأثيرات اضطرابات في سلوك العمال المعرضين لهما، اضطرابات في النوم، صعوبة التوازن والتركيز ،خلل في الذاكرة(**Mirkova *et al* ., 2003**)، التسبب في قصور كلوي من خلال إحداث خلل و عجز في وظائف الكلى، تضخم الخلايا الكبدية، التغيير في بعض المؤشرات الدموي (**IARC, 1989**).

ولقد صنف الطوليان من طرف الاتحاد الأوروبي كمركب سام يمكنه التأثير على وظيفة التكاثر والتطور الجنيني (**JOCE , 2004**)، أما الإجزيلان فلم يثبت تأثيره الحقيقي على وظيفة التكاثر والنظام الهرموني الجنسي، وذلك لعدم وجود دراسات كافية حوله، إضافة إلى أن أغلب الدراسات التي تختص بهذا المجال (تأثير الإجزيلان على وظيفة التكاثر) ركزت أبحاثها على الأوساط المهنية حيث لا يمكن معرفة تأثيره الفعلي لتواجده كمزيج مع مركبات كيميائية أخرى (**ATSDR , 2005**).

تهدف هذه الدراسة التي أجريت في مخبر إيكوفيزيولوجيا الحيوان (بيئة و فيزيولوجيا الحيوان) قسم البيولوجيا بجامعة باجي مختار عنابة إلى:

- دراسة تأثير الطوليان و الاجزيلان على (بعض: خصائص التكاثر، المؤشرات البيوكيميائية، المؤشرات الدموية بالإضافة إلى تقدير كمية GSH على مستوى نسيج الكبد و الخصي ، ودراسة نسيجية لقطع من نسيجهما(الكبد والخصيتين))، عن طريق الجرع، عبر الجهاز الهضمي و عن طريق الشم (عبر الجهاز التنفسي) عند ذكور أرانب من نوع *Oryctolagus cuniculus*
- المقارنة بين درجة سمية الطوليان و الاجزيلان عبر الجهاز الهضمي وعبر الجهاز التنفسي لكل مؤشر مدروس

قسمت هذه الأطروحة إلى عدة أجزاء :

الجزء الأول: الجزء النظري، قسم إلى قسمين القسم الأول درسنا الطوليان، حيث قمنا بتعريف أهم خصائصه الكيميائية والفيزيائية، درسنا مساره السمي في العضوية بداية من طرق نفاذه إلى غاية تأثيراته السامة ، أما القسم الثاني فلقد خصص لدراسة الإجزيلان، تعريفه وصفه ، و مساره السمي .

الجزء الثاني : الجزء العملي، والذي تطرقنا فيه لوصف المواد والطرق المستعملة، المخطط التجريبي لمعاملة الأرانب بالإجزيلان والطوليان عن طريق الشم و الجرع، المؤشرات المدروسة، وكيفية الدراسة الإحصائية للنتائج.

الجزء الثالث: النتائج، حيث قمنا بتمثيلها في مخططات بيانية، جداول، منحنيات، وصور مجهرية للقطع النسيجية.

الجزء الرابع : المناقشة، قمنا بمناقشة ومقارنة النتائج المتحصل عليها مع أعمال أخرى و تجارب مماثلة .

الجزء النـظري

أولا: الجـــزء النظـري

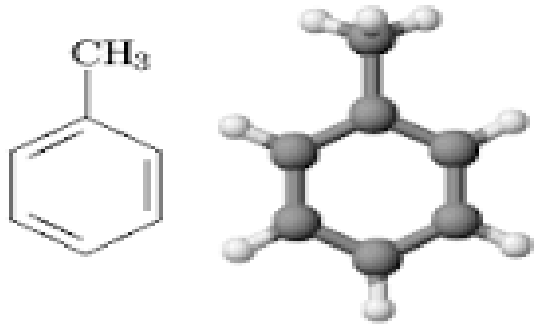
I. الطوليـان

1.I. تعريـف

الطوليان (Cas N°108-88) ويسمى كذلك ميثيل بنزين Méthylbenzène، فنيل ميثان Phényle méthane ، ميثيل بنزول Méthylbenzol، بنزين أحادي الميثيل Monométhyl-benzène، ميثاسيد Méthacide وطوليول Toluol، وهو عبارة عن سائل أبيض شفاف يطلق رائحة حادة ومميزة، تحت درجة الحرارة النظامية **(ATSDR, 2000)**، ومن خصائصه الفيزيوكيميائية قدرته على الاشتعال، الانفجار والتبخر في ضغط جوي قدره 28,4 ملم زئبقي عند 25° م (جدول.**01**).

ينتمي إلى عائلة الهيدروكربونات العطرية ، صيغته الكيميائية C_6H_5-CH_3 ، كتلته المولية 92,13 غ/مول **(NTP, 2001)** وهو جزء من عائلة المركبات الكيميائية العضوية القابلة للتبخر والتطاير COV **(Perrin & Scharff , 1999)** .

يحتوي الطوليان على ستة ذرات كربون مرتبة على شكل حلقة بنزينية مع خمس ذرات هيدروجين ومجموعة واحدة من الميثيل CH_3 (الشكل .**01**) **(ATSDR , 2000)** .



الشكل (01) البنية والتركيبة الكيميائية لطوليان **(ATSDR,2000)**

2.I. مصادر الطوليان واستعمالاته

يصنع الطوليان بعد معالجة النفط أو تقطير الفحم الحجري **(Verschueren ,1996)**، ولقد احتل المرتبة 24 من أفضل 50 مركب كيميائي مستعمل في الميدان الصناعي، هذا ما أهله لينتج بكميات جد كبيرة، ويأخذ المرتبة 50 عالميا من ناحية الإنتاج والحمولة **(Perrin & Scharff, 1999)** .

يستخدم الطوليان كمادة خام لإنتاج العديد من المركبات الكيميائية الأخرى كالبنزين بنسبة 32%، الفينول بنسبة 7%، Nitro toluène، Caorolactam ، Phtalates بنسبة 2%، Disocyanate de toluène (TDI) بنسبة 11% **(Verschueren ,1996)**، كما يستعمل الطوليان كمذيب عضوي لصناعة الصباغات، الحبر، مواد الصقل، مواد الطباعة، المواد اللاصقة، مواد التنظيف، المواد البلاستيكية، المطاط ،وقود السيارات، مواد التشحيم **(IARC , 1999)** و يستخدم كذلك كمذيب عضوي لاستخلاص المواد الفعالة لصناعة المواد الصيدلانية، مواد التجميل، المبيدات **(IARC ,1999 ; Roberts *et al* .,2003)**، كما يدخل أيضا في تركيب السجائر، حيث أثبتت التجارب أن تعاطي سيجارة واحدة تمكن صاحبها من الحصول على 45,2 إلى 57,1 مكغ/كلغ (وزن الجسم)/ اليوم، لشخص عمره 12 سنة فما فوق **(Verschueren ,1996)** .

I.3. الخصائص الفيزيوكيميائية للطوليان

الجدول (01) : يمثل الخصائص الفيزيوكيميائية للطوليان

إسم المركب	الطوليان	
الصيغة الكيميائية	$C_6H_5CH_3$	**(ATSDR ,2000)**
الكتلة المولية (غ/مول)	92,14	
الوصف العام	سائل شفاف عديم اللون	
الضغط الجوي	في 20°م 2922 3769 في 25°م	**(OMS, 1985 ; IPCS ,1996)**
الكثافة في الماء	0,8 669	
الذوبان في الماء	515 في 20°م	
مدة نصف الحياة في الدم	3الى 12 ساعة إلى 40 ساعة	
درجة الانفجار	الحد الأدنى:1,2 الحد الأعلى: 7,2	**(OMS,1985 ; IPCS ,1996 ; Lide,1998)**
نقطة الغليان	110,6°م	
معامل التحويل	1 ppm = 3,83 ملغ/م^3 1ملغ / م^3 =0,261ppm	
القيم القصوى لتعرض المهني VLEP	VLEP-8h = 76,8ملغ /م^3 (20 ppm) VLEPT =384ملغ/م^3 (100 ppm)	**(INRS,2016)**

4.I .مسار الطوليان داخل عضوية الإنسان و الحيوان

4.I. 1.الإمتصاص

إن المسار الأساسي لنفاذية الطوليان لعضوية الحيوان أو الإنسان هو الجهاز التنفسي عن طريق الشم، ويبقى المسار الهضمي عن طريق الجرع نادر الحدوث إلا في حالات الخطأ، التطوع والانتحار وتكون سرعة امتصاصه عبر الجهاز التنفسي أسرع من الطرق الأخرى، حيث يمكن ملاحظته في الدم بعد 10 إلى 15 دقيقة من عملية التعرض **(Carlsson, 1982 ; INERIS, 2005)** ولقد بينت التجارب حول أشخاص معرضون لـ 100 ملغ/كلغ من الطوليان عبر الشم، أن نسبة تواجد هذا المركب في الدم تقدر بـ 50% بعد 03 ساعات من مدة التعرض**(Bray *et al* .,1949)** وبالرغم من أن نسبة امتصاصه عبر الجهاز الهضمي تقدر بـ 100%، إلا أن عبوره للدم يكون أقل سرعة من الجهاز التنفسي، لأن أقصى قيمة ممتصة له عبر هذا المسار تظهر في الدم بعد ساعات من وقف عملية الجرع **(Baelum *et al* . , 1993)**، كما ينفذ الطوليان إلى العضوية عبر الجلد لكن بكميات قليلة، وهذا ما أوضحته العديد من التجارب التي أجريت على الإنسان والحيوان **(Dutkiewicz &Tyras , 1968 ; Löf *et al*., 1993)** حيث تتناسب كمية امتصاصه مع المساحة المعرضة له، إضافة إلى مدة المعاملة و التركيز **(Verschueren ,1996)**.

4.I. 2 .التوزيــع

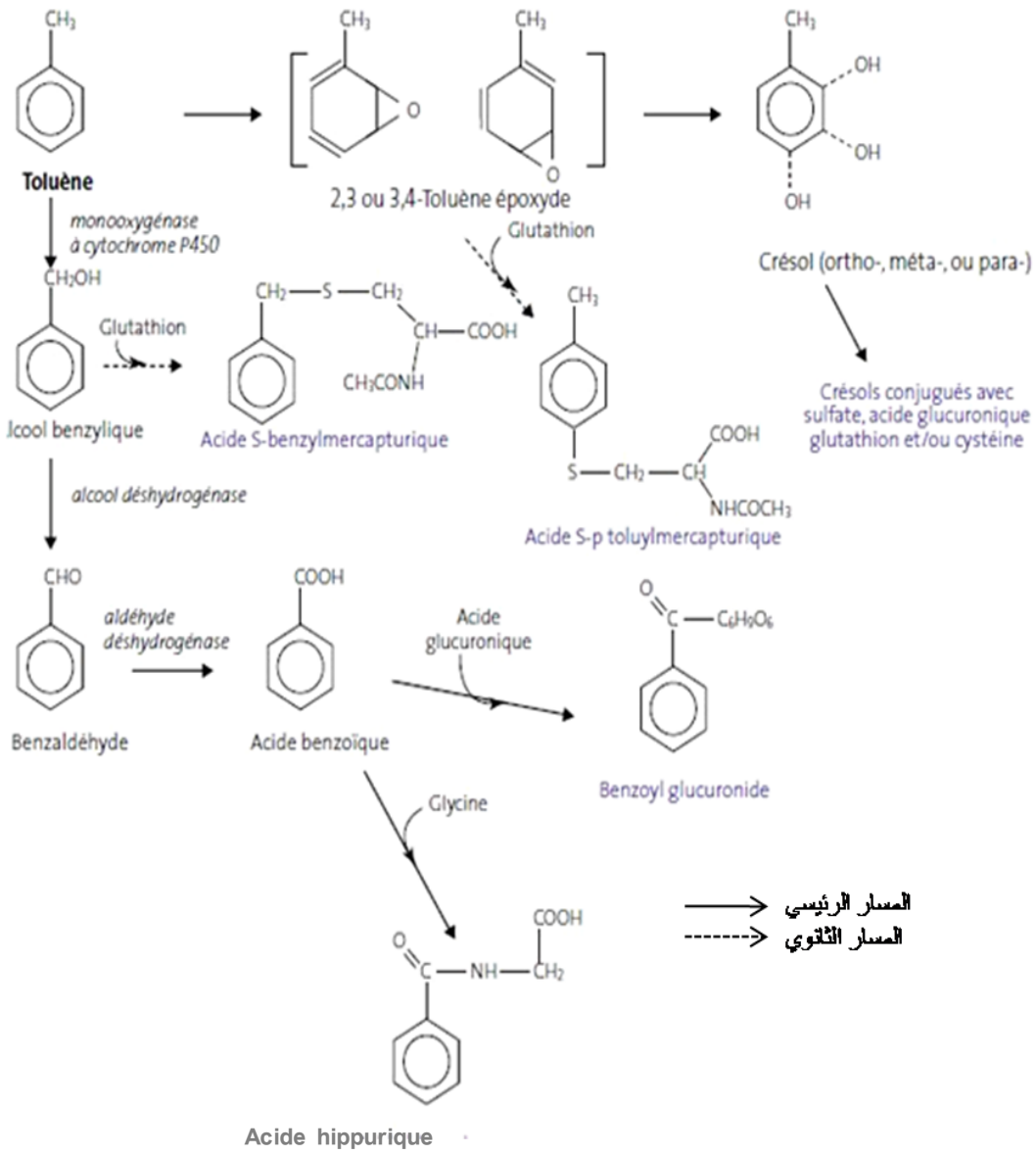
بعد امتصاص الطوليان ونفوذه للعضوية، يتثبت في هيموغلوبين ومصل الدم ليتوزع بعد ذلك عبر الدورة الدموية إلى سائر أعضاء الجسم، يرتبط وبصفة كبيرة بالأنسجة الغنية بالدهون **(INRS, 2008)** حيث أكدت تجارب **Ameno *et al* (198*9*)** التي أجريت على جثة رجل عمره 51 سنة، متوفى إثر تناوله لجرعة كبيرة من الطوليان، أن أعلى تراكيزه في الأنسجة بالغرام، كانت في الكبد ثم البنكرياس و الدماغ فالدم، ثم النسيج الدهني والنخاع الشوكي، في حين أن تجارب أخرى بينت أن أنسجة رجل عمره 61 سنة توفي إثر تعرضه لاستنشاق الطوليان بتركيز كبير، أظهرت اختلافا في كمية الطوليان المرتبط من نسيج لآخر، حيث كانت أكبر كمية منه في الدماغ والكبد **(Paterson & Sarvesvaran, 1983)**، أما تجريبيا فإن **Pyykko *et al* (1977)** عرضوا فئران إلى تراكيز مختلفة من هذا المركب عن طريق الفم و الشم، فوجدوا أن تركيزه كان كبيرا في الكبد والدماغ، كما وجدوا كميات معتبرة في النسيج الكلوي. إضافة إلى أن أبحاثا أخرى أوضحت إمكانية تواجده في

الجهاز العصبي المركزي والمحيطي، المادة البيضاء نخاع العظام، الجسم المخطط المخيخ **(Ameno *et al.* , 1992)** ويملك القدرة على إختراق المشيمة، والعبور إلى الجنين **(Ghantous & Danielsson , 1986)** كما يتواجد بكميات كبيرة في الغدد اللبنية ويفرز مع حليب الأم **(Pellizzari *et al* . , 1982)** .

I.4. 3. الميتابوليزم

يتعرض الطوليان لجملة من التفاعلات الكيميائية داخل الكبد، وأول خطوة في عمليات الأيض، تتم عن طريق أنزيمات الأكسدة بواسطة سيتكروم P450 (CYP) للخلايا الكبدية، حيث يتم إضافة مجموعة الهيدروكسيل إلى مجموعة الميثيل ليتشكل كحول البنزليك Alcool benzylique، ثم يتأكسد هذا الأخير إلى حمض البنزويك Acide benzoïque، و يترافق مع الجليسين Glycine ليكون حمض الهيبريك **(IARC , 1999)** .

ويمثل حمض الهيبيريك 80% من الطوليان المتحول عن طريق عملية الأيض، أما méthylbenzoquinon، crésols، méthyhodroquinon، فيمثلون نسبة بين 3 إلى 9% من الطوليان المتحول (الشكل.**02**) **(ATSDR , 2000)**. تظهر هذه النواتج الميتابوليزمية سمية كبيرة اتجاه العضوية بسبب قدرتها في التسبب لأمراض السرطان، و التأثير على وظيفة التكاثر **(Murata *et al.* , 1999 ; INRS , 2008)**.



الشكل (02) ميتابوليزم الطوليان عند الإنسان و الحيوان **(ATSDR,2000)**

I.4.4. الطرح

حوالي 80% من الطوليان الممتص يطرح عبر الجهاز الإخراجي البولي مع البول، على شكل نواتج ميتابوليزمية، 10 – 20 % المتبقية تطرح عن طريق الجهاز التنفسي مع هواء الزفير بصفة غير متحولة، وأقل من 2% منه يطرح مع البراز **(INRS,2001)**، ولقد أوضحت التجارب أن نسبة النواتج الميتابوليزمية المطروحة في البول تختلف من ناتج إلى آخر كما يلي: حمض الهيبريك (60–70)% و(10–20)% من benzoyle glucuronide، crésols، acide mercapturiques وقد تتغير هذه النسب بسبب تعرض العينات المدروسة (الحيوان ، الإنسان) لمركبات كيميائية تعيق أو تمنع عملية الميتابوليزم كالإجزيلان Alcool éthylique **(ATSDR , 2000)**.

ولقد حددت مدة نصف حياة حمض الهيبيريك من 02 إلى 04 ساعات ، نصف حياة ortho – crésol إلى 04 ساعات، مدة نصف حياة الطوليان من 02 دقيقة إلى 30 دقيقة للجرعات قليلة التركيز ، ومن 03 ساعات و30 دقيقة إلى 20 ساعة للجرعات كبيرة التركيز **(INRS , 2008)** .

I.5. التأثيرات السامة للطوليان على الإنسان والحيوان

I.5. 1 .التأثيرات ذات السمية الحادة

الطوليان و بتراكيز ضعيفة نسبيا يتسبب في إحداث العديد من أعراض السمية الحادة خاصة على الجهاز العصبي المركزي، وقد يؤدي إلى الموت **(NTP , 1990)** حيث أصيبت مجموعة من الأشخاص المعرضون لـ 281 إلى 562 ملغ/م^3 من الطوليان لفترات قصيرة بفقدان التوازن، الدوران، إلتهاب مخاط الأنف، الإحساس بالنعاس **(Echeverria *et al.* , 1989 ; INERIS ,2005)** ، كما يتسبب استنشاق كميات كبيرة منه في الشلل النصفي ، فقدان الذاكرة التهاب البشرة والعينين **(INRS, 2008)**، وفي دراسة تشخيصية لـ **Miller & Hunnewell (1998)** التي أجريت على شخص يبلغ من العمر 38 سنة أن تركيزا عاليا من الطوليان يتسبب في ثقل لسانه، عدم وضوح رؤيته، حركة لا إرادية لعضلة عينه ، ضمور مناطق في المخيخ وتضرر عصبه البصري.

كما لوحظ أن بعض عمال مصانع الصباغات؛ التي تستخدم الطوليان كمذيب عضوي لمنتجاتها بتراكيز من (0 إلى 100 ppm) ، قد أصيبوا بتهيج في العين، التعب، النعاس، الصداع،إضافة إلى اضطرابات هضمية (**Baelum *et al* . , 1985**).

I.5.2. التأثيرات ذات السمية المزمنة

قد يؤدي التعرض المتكرر للطوليان إلى الموت أو تأثيرات سلبية على جميع أجهزة الجسم بصفة عامة والجهاز العصبي بصفة خاصة وكبيرة، لأنه غني بالأوعية الدموية ويحتوي على نسبة عالية من الدهون التي تمكن الطوليان من الذوبان و الارتباط بها **(Benignus , 1981)** ، فبعد 10 دقائق من عملية الامتصاص عن طريق الشم، لوحظ تواجده في النخاع المستطيل ثم الدماغ ثم المخيخ ثم منطقة تحت السرير العصبي **(Gospe & Galaban, 1988)** مما يؤدي إلى إحداث تلف العديد من الوظائف الأساسية، فبعد نهاية تجارب على فئران عرضوا للطوليان بتراكيز مختلفة (344-620 ملغ/ كلغ) /اليوم/المدة 04 أسابيع عبر الجهاز الهضمي عن طريق الجرع ،لوحظ إصابة الفئران بفقدان حاسة السمع، وتلف خلايا الأذن الخارجية **(Sullivan , 1986)** كما بينت تجارب مجموعة من الباحثين أن الفئران المعرضة لشم 320 ppm من الطوليان ينخفض وزن أدمغتها ووزن قشرتها الدماغية، تصاب بمرض الرعاش باركنسون، الزهايمر، نوبات الصرع **(Hormes et al., 1986;Ron, 1986; Sara et al., 1987; Kyrku lund et al.,1987)** و ذلك بسبب إنخفاض كمية الفسفولبيدات في القشرة الدماغية ،حيث يستطيع هذا المركب أن يغيير لبيدات المخ **(Rosenberg *et al* , 1988 a; Rosenberg *et al* , 1988 b; Filley *et al* , 1990)** ولبيدات المادة البيضاء **(Ameno *et al*., 1992)** مما يحدث خللا في الاتصالات الخلوية والمبادلات الأيونية بين الخلايا العصبية **(Engelke *et al* ., 1996)** كما تتسبب تراكيزه العالية 500 ppm في تغيير عدد النواقل العصبية النور أدرينالين و الدوبامين في مختلف مناطق المخ **(Geller & Hudnell , 1997)** مما يحدث عدة تأثيرات سلبية على النشاط العضلي، وعمل الأعصاب المحيطية **(NPIS , 2010 , ATSDR , 2000)** كما أفادت بعض الدراسات المهنية، أن كمية أنزيمات الكبد، تزيد وبصفة معنوية عند العمال المعرضون للطوليان بتراكيز مختلفة بين 113-1312 ملغ/م³ **(ATSDR , 2000)**، كما لوحظ تزايد وزن كبد عمال معرضون للطوليان بسبب تضخم الخلايا الكبدية حسب ما أبداه الفحص المجهري للأنسجة **(NTP , 1990)**.

ومن مظاهر تأثير الطوليان على الجهاز الإطراحي البولي، تغير وزن الكلى لأشخاص معرضون لـ 1786 ملغ/كلغ وذلك بسبب اضمحلال النفرونات، مما أثر على وظيفة الكلى وإحداث فشل كلوي **(NTP, 1990)** وتواجد الدم، الحديد و البروتينات في البول**(USEPA, 1987; ATSDR,2000)** ولقد أشارت النتائج المخبرية إلى أن الطوليان يتسبب في نقص البوتاسيوم والفوسفات في الدم، وقد يرجع ذلك إلى تأثر وظيفة الكلى **(Patel & Benjamin , 1986).**

قاما **Horiguchi & Inoue (1977)** بتعريض فئران إلى 1000 ppmمن الطوليان عن طريق الشم لمدة 20 يوم وأخرى 4000 ppm لمدة 08 أسابيع، فلاحظا زيادة في عدد كريات الدم البيضاء، انخفاض الصفائح الدموية، نقص في نسيج نقي العظام، في حين أن أعمال **Burns *et al* (1994)** بينت أن الطوليان لا يحدث فرقا معنويا في عدد الكريات الدم الحمراء وبالمقابل فهو ينقص من نشاط الخلايا القاتلة، أما **Hsieh *et al*(1989)** ، فلقد بينوا قدرة الطوليان على إنقاص في عدد الكريات الدموية الحمراء والبيضاء واللمفاوية، وزيادة رد الفعل المناعي للجسم عن طريق زيادة في عدد مولدات الضد، ويصاحب هذه التغيرات الزيادة في حجم الغدة الثيموسية.

كما يتسبب الطوليان في التهابات خطيرة في الجهاز التنفسي العلوي حيث لوحظ التهاب الأنف والشعب الهوائية لعمال معرضون لـ 750−3000 ملغ/ م^3 منه ولعدة سنوات **(ATSDR,2000) .**

I.5. 3 .الأمـراض السرطانيـة

إن أغلب الدراسات التي تعنى بالكشف عن قدرة الطوليان في التسبب لأمراض سرطانية عند الإنسان، كانت في الأوساط المهنية **(IARC, 1989)** ففي دراسة **Svensson *et al* (1990)** لعمال في مجال الصحافة والطباعة للفترة ما بين 1925 - 1985 لمدة لا تقل عن ثلاث أشهر، وجدوا زيادة في نسبة الوفيات الناجمة عن سرطان الجهاز الهضمي والمعدة وسرطان الجهاز التنفسي، في حين أن هناك دراسات أخرى لعمال تعرضوا للطوليان فقط، لم تثبت أي إصابة بمرض السرطان . **(Wen *et al* , 1985 ; Carpenter *et al*.,1988 ; Blair *et al*., 1998 ; Costantin *et al* .,2008)** على خلاف بعض النتائج الأخرى التي أثبتت زيادة في الإصابة بسرطان الغدد اللمفاوية **(Olsson & Brandt,1980 ; Miligi *et al* .,2006)** وسرطان القولون عند العمال **(Dumas *et al*,2000 ;Goldberg *et al*.,2001)** إلا أن الوسط المهني غير كاف لإثبات التأثير المسرطن للطوليان، نظرا لإمكانية تواجد مواد كيميائية أخرى و احتمال تدخين العمال , **(Lehman & Hein .2006)**

أما تجريبيا فلقد أوضحت نتائج تجارب أجريت على الفئران والجرذان عرضوا لاستنشاق 1200 ملغ/كلغ من الطوليان لمدة 06 ساعات ونصف /اليوم/05أيام/أسبوع لمدة عامين، وتجارب أخرى حول تناول فئران لهذا المركب عن طريق الجرع بتركيز 500ملغ/كلغ/يوم/مدة4-5 أيام/أسبوع لمدة سنتين، أوضحت هذه النتائج تسبب الطوليان في إحداث أورام سرطانية للغدد اللمفاوية، في حين أن أغلب التجارب التي أجريت حول مدى تأثيره عن طريق الجلد لأمراض سرطانية كانت سلبية **(INRS, 2008)**.

ولكن وبالرغم من هذه المعطيات وغيرها فلقد صنفت الوكالة الدولية للبحوث السرطانية أن الطوليان ينتمي ضمن المجموعة 3 (غير مسرطن للإنسان)، وذلك لعدم كفاية الأدلة على تأثيره على الإنسان، وعدم إحداثه لأمراض سرطانية تجريبيا **(INRS ,2010)**.

I.5.4. التأثير السام على المادة الوراثية

إن نتائج تأثير الطوليان على مورثات السلمونيلا كانت سلبية ونفس الملاحظة سجلت من خلال دراسة مورثات خلايا الغدد اللمفاوية المسرطنة عن طريق الطوليان للفئران **(ATSDR,2000)** وفي تجارب أخرى حول تأثير الطوليان على مورثات الحيوان أثبتت قدرته على إحداث تغيير في الكروموزومات مع عدم ملاحظة طفرات وراثية **(Gerner-Smidt & Friedrich,1978)** ومن أجل محاولة معرفة ذلك على الإنسان فلقد قام **Pitarque *et al* (2002)** بمعاينة 52 شخص عامل في مصنع الأحذية يتعرضون يوميا للبنزين، الأسيتون، والطوليان (20 – 62 ppm)، فوجدوا زيادة في عدد نوييات الخلايا، دون حدوث تبادل بين الكروماتيدات .

I.5.5. التأثير على وظيفة التكاثر و التطور الجنيني

صنف الطوليان من طرف الاتحاد الأوروبي ضمن الصنف 02 أي مركب سام يؤثر سلبا على الخصوبة الذكرية و الأنثوية و التطور الجنين **(JOCE,2004)** . بالرغم من قلة الدراسات التي تثبت تأثيره على وظيفة التكاثر و/أو التطور الجنيني عند الإنسان والتي تم اغلبها في الميدان المهني **(ATSDR,2000)**.

I.5.5. 1.التأثير على وظيفة التكاثر

I.5.5. 1.1. الجهاز التناسلي الأنثوي

من خلال دراسة **Von-Burg (1993)** لنساء عاملات معرضات لاستنشاق الطوليان ومذيبات عضوية أخرى لوحظ اضطرابات كثيرة لفترات الحيض لديهن، أما تجارب **Plenge-Bönig & Karamus (1991)** بينت أن عاملات في مصانع تستعمل الطوليان بتراكيز بين 50 و 150 ppm قد تعرضن لاضطرابات في الدورة الشهرية، مصحوبة بتغير في تركيز FSH و LH و البرولاكتين، أما تجريبيا فنتائج **TAP *et al* (1996)** لأبحاث أجريت على إناث الفئران المعرضة لـ 3000 ppm لمدة 07 أيام، بينت تغير على مستوى بنية البيوض مع تخريب للمتوكوندريا و الجريبات مع عدم ملاحظة تضرر وتلف أنسجة المبايض **(NTP, 1990)**.

I.5.5. 1.5. 2. .الجهاز التناسلي الذكري

من أجل معرفة مدى تأثير الطوليان على وظيفة التكاثر عند الذكر و على القدرة الإخصابية، أجريت العديد من التجارب التي أثبتت تأثيره السام على هذه الوظيفة وذلك بسبب قدرته على التغيير في بعض الخصائص البيولوجية والخلوية للحيوانات المنوية، وعلى أنسجة الخصي من خلال إحداثه لتلف لخلايا سرتولي عند الإنسان **(Suzuki *et al*., 1983)** وفي دراسة **Donald *et al* (1991)** لشاب عمره 28 سنة تعرض لاستنشاق الطوليان لمدة 10 سنوات، لوحظ من خلال دراسة سريرية، ضمور للخصيتين و انخفاض في عدد الحيوانات المنوية، وبعد مدة من إجراء هذه الدراسة توفي هذا الشخص إثر تعرضه لكميات كبيرة من هذا المركب، فقام نفس الفريق من الباحثين بدراسة مدى تأثيره على أنسجة الخصي فلاحظوا، تلف في الخلايا أمهات المني، انحلال وتخريب في الخلايا المنوية، وخلايا سرتولي.

كما قام **Ono *et al* (1996)** بتعريض الفئران لجرعة قدرها 2000 ppm من الطوليان/6 ساعات/يوم/90يوم، فلاحظوا إنخفاض في وزن البربخ وعدد الحيوانات المنوية، وفي تجارب أخرى لم يلاحظ نفس الفريق من الباحثين تلف أنسجة الخصي لفئران وجرذان معرضة لـ 1200ppm من الطوليان لمدة 02 سنوات **(NTP, 1990)**.

I.5. 5. 2 التطـور الجنينـي

إن النساء الحوامل العاملات في المصانع التي تستخدم الطوليان بتركيز 88 ppm عرضة للإجهاض بنسبة تتعدى 12,4% مقارنة بنسبة الإجهاض عند النساء اللاتي لسنا معرضات لهذا المركب ولا لمركب غيره، والتي تبلغ نسبة الإجهاض عندهن 2,9% **(Nag *et al* .,1992)**، كما أنهن قد يتعرضن للولادة المبكرة، نقص في الوزن الكلي لجسم الأم والجنين، ضمور رأس المولود، تأخر نمو الأطفال بعد الولادة **(Arnold *et al* . , 1994)**، مع عدم حدوث تشوهات جنينية **(Taskinen *et al* ., 1994)**، كما أثبت تأثيره تجريبيا على التطور الجنيني لأنثى أرانب حوامل معرضات لـ 267 ppm من الطوليان من المدة 07 إلى 20 يوم من الحمل، حيث أجهضت نسبة كبيرة تلقائيا أجنتها، والبعض الآخر انخفض وزنهن **(Ungvary ,1985)** .

وفي دراسة دامت لمدة جيلين أثبتت التأثير السلبي للطوليان على فئران عرضت لشم 2000 ppm / 6 ساعات / يوم/ لمدة 95 يوم ، وتبدو مظاهر هذه التأثيرات على سلوك المواليد، عجز في قوة العضلات والتنسيق الحركي **(ATSDR , 2000 ; INRS 2008).**

والسبب في كل هذه التأثيرات هو قدرة هذا المركب على اختراق المشيمة والعبور للجنين ليرتبط بأغلب أنسجته، حيث تقدر نسبة تواجده في دم الجنين بـ75% من نسبة تواجده في دم الأم **(Ungvary , 1986)**، كما يتواجد في حليب الأم بكميات تفوق كمية تواجده في دمها بـ 05 مرات مما يزيد في خطورته على الرضيع **(Da-silva *et al*. , 1991).**

تتعدى التأثيرات السامة للطوليان لفترة الطفولة، من خلال إحداث عدة تعقيدات صحية بعيدة المدى كالضعف في الحركة، عدم إتقان الكتابة والتكلم عند الأطفال من 4 - 5 سنوات **(Till *et* *al*., 2001)** .

II . الإجزيـلان

II . 1. تعريفـه

الإجزيلان (CAS N°:1330-20-7) ويسمى كذلك ثنائي مثيل بنزين diméthylbenzène وهو عبارة عن مذيب عضوي ينتمي إلى عائلة الهيدروكربونات العطرية، يملك حلقة بنزينية واحدة، ومجموعتي مثيل (CH_3) صيغته الكيميائية: C_6H_4-(CH_3)2 وكتلته المولية 106,17 غ/مول **(Budavari *et al* ., 1996)**، إن تموضع مجموعتنا المثيل داخل الحلقة البنزينية يشكل ثلاث متماكبات للإجزيلان : para-xylène، (m- xylène) méta - xylène، (o- xylène) ortho - xylène (p- xylène) و تسمى هذه المتماكبات كذلك 1,2 - Diméthylbenzène 1,3- Diméthylbenzèn، 1,4 - Diméthylbenzène على التوالي (شكل.**03**) **(Hancock, 1982).**

يتواجد الإجزيلان التجاري كخليط لهذه المتماكبات بنسب مختلفة 40% من m- xylène % 24، o-xylène، 19 % p- xylène بالإضافة إلى éthylbenzène بنسبة 17% **(Hancock , 1982 ; ATSDR , 2005)**.

وهو عبارة عن خليط ثابت في الشروط النظامية، سائل عديم اللون وشفاف ذو رائحة حادة ومميزة، له القدرة على الاشتعال والانفجار، التبخر والتطاير، لذا فهو ينتمي لعائلة المركبات العضوية المتطايرة (COV) (جدول .**02**) **(INERIS , 2005 ; ATSDR, 2007)**.

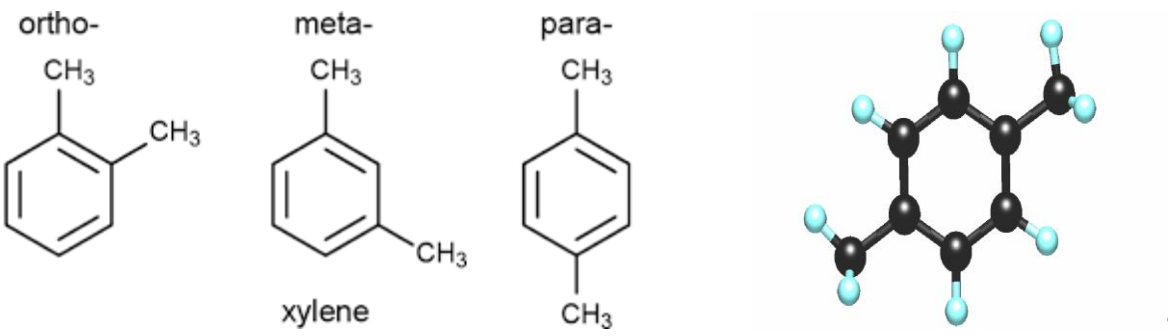
II . 2. مصادر الإجزيلان واستعمالاتـه

ينتج الإجزيلان بعد عملية تكرير البترول بكميات جد كبيرة وبنسب جد متزايدة سنويا، ففي سنة 1983 أنتج عالميا بكميات قدرها 3900 طن**(OMS ,2003)**، وفي سنة 1995 بلغت كمياته الإجمالية 1,5 مليون طن، أما كميات المتماكبات فكانت كمايلي :

- m- xylène 165000 طن
- o - xylène 3098000 طن
- p – xylène 11720000 طن **(Vignes *et al* . , 1998)**

والسبب في هذه الزيادات المعتبرة هو اتساع مجالات استعماله حيث يدخل في تركيب العديد من المنتجات الصناعية، ويستعمل كمذيب عضوي للعديد من المنتجات الصناعية الأخرى، ومن أمثلة ذلك الصباغات والدهانات، الحبر، مواد الصقل والتشحيم، المواد البلاستيكية، مواد التجميل، مواد التنظيف، كما يستخدم في المخابر البيولوجية في تقنية دراسة القطع النسيجية كعامل منظف للعينات

(INERIS , 2006)، كما يدخل في تركيب وقود السيارات ، وقود الطائرات، الإسمنت، ويستخدم لإنتاج حمض Théréphtalique الذي يعتبر كمادة أساسية في صناعة: البوليستر، الألياف، الفيتامينات،..... (Lewis , 1993) .



الشكل (03) البنية التركيب و الكيميائي للإجزيلان ومتماكبته (ATSDR ,2005)

II .3 الخصائص الفيزيوكيميائية

جدول(02): يمثل الخصائص الفيزيوكيميائية للإجزيلان ومتماكباته.

اسم المركب	الإجزيلان			
اسماء المتماكبات	o-xylène	m-xylène	p-xylène	(ATSDR, 1995 ; Budavari *et al.*, 1996)
الصيغة الكيميائية	C_6H_4-$(CH_3)_2$			
الكتلة المولية	106,16 غ/مول			
الوصف العام	سائل شفاف عديم اللون			
الكثافة في الماء	0,880	0,8642	0,8611	
الذوبان في الماء ملغ/ل	178–213	134–146	185–198	Brice & Derwent., 1978
مدة نصف الحياة في الدم	2,6 سا	1,5 سا	2,4 سا	
درجة الانفجار	460 °م	530°م	530°م	
نقطة الغليان	144.4 °م	139.1°م	138.4°م	ATSDR, 1995
معامل التحويل	1 ملغ/م^3 = 0,23 ppm 4,34 =ppm1 ملغ/م^3			
القيم القصوى لتعرض المهني VLEP	VLEP-8h = 270 ملغ /م^3 (50 ppm) VLEPT =540 ملغ/م3 (100 ppm)			INRS,2009

II.4 . مسار الإجزيلان داخل العضوية عند الإنسان والحيوان

II .4. 1. الامتصاص

ينفذ الإجزيلان إلى العضوية عبر الجهاز التنفسي (الشم أو الاستنشاق)، الجهاز الهضمي (الجرع) وعبر الجلد، وتختلف نسب إمتصاصه من مسار لآخر كمايلي: عبر المسار الهضمي 90 % وبالمقابل 60-65 % عبر الجهاز التنفسي، أما نفاذيته عبر الجلد فتقدر نسبتها بـ 2 % **(Ghantous & Danielsson, 1986)**، ويعتبر المسار التنفسي من أكفأ هذه المسارات، وذلك لسرعة نفاذية الإجزيلان في الدم بعد فترة قصيرة من التعرض له، حيث تزداد نسبة امتصاصه عبر هذا المسار بزيادة النشاط الفيزيائي بنسبة تصل إلى 30 % **(INRS , 2009)**، ومن أجل معرفة نسب امتصاص متماكبات الإجزيلان قام **Ogata *et al*** **(1979)** بتعريض أشخاص متطوعين لتناول 40 ملغ من الإجزيلان (مزيج متماكبات) / كلغ فوجدوا تفاوت في نسب الامتصاص باختلاف المركب كمايلي : 34% من o – xylène ، 53% من m – xylène .

أما تجريبيا فإن تناول الفئران للإجزيلان عبر الجهاز الهضمي بكمية قدرها 0,27 ملغ/ كلغ ، تسبب في ظهور أعلى كمية أي ذروة الامتصاص في الدم بعد 20 دقيقة**(Turkall *et al* ., 1992)**، وفي دراسة مقارنة بين معدل الامتصاص عبر الجهاز التنفسي وعبر الجلد، لوحظ أن غمر اليدين لمدة 15 دقيقة في الإجزيلان بتركيز 2 ملغ / سم³ من مساحة الجلد يعادل استنشاق ppm100 من هذا المركب لنفس المدة **(Engstrom *et al*., 1977)**.

II .4. 2. التوزيـع

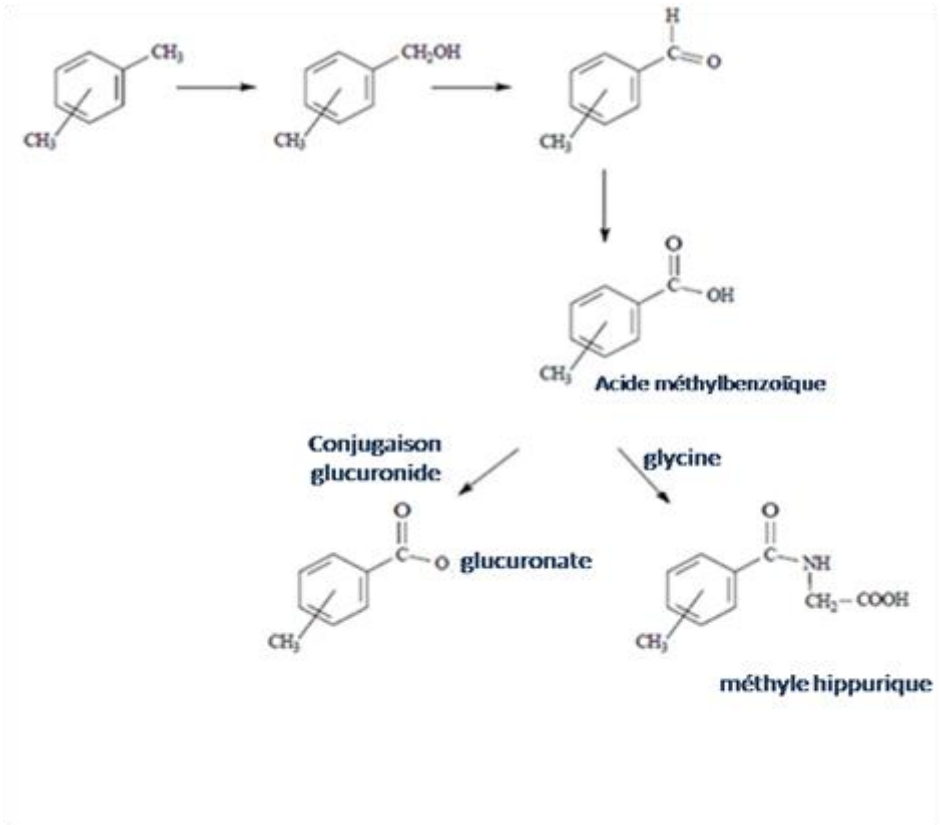
بعد عبور الإجزيلان للعضوية، يتثبت في الدم ويتوزع إلى سائر أعضاء الجسم وخاصة الأنسجة الغنية بالدهون وذلك لامتلاكه لخاصية القدرة على الذوبان في الدهون **(ATSDR , 2005)**، حيث لوحظ مرتبطا بنسيج المخ، العضلات الكبد، الكلى، الأنسجة الدهنية **(Kumarathasan *et al* ., 1998)** وفي تجارب **Astrand *et al* (1978)** لوحظ ارتباط الإجزيلان المستنشق في الدم بالعديد من الأنسجة الدهنية أهمها الكبد والكلى.

وبهدف تتبع مسار هذا المركب في العضوية وتحديد أماكن تواجده، قام مجموعة من العلماء بوسم إشعاعي لهذا المركب وتقديمه للفئران عبر الشم، ولقد أوضحت النتائج تمركز كبير للإشعاع في نخاع العظام، الجلد، المادة البيضاء للمخ، النخاع الشوكي، [الكبد والكلى **(Bergman *et al* ., 1983)**.

كما يتواجد في ثدي الأم ويفرز مع حليبها، وله القدرة على إختراق المشيمة والعبور إلى الجنين (Ungvary *et al* ., 1980).

II .3.4 . الميتابوليـزم

90 % من الإجزيلان الممتص يتعرض للأيض داخل الخلايا الكبدية حيث يتم إضافة مجموعة الهيدروكسيل (OH) لمجموعة الميثيل وذلك عن طريق تفاعلات الأكسدة ، والتي تتم بفضل السيتكروم cyp 2E1 أنزيم ، فيتشكل حمض بنزويك، يترافق هذا الأخير مع الجليسين ليتشكل حمض ميثيل الهيبيريك (**Sugihara & Ogata , 1978 ; Ogata *et al*., 1980, Elovaara,1982**)، ويعد هذا الأخير الناتج الأساسي والأكبر كماً من مجمل النواتج الميتابوليزمية لأيض الإجزيلان ، وتمثل نسبته 90% من الإجزيلان الممتص، أما 10% المتبقية منه فهي عبارة عن méthylbenzyliques، o-toluylglucuronides و أحماض xylènols (الشكل. 04) (**Norström *et al*., 1989**) .



الشكل (04) ميتابوليزم الإجزيلان عند الإنسان و الحيوان (**Low *et al* .,1989**)

II .4.4. الطـرح

حوالي تسعون بالمئة 90% من الإجزيلان الممتص عبر الجهاز التنفسي ، والمتحول إلى حمض مثيل الهيبريك بعد عملية الاستقلاب (الميتابوليزم) في الخلايا الكبدية يطرح مع البول، أما 05% المتبقية تطرح على شكل إجزيلان غير متحول مع هواء الزفير **(Pellizzari *et al* ,1992)**. وكمية تقل عن 0,005% تطرح بصورة غير متحولة مع البول، 02 % على شكل xylénols **(Sedivec *et al* ., 1976)**.

نسبة الإجزيلان المطروح في البول على شكل mércapyurique هي 10%، أما o – xylène فهي 0,6% ،m – xylène و p – xylène فهي 1,3% **(Van Doorn *et al* . ,1980)**.

II. 5 . التأثيرات السامة للإجزيلان على الإنسان والحيوان

II. 5. 1. التأثيرات ذات السمية الحادة

إن أغلب الدراسات التي تعنى بتقدير مدى التأثير الحاد للإجزيلان على الإنسان كانت في الميدان المهني، أين بينت مدى خطورته، حيث أن التعرض لتراكيز عالية قد يسبب الموت، فقد توفي شخص من ثلاث آخرين بعد تعرضهم لشم الطلاء مكون من 10.000 ppm من الإجزيلان، أي ما يعادل 90% من المذيبات الأخرى المستعملة في تركيب هذا الطلاء، عملية التعرض امتدت لساعات و تشريح جثة الرجل الميت أوضحت أن سبب الموت هو الاختناق بسبب تعطل وظائف الرئتين ونزيف حاد بين الأسناخ الرئوية، نزيف في المخ بسبب نقص الأكسجين، أما الشخصين اللذين لم يموتا فالفحص السريري لهما أوضح زرقة في الأطراف والأصابع، اضطرابات سلوكية مؤقتة كالارتباك وفقدان الذاكرة مما يدل على تأثر الجهاز العصبي المركزي(**Morley *et al*. , 1970**).

كما لوحظ صعوبة في التنفس آلام في الحلق عند نساء ورجال معرضون لشم m – xylène بتركيز 50 ppm ولقد شوهدت الأعراض بعد 60 إلى 118 دقيقة من عملية الاستنشاق **(Ernstgard *et al* . , 2002)**، كما يحدث الإجزيلان بتراكيز عالية اضطرابات هضمية ومعوية كالتقيؤ، الغثيان وحرقة في المعدة **(Sandmeyer , 1981)** عدم انتظام دقات القلب وارتفاع ضغط الدم بسبب ارتفاع تراكيز الكاتيكول أمين في الدم ونقص الأكسجين **(Gamberale *et al* . ,1978 ; Hake *et al* . , 1981 ;Seppalainen *et al* . ,1989)**.

كما لوحظ تسببه في الدوخة، الصداع، التعب، فقدان القدرة على التوازن **(Carpenter *et al*. 1975)**, إلتهاب العينين والجلد **(Engstrom *et al* .,1977)** .

إن تناول الفئران للإجزيلان بجرعات كبيرة عن طريق الجرع عبر الجهاز الهضمي يتسبب في تزايد سرعة التنفس، عدم القدرة على التوازن و الشلل النصفي **(NTP,1986) .**

وفي تجارب أخرى لوحظ أن تناول الفئران لـ 1470 ppm من هذا المركب يتسبب في نزيف للأنف، كما سجلت نفس الأعراض عند الأرانب المعاملة بهذا المركب عن طريق الشم مع ملاحظة إلتهاب العينين والقرنية، انسلاخ الجلد وجفافه **(INRS ,2009) .**

II .5. 2. التأثيرات ذات السمية المزمنة

إن أغلب الدراسات التي تهتم بمعرفة مدى التأثير السام للإجزيلان على المدى الطويل عند الإنسان ،كانت في الميدان المهني والتي تستخدم إلى جانب هذا المركب مركبات ومذيبات كيميائية أخرى قد لا تقل خطورة عنه **(ATSDR ,2005).**

ولقد ثبت تأثير الإجزيلان على الجهاز العصبي المركزي، من خلال تسببه في آلام حادة للرأس مصحوبة بدوار ودوخة لعمال في مصانع البلاستيك والمطاط والطباعة التي تستخدم الإجزيلان كمذيب لصناعة منتجاتها بتركيز 14 ppm **(Uchida *et al*. , 1993)** ، كما يؤثر على الخلايا العصبية والعضلية محدثا إجهادا عضليا، وعدم القدرة على تحمل الضغط و حمل الأشياء **(Maraly *et al* ., 1970)** إضافة إلى تشنجات عضلية، انخفاض السيالة العصبية لعمال معرضون للإجزيلان مدة 10 إلى 30 سنة **(Jovanovic *et al* ., 2004)**.

ومن مظاهر تأثيره على الجهاز العصبي عند الإنسان تسببه في فقدان الوعي والذاكرة، نزيف في الدماغ، نوبات الصرع **(Arthur & Curnock, 1982 ; Goldie ,1996)** ،الاكتئاب، ضمور الدماغ عند رسامين لمدة لا تقل عن 10 سنوات **(Triebig *et al* . ,1992 a;Triebig *et al* ., 1992 b)** أما تجريبيا فإن استنشاق متماكبات الإجزيلان (o- xylène و p- xylène ، m- xylène) قد يتسبب للجرذان ، الفئران، القطط والكلاب، في تشنجات عضلية، صعوبة التنفس، تغيرات سلوكية، تأثير على حاسة البصر والسمع، إنخفاض في عدد النواقل العصبية كالأستيل كولين في الدماغ ومنطقة تحت السرير العصبي (مما أثر على وظيفة تنظيم ومراقبة الحركة، النوم و الذاكرة) **(Furnas& Hine,1958; Savolainen *et al*.,1978; Andersson *et al*.,1981; Pryor *et al*.,1987)**

كما يؤثر p-xylène على الخصائص البيوكيميائية للخلايا العصبية للمخ بتركيز 800 ppm، محدثا بذلك انخفاضا في عدد النواقل العصبية على مستوى محاور الخلايا العصبية **(Padilla &**

(**Lyerly,1989**) إضافة إلى قدرته (الإجزيلان) على تغيير زيادة مستوى الدوبامين و / أو النور أدرينالين في منطقة تحت السرير العصبي لفئران معرضة لشم الإجزيلان بتركيز 2000 ppm (**Andersson *et al* . ,1981a**).

يتسبب هذا المركب في إصابة الجهاز التنفسي بعديد من الأمراض المزمنة، حيث أبلغ عامل في شركة الكيمياويات عن تعرضه لآلام في الحلق، ضيق في التنفس بسبب استعماله المستمر للإجزيلان (**Narvaez & Song, 2003**) ولوحظت نفس الأعراض لدى عمال تعرضوا لمتماكباته، إضافة إلى إلتهاب الرئتين وعجز في وظائف الرئة (**Hipolito, 1980 ; Roberts *et al* . ,1988**).

ومن أجل محاولة معرفة ميكانيزم تأثير الإجزيلان على وظائف الرئتين، قام العديد من الباحثين لإجراء تجارب على الحيوانات فاستنتجوا أن الإجزيلان بتركيز 2000 ppm، m- xylène (75-2000) ppm، p- xylène (2000 ppm)، o- xylène (1000− 3400 ppm) كل هذه الشروط التجريبية تتسبب في تخفيض نشاط السيتكروم الرئوي (**Patel *et al* . ,1978; Day *et al* . , 1992**) ويتم ذلك بسبب قدرة Méthylbenzène على تخفيض النشاط الميكروزومي للخلايا الرئوية، مما يؤدي إلى تسببه انخفاض مستوى الأنزيمات ، مما يسرع عملية تخريب الخلايا الرئوية (**Smith *et al* .,1982**).

ومن أعراض تأثيره المزمن على الجهاز الدوري، تسببه في تغيير التواتر والنشاط الكهربائي للقلب، والذي ظهر من خلال إجراء عمال للتخطيط الكهربائي للقلب électrocardiogramme (**Hipolito ,1980**)، و لقد أوضح **Morvai *et al* (1978)** أن لهذا المركب القدرة على تغيير البنية النسيجية للقلب والأوعية الدموية لفئران معاملة 230 ppm لمدة 04 أسابيع، كما بين **Xu *et al* (2009)** أن الإجزيلان يتسبب في العديد من أنواع أمراض القلب والشرايين، ومن ناحية أخرى بين **Hipolito (1980)** أنه يتسبب في تخفيض عدد الخلايا الدموية البيضاء لنساء عاملات في مصانع تعتمد عليه كمذيب عضوي في صناعة منتجاتها ، ولقد أثبت **Korsak *et al* (1994)** من خلال تجارب على الفئران عوملت بـ 100 ppm / 80 يوم، أن تحليل نتائج المؤشرات الدموية بين إنخفاض في نسبة الخلايا الدموية البيضاء بنسبة 35 % بالمقابل انخفض عدد الكريات الدموية الحمراء بنسبة 18,5 %.

كما تتعدى التأثيرات السامة للإجزيلان إلى التأثير على وظائف الكبد وبنيتها، حيث يتلف بنيتها النسيجية، ويزيد من مستويات أنزيماتها في مصل العمال الذين يتعرضون له (**Morley *et al* .,**

(1970) وفي دراسة تجريبية لـ **Ungvary *et al*** **(1980)** استنتجوا أن متماكبات الإجزيلان تؤثر على مستوى كمية أنزيمات الكبد؛ وتزيد من نشاط السيتكروم P450 عند الفئران .

وبالنظر لتأثير هذا المركب على وظائف الكلى، فلقد أشارت العديد من الدراسات إلى إمكانية إحداثه لعدة تغيرات سلبية من شأنها التسبب في الفشل الكلوي ومن مظاهر هذه التأثيرات، زيادة في كمية بروتين الألبومين وكريات الدم الحمراء والبيضاء في البول **; (Askergren ,1981 Askergren,1982)** مع ارتفاع مستوى غلوكورونيداز في البول **(Franchini *et al* . , 1983)**.

II .5. 3 . الأمـراض السرطانيـة

لم يتم تصنيف الإجزيلان كمركب سام يتسبب في إحداث أمراض سرطانية من طرف الإتحاد الأوروبي **(JOCE,1998)** لكن هناك تجارب وأبحاث أثبتت عكس ذلك، حيث لوحظ مرض سرطان العقد اللمفاوية، لدى عمال مصانع البلاستيك بعد عدة سنوات من تعرضهم لعدة مذيبات عضوية ومن بينها الإجزيلان **(Arp *et al* .,1983)** وقد توافقت هذه الملاحظات مع نتائج **Miligi *et al* (2006)**، حيث قاموا بتقييم مدى تسبب هذا المذيب العضوي في أمراض مسرطنة لعمال معرضون له، كما بين **Gerin *et al* (1998)** أن التراكيز العالية منه تتسبب في سرطان المستقيم .

ولقد بينت الدراسات التجريبية أن الإجزيلان كذلك يتسبب في أورام خبيثة لخصي ذكور الفئران المعرضة لاستنشاق 1000 ملغ/كلغ /يوم/5−30 دقيقة/ الأسبوع / لمدة 04 أسابيع، وسرطان الثدي لفئران معرضة لـ 500 ملغ/كلغ/اليوم وسرطان الدماغ، أورام لمفاوية، سرطان الدم لذكور وإناث جرذان معرضة لـ 500 إلى 800 ملغ/كلغ/اليوم لمدة 104 أسبوع **(Moltomi *et al* . , 1997)** .

II .5. 4. التأثيـر السام على المادة الوراثيـة

لقد تم اختبار جميع متماكبات الإجزيلان من طرف الاتحاد الأوروبي من أجل معرفة مدى تسببه في إحداث تأثيرات سامة على الجينات والمورثات عند الإنسان والحيوان، ولقد أثبتت كل التجارب والإحصائيات سلبية الاختبارات لذلك صنف ضمن المركبات التي لا تحدث تغيرات في العوامل الوراثية عند الإنسان والحيوان **(JOCE 1998)** .

فعند الإنسان أثبت عدم إحداثه لأي تغيرات أو تبادلات صبغية في المرحلة التمهيدية للخلايا اللمفاوية، مع عدم حدوث الطفرات الوراثية **(Richer *et al* ., 1993)** ونفس النتائج عند معاملة جرذان بـ 100ملغ/كلغ من الإجزيلان، حيث لم يلاحظ أي تغيير في الكروموزومات أو طفرات وراثية لأغلب الأنسجة **(ATSDR ,2007) .**

كل متماكبات الإجزيلان لا تحدث أي طفرات وراثية عند السالمونيلا *S. Typhimurium* **(Bos *et al* .,1981 ;Florin *et al* ., 1985 ; Shimizu *et al*., 1985)** لكنه (الإجزيلان) يتسبب في إحداث طفرات وراثية عند *E – coli* **(Shimizu *et al*., 1985 ; DeMarini *et al*. ,1991)** .

II .5. 5. التأثير على وظيفة التكاثر والتطور الجنيني

II .5. 1.5. التأثير على وظيفة التكاثر

لم يتم تصنيف الإجزيلان كمركب سام يؤثر على وظيفة التكاثر و التطور الجنيني **(JOCE ,2004).**

لا توجد معلومات كافية حول دراسة مدى تأثير الإجزيلان على الخصوبة عند الذكر أو الأنثى، وأغلب المعلومات المتوفرة غير كافية للحكم بصحة أو عدم تأثيره على وظيفة التكاثر عند الإنسان والحيوان **(INRS , 2010).**

II .5. 1.1.5. الجهاز التناسلي الأنثوي

إن النساء العاملات والمعرضات لمزيج من المذيبات العضوية وبما فيها الإجزيلان بتركيز 100 ppm يتعرضن لاضطرابات في الدورة الشهرية مصحوبة بتغيرات هرمونية **(Barlow & Sullivan,1982 ; IARC,1989)** في حين أن **Sallmen *et al* (2008)** أثبت عدم وجود تغير معنوي في خصوبة عاملات معرضات لهذا المركب. وهناك تقارير أخرى تفيد أن عاملات معرضات للمذيبات العضوية الهيدروكربونية العطرية، يتعرضن لاضطرابات هرمونية، خاصة أثناء تشكيل الجسم الأصفر ، وما قبل مرحلة التبويض، ولقد أثبت أن نسبة مساهمة الإجزيلان في هذه الاضطرابات هي 50% **(Reutman *et al* .,2002) .**

II .5. 2.1.5. الجهاز التناسلي الذكري

لم يثبت تأثير الإجزيلان على وظيفة التكاثر عند الذكور ولم يلاحظ تأثيره على البنية النسيجية للخصي، لكن قد يؤثر على القدرة الإخصابية (**Nylen *et al.* ,1989 ; Korsak *et al.* , 1994**) لكن هناك أعمال تنفي هذه النتائج وتؤكد أن له قدرة على تخفيض عدد الحيوانات المنوية و النشاط الحركي مع تخفيض في نشاط أنزيم الأكروزين، مما ينقص القدرة على تخصيب البويضات، مع ملاحظة ارتفاع في تركيز الفركتوز (**Xiao *et al*., 2001 ; Niaz *et al* ., 2015**) .

II .5. 2.5. التطور الجنينـي

إن العاملات الحوامل والمعرضات للإجزيلان لمدة 03 مرات في الأسبوع يتعرضن لإجهاض، أما النسوة اللاتي أكملن حملهن، فلم يلاحظ أي تشوه لأجنتهن (**Taskinen *et al.* ,1994**) .

من اجل معرفة مدى تأثيره على التطور الجنيني عند الفئران، عوملت هذه الأخيرة بجرعات تصل إلى 2060 ملغ/ كلغ في اليوم الخامس إلى اليوم الخامس عشر من الحمل ، فلوحظ انخفاض وزن الأم والجنين مع تشوه الأجنة (تشوه الحنك (الشفة الأرنبية)) (**Marks *et al* .,1982**)، وعند معاملة الفئران لجرعات تقدر بـ 2000 ملغ/كلغ / اليوم من اليوم الثامن من الحمل إلى اليوم الثاني عشر، لم يلاحظ أي تغيير سواء للأم أو للجنين ، وكانت نسبة التشوهات 0% (**Seidenberg *et al* . , 1986**).

في حين أوضحت إحدى التجارب أن الإجزيلان بتركيز 350 ppm، يؤدي إلى نقص وزن الأجنة، تشوهات في الهيكل العظمي، وتجارب أخرى بينت إمكانية تسببه في موت الأجنة، وذلك بسبب اختراقه لمشيمة الأم، كما يؤثر على الأطفال وسلوكهم أثناء مرحلة الطفولة بسبب تأثيره على جهازهم العصبي أثناء مراحل التطور الجنيني(**ATSDR ,2007**).

الجزء العملـــي

ثانيا: الجـزء العملي

I.المواد المستعملة

1.I .المادة البيولوجية

أعتمد في هذه الدراسة على ذكور أرانب من نوع *Oryctolagus cuniculus*، حيث تم إحضار 70 أرنبا من مدينة عنابة في شهر أفريل ،تتراوح أعمارها مابين 06 و 07 أشهر، ومتوسط أوزانها (1982,54 ±113,15غ). وضعت الحيوانات في المركز الخاص بتربية الحيوانات بمعهد البيولوجيا، داخل أقفاص معدنية ذات أبعاد (53×60×50) سم^3 في ظروف طبيعية من حرارة، رطوبة، تهوئة وإضاءة.

أعتمد في غذاء الحيوانات على خليط متكون من:قمح، الذرة، الشعير، بودرة الحليب إضافة إلى النباتات الخضراء، الجزر، وزودت الحيوانات بالماء بصفة يومية ومنتظمة.

تركت الحيوانات مدة15 يوم للتأقلم مع الظروف التجريبية.

2.I .المعاملة

الطوليان: مذيب عضوي هيدروكربوني عطري، يحتوي على حلقة بنزينية و مجموعة مثيل واحدة،صيغته الكيميائية $C_7 H_8$ وكتله المولية 92,14 غ/مول(**ATSDR ,2000**).

الإجزيلان: هيدروكربون عطري، يحتوي على حلقة بنزينية و مجموعتين مثيل، صيغته الكيميائية C_8H_{10} وكتلته المولية 106,16 غ/مول، يتواجد عادة كمزيج لثلاث متما كبات méta- xylène ،ortho-xylène para xylène، بنسب مختلفة m-xylène=60%، ortho-xylène=%25-10، para-xylène=%25-10 (**ATSDR ,2005**).

3.I. طريقة المعاملة

قسمت الأرانب (n=70) إلى مجموعتين كل مجموعة تظم 35 أرنبا وتمت المعاملة بطريقتين مختلفتين كمايلي :

1.3.I.المعاملة عن طريق الجرع(عبر الجهاز الهضمي)

تم تقسيم 35 أرنبا إلى مجموعات كمايلي:

المجموعة الأولى: تظم 05 أرانب غير معاملة أعتبرت كشاهد(T،C)

المجموعة الثانية: تظم 15 أرنب قسمت إلى ثلاث أفواج كمايلي

الفوج(D1):يظم 05 أرانب عوملت بالطوليان بتركيز 50ppm.

الفوج(D2):يظم 05 أرانب عوملت بالطوليان بتركيز 100 ppm. .

الفوج(D3):يظم 05 أرانب عوملت بالطوليان بتركيز 150ppm.

المجموعة الثالثة : تظم 15 أرنبا قسمت إلى ثلاث أفواج كمايلي

الفوج(L1):يظم 05 أرانب عوملت بالإجزيلان بتركيز 50 ppm.

الفوج(L2):يظم 05 أرانب عوملت بالإجزيلان بتركيز 100 ppm.

الفوج(L3):يظم 05 أرانب عوملت بالإجزيلان بتركيز 150 ppm.

تمت المعاملة عن طريق الجرع بصفة منتظمة ودورية بمعدل 1 ملل من المذيب العضوي/06 أيام لمدة 04 أسابيع متتالية ،وذلك قبل وجبة الغداء(الشكل .**05**).

2.3.I.المعاملة عن طريق الشم(عبر الجهاز التنفسي)

تم تقسيم 35 أرنبا إلى مجموعات كمايلي(الشكل .05)

المجموعة الأولى: تظم 05 أرانب غير معاملة أعتبرت كشاهد (T′،C′)

المجموعة الثانية:تظم 15 أرانب قسمت إل ثلاث أفواج

الفوج (D′1):يظم 05 أرانب عوملت بـ 50ppm من الطوليان

الفوج (D′2):يظم 05 أرانب عوملت بـ 100ppm من الطوليان

الفوج(D'3) :يظم 05 أرانب عوملت بـ150 ppm من الطوليان

المجموعة الثالثة: تظم 15 أرانب قسمت بدورها إلى ثلاث أفواج

الفوج (L′1):يظم 05 أرانب عوملت بـ 50 ppm من الإجزيلان

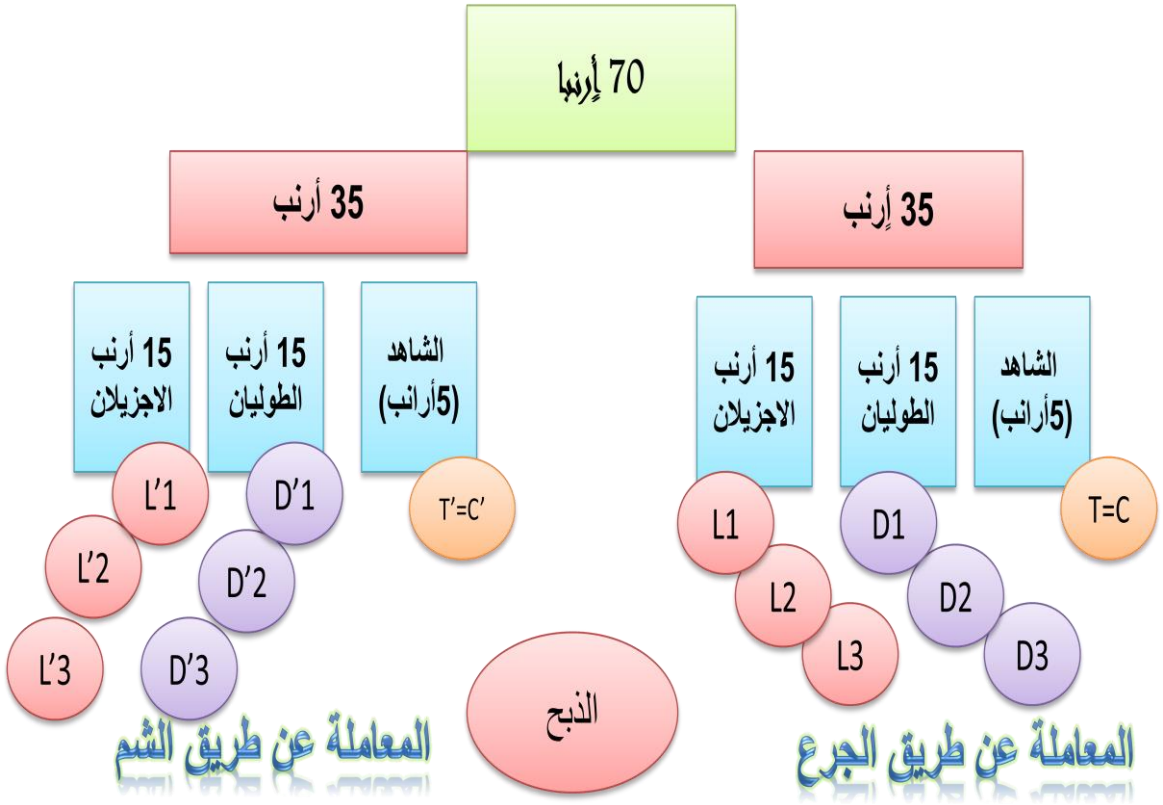
الفوج (L′2):يظم 05 أرانب عوملت بـ 100ppm من الإجزيلان

الفوج (L′3) :يظم 05 أرانب عوملت بـ 150ppm من الإجزيلان

وضعت الأرانب في غرف بلاستيكية حجمها 23,33 دسم^3، وعرضت إلى شم المذيبان العضويان بمعدل 2 0 ملل من المذيب العضوي / ساعتين /اليوم/06 أيام في الأسبوع لمدة 04 أسابيع.

تم وضع المركبات الكيميائية في قطن وعلق فوق سطح الغرف البلاستيكية من الداخل، و عرضت الأرانب المعاملة لفترة ساعتين متتاليتين، أما الفوج الشاهد فلقد وضع بدوره في نفس الضروف التجريبية (الغرف البلاستيكية) دون وضع أي مركب كيميائي.

تمت المعاملة قبل وجبة الغذاء .



مؤشرات التكاثر	المؤشارات البيوكيميائية	المؤشرات الدموية	الدراسة النسيجية
•بعض الخصائص البيولوجية للحيوانات المنوية ، هرمون التستوستيرون	•غلوكوز ،كولسترول،ثلاثي الغليسيريدات، البروتينات الكلية ، الألبومين ، اليوريا ، الكرياتينين ، الغلوتاتيون	•الكريات الدموية الحمراء، الكريات الدموية البيضاء، الخلايا اللمفاوية ،الخلايا وحيدة النواة ،الخلايا المحببة ،كمية الهيموغلوبين، نسبة الهيماتوكريت وعدد الصفائح الدموية	•الكبد ، الخصي

الشكل (05) المخطط التجريبي

I.4.الحصول على العينات

I.4.1.الحصول على الدم

تم الحصول على الدم مباشرة بعد عملية الذبح، حيث قسمت الكمية المتحصل عليها إلى أنابيب إختبار مختلفة المحتوى كمايلي:

- **أنابيب تحتوي على EDTA**: أستعمل بعضها من أجل دراسة المؤشرات الدموية، والبعض الأخر وضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة /الدقيقة لمدة 15 دقيقة، وضعت البلازما المتحصل عليها في الثلاجة تحت درجة حرارة قدرها (– 20°م)، وذلك لإستعمالها في دراسة المؤشرات البيوكيميائية.

- **أنابيب جافة (sec)**: استعملت من أجل التحصل على مصل الدم، لتقدير تركيز هرمون التستوستيرون في الدم.

I.4.2.الحصول على الأعضاء

بعد الذبح قمنا بفتح الجهة البطنية للأرانب واستأصلنا الكبد، ،الخصيتين، البربخ و الكلى ثم تم تقدير وزن كل عضو على حدى بميزان حساس و دقيق و احتفظ بجزء من الكبد و الخصيتين بورق الألومينيوم ووضعت هذه الأجزاء في الثلاجة (–23°م) من أجل تقدير تركيز الغلوتاتيون، وأجزاء أخرى من الكبد، الخصية اليمنى وضعت في محلول بوان(Bouin) الكحولي من أجل إجراء الدراسة النسيجية .

I.4.3.الحصول على السائل المنوي

يتم إحداث شقا على مستوى منطقة رأس البربخ، فيخرج سائل أبيض حليبي و هو السائل المنوي البربخي، تؤخذ قطرة من السائل المنوي البربخي قدرها 01 مكل وتوضع في 49 مكل من السائل الفيسيولوجي Nacl (0,9=%)، من أجل القيام بدراسة بعض المؤشرات البيولوجية للحيوانات المنوية: تركيز، السرعة، نسبة الحركة، نسبة حيوية الحيوانات المنوية.

II المؤشرات المدروسة

1.II.مؤشرات التكاثر

1.1.II.الدراسة البيولوجية للحيوانات المنوية

تم دراسة المؤشرات البيولوجية للحيوانات المنوية حسب **OMS (1993)**

1.1.1.II.تقدير تركيز الحيوانات المنوية

لتثبيط حركة الحيوانات يستعمل المحلول الأتي

يذوب 50غ من بكربونات الصديوم في 250 ملل من الماء المقطر، يأخذ 20 ملل من المحلول المتحصل عليه ويضاف له 20 ملل من الفرمول بتركيز 30%.

يؤخذ 49 مكل من المزيج المتحصل عليه، ويضاف له 0,1 مكل من السائل المنوي البربخي

توضع قطرة من السائل المنوي في خلية Mallassez وتغطى بساترة.

– يحسب عدد الحيوانات المنوية في 05 مجالات (05 مربعات كبيرة) بتكبير ×400

يقدر تركيز الحيوانات المنوية حسب العلاقة التالية:

$$\mathbf{C}\ (\text{حم} \times 10^{6} / \text{ملل}) = \mathbf{N}/(\mathbf{n} \times \mathbf{V} \times \mathbf{D})$$

C: تركيز الحيوانات المنوية

حم: حيوانات منوية

D:معامل التخفيف =50

V:حجم خلية Mallassez

n:عدد الحيوانات المنوية المحسوبة في 05 مربعات كبيرة من خلية Mallassez

N:عدد المربعات الصغيرة = 100 مربع

2.1.1.II . تقدير نسبة حركة الحيوانات المنوية (مكم/ثا)

توضع قطرة من السائل المنوي في شريحة Nageotte، و تغطى بساترة

تتم الملاحظة تحت تكبير ×100 ثم ×400 بالمجهر الضوئي

شريحة Nageotte بها خطوط أفقية متوازية تصل المسافة بين كل خطين متوازين 0,5 مكم

مبدأ هذه العملية هو تقدير زمن قطع حيوان منوي لخطين متوازيين متتاليين، وذلك باستعمال عداد زمني chronomèter، ثم تحسب السرعة حسب العلاقة: **سر= س/ ز(مكم/ثا)**

سر :السرعة(مكم/ثا)

س:المسافة بين خطين متوازيين متتاليين (مكم)

ز :الزمن (ثا)

يتم حساب زمن الإنتقال لـ10 حيوانات منوية على الأقل ثم يقدر متوسط السرعة

3.1.1.II . تقدير نسبة حيوية الحيوانات المنوية

أ-الملون الحيوي

مبدأ هذه التجربة هو أن الخلايا لا تسمح بمرور الملونات الحيوية على عكس الخلايا الميتة التي تملك غشاء بلازمي يسمح بمرور هذه الملونات.

الملون المستعمل: الإيوزين Eosine بتركيز 1%

طريقة الكشف: توضع قطرة من السائل المنوي في شريحة عادية ويضاف لها قطرة من الإيوزين، بعد مزج العينة تمسح على كامل مساحة الشريحة ،وتترك حتى تجف ثم توضع فوقها ساترة

تتم الملاحظة بتكبير ×100 ثم ×400 وتحسب نسبة الحيوانات المنوية الحية إلى الميتة.

ب-إختبار الضغط الأسموزي المنخفض(Test hypo- osmotique) TEST- HOS

يعتمد هذا الاختبار على دراسة مدى مقاومة الغشاء البلازمي للحيوانات المنوية للضغط الأسموزي المنخفض، هذا الوسط يحدث تغيرات مرفولوجية على مستوى سوط الحيوانات المنوية (الشكل .**06**)

المحلول المستعمل

تذوب 0,735 غ من سترات الصوديوم ($Na_3\,C_6H_5O_7,\,2H_2O$) و 1,351 غ من الفركتوز في 100ملل من الماء المقطر، ويجمد المحلول في الثلاجة(- 20°م)

بعد إزالة التجميد نرج المحلول جيدا قبل إستعماله.

طريقة العمل

يوضع 1ملل من المحلول في أنبوب Eppenderf ويترك لمدة 05 دقائق في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°م.

يضاف للمحلول 0,1 ملل من السائل المنوي، يرج و يخلط جيدا، ثم يترك المزيج في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°م ولمدة 30 دقيقة .

الملاحظة بتكبير ×100 ثم ×400 بالمجهر الضوئي.

حساب نسبة الحيوانات المنوية التي أبدت تغيرات شكلية على مستوى السوط (حم حية) و الحيوانات المنوية العادية (الميتة).**(OMS, 1993 ; Jeyendran *et al.*, 1984)**

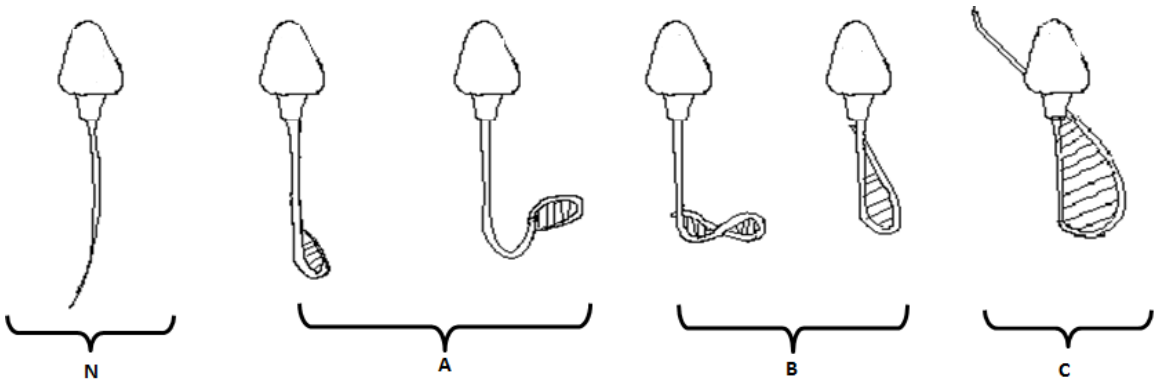
التغيرات الملاحظة

N:عدم تواجد أي تغير شكلي

A:تغير طفيف على مستوى السوط

B:تغير معتبر على مستوى السوط

C:تغير كبير على مستوى السوط



شكل(06) رسم تخطيطي يوضح التغيرات الشكلية للحيوانات المنوية تحت ضغط أسموزي منخفض (OMS,1993) (N)عدم تواجد أي تغير شكلي،(A) تغير طفيف على مستوى السوط،(B) تغير معتبر على مستوى السوط،(C) تغير كبير على مستوى السوط.

II.2.1. تقدير تركيز هرمون التستوستيرون في مصل الدم

المبدأ

تمت معايرة تركيز هرمون التستوستيرون بواسطة تقنية خاصة باستعمال جهاز **TES-VIDAS**، والذي يسمح بالتقدير الكمي لهرمون التستوستيرون في المصل بتطبيق طريقة ELISA، حيث تمت المعايرة بالاعتماد على المزاوجة بين الطريق الأنزيمية المناعية مدعمة في النهاية بتقدير كمية الإشعاع الضوئي للمعقدات (مولد الضد ـ جسم مضاد) والذي يتناسب و تركيز هرمون التستوستيرون (**Litwak ,1992**) .

المواد المستعملة

الكمية	الرمز	المركبات
8×12×1	MTP	صفيحة شرائط للفصل قابلة للكسر مولدات الضد لهرمون التستوستيرون لمصل الفئران (anti-testostérone)
25×1 ملل	ENZCONJ	أنزيمات مرافقة جاهزة للإستعمال يحتوي على هرمون التستوستيرون مرافق مع HRP، مثبتات
1×7×1 ملل	CAL A - G	المعاير G–A 0؛ 0,5؛0,02 ؛ 1,0 ؛ 2,0؛6,0؛ 16 نانو غ /ملل جاهز للعمل يحتوي على هرمون التستوستيرون، مصل الإنسان ،مثبتات
1×2 ملل	CONTROL 1 + 2	الشاهد 2+1 جاهز للعمل يحتوي على هرمون التستوستيرون ، مصل الإنسان ،مثبتات
12×1 ملل	TMB SUBS	محلول أساسي TMB جاهز للاستعمال يحتوي على TMB، Tampon ، مثبتات
12×1 ملل	TMB STOP	محلول موقف لعمل TMB مجهز للاستعمال:.1 M H2SO4
100×1 ملل	WASHBUF CONC	محلول للغسل مركز(×10)
×2	FOIL	ورقة لاصقة

مبدأ العمل

1- وضع 25 مكل من العياري، الشاهد، العينات في الغرف المخصصة في الصفيحة.

2- وضع 200 مكل من الأنزيمات المرافقة في كل الغرف

3- تغطى الصفيحة بواسطة ورق لاصق، ثم تخلط جيدا لمدة 10 ثواني.

4- حضن العينات في الحاضنة لمدة 60 دقيقة، في درجة حرارة (18-25°م).

5- تزال الورقة اللاصقة، نزع محلول المستعمل في الحضن، غسل الصفيحة 3× بـ300 ملل من محلول الغسل المخفف، ثم يتم تقطير الصفيحة بقلبها فوق أوراق ماصة.

6- وضع 100 مكل من محلول TMB في كل غرفة.

7- توضع الصفيحة في الحاضنة تحت درجة حرارة (18-25°م).

8- نقوم بتوقيف التفاعل TMB عن طريق وضع 10 مكل من محلول مثبط TMB، في كل غرفة، يتم خلط محتويات لفترة وجيزة عن طريق هز بلطف لوحة. فيتغير لون من اللون الأزرق إلى الأصفر.

9- بعد مرور 10 دقائق من وضع محلول موقف لعمل TMB تتم القراءة في طول موجة 450 نانومتر (600-650 نانومتر).

قراءة النتائج

يتم خلط المحتويات فترة وجيزة عن طريق هز بلطف لوحة (الصفيحة)، يتغير لون من اللون الأزرق إلى الأصفر.

يتم رسم الكثافة الضوئية (DO)، تركيز العينات يمكن قراءتها من المنحنى القياسي.

نتائج العينات يتم ضروبها في عامل التخفيف، كمايلي:

التستوسترون (نانو غ/ مول)×3,47 = نانو مول / ل

2.II .دراسة المؤشرات الدموية

تمت الدراسة بالاستعانة بجهاز العد الآلي يدعى إسم الجهاز ERMA INC، وهو جهاز يقوم بحساب الترديدات الكهربائية للخلايا ،وهو قادر على إعطاء 18 مؤشرا خاصا بمكونات الدم ، ولقد تم اختيار كمؤشرات لهذه الدراسة (الكريات الدموية الحمراء، الكريات الدموية البيضاء، الخلايا اللمفاوية، الخلايا وحيدة النواة، الخلايا المحببة، كمية الهيموغلوبين، نسبة الهيماتوكريت وعدد الصفائح الدموية)

وصف الجهاز

- تتمثل الوحدة الوظيفية للجهاز في غرفة صغيرة معلقة تصدر منها أنابيب طويلة متصلة بعلب بلاستيكية مملوءة بالمحاليل الكاشفة والمنظفة.
- يحتوي على أنبوب معدني صغير قطره ضيق، يعمل على أخذ كمية من الدم تقدر بحوالي 10مكل.
- يتصل الجهاز بشاشة صغيرة تظهر النتائج.
- الجهاز مزود بالة طابعة.

المبدأ

مبدأ عمل هذا الجهاز هو العد الآلي و الإلكتروني للخلايا، حيث يتم أخذ الدم مباشرة من الأنابيب الحاوية على مادة EDTA المانعة للتجلط، تنقل عينة الدم وتجفف بواسطة محلول مجفف، حيث 10مكل من هذا المحلول تنقل عبر فتحة قطرها 80 مكم بالنسبة لمرور الخلايا البيضاء و أخرى قطرها 60 مكم بالنسبة لكريات الدم الحمراء، وبعد مرور تيار كهربائي على الجهتين المحيطتين بالفتحة فعند مرور إحدى الخلايا الدموية ترتفع مقاومة الفتحة و ذلك تناسبا مع حجم الخلية فيسجل داخل الجهاز ترديدات كهربائية.

طريقة العمل

- تشغيل الجهاز عن طريق الضغط على جهاز التشغيل.
- إدخال المحاليل الكاشفة ليبدأ العد بواسطتها مع وضع أنبوب العينة في تماس مع الأنبوب الصغير لأخذ كمية الدم لداخل الجهاز.
- بدأ عملية العد الآلي.
- ظهور النتائج على الشاشة.
- طبع النتائج .

II.3. دراسة المؤشرات البيوكيميائية للدم

II.3.1 . تقدير تركيز الغلوكوز في البلازما

تم تقدير تركيز الغلوكوز في بلازما الدم بواسطة الطريقة الأنزيمية اللونية **(Trinder, 1969 ; Kaplan, 1984a)**

المبدأ

تتم أكسدة الغلوكوز بواسطة أنزيم(GOD) glucose oxydase ليعطي gluconique و peroxyde d'hydrogène (H2O2)

الناتج H_2O_2 يتفاعل مع أنزيم peroxydase (POD) بوجود 4-aminophénazone

ينتج مركب quinoneimine ذو لون وردي، كمية هذا المركب تتناسب و كمية الغلوكوز **(Espagne)** Kit spinréact

$$\beta - D - glucose + O_2 + H_2O \xrightarrow{GOD} Acide\ gluconique + H_2O$$

$$H_2O_2 + Phénol + 4 - Aminophénazone \xrightarrow{POD} Quinoméimene + H_2O_2$$

الكواشف المستعملة

الكاشف الأول	Tris pH 7,4 Phénol	92ميلي مول /ل 0,3 ميلي مول /ل
الكاشف الثاني (الأنزيمات)	Glucose oxydase (GOD) Peroxydase (POD) 4-Aminophenazone (4-AP)	15000وحدة/ل 1000وحدة/ل 2,6ميلي مول/ل
المحلول العياري	غلوكوز	100ملغ/دسل

طريقة التحضير

يذاب محتوى زجاجة الكاشف 2 في الكاشف 1، المحلول الناتج هو الذي نستعمله لمعايرة الغلوكوز ويبقى لمدة شهر في درجة حرارة (2°م– 8°م) و 7 أيام في حرارة المخبر.

طريقة المعايرة

المحلول الكاشف (الأبيض)

العينة:بلازما الدم

المحلول العياري: 1غ/ل من الغلوكوز

توضع هذه المحاليل في الأنابيب بالطريقة التالية:

	الأبيض	العياري	العينة
العياري	–	10مكل	–
العينة	–	–	10مكل
الكاشف	1ملل	1ملل	1ملل

ترج الأنابيب جيدا وتترك لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة المخبر.

تقرأ الكثافة الضوئية للعينات مقابل الأبيض على طول موجة ضوئية 505 نانومتر(409 –505 نانومتر) باستعمال جهاز المطياف الضوئي.

يحسب تركيز الغلوكوز حسب العلاقة التالية:

$$\text{تركيزالغلوكوز (غ/ل)} = \frac{\text{الكثافة الضوئية العينة}}{\text{الكثافة الضوئية للعياري}} \times n(n = 1)$$

II.2.3. تقدير تركيز الكولسترول في البلازما

تم تقدير تركيز الكولسترول في البلازما بواسطة الطريقة الأنزيمية اللونية **(Trinder ,1969)**

المبدأ:

يتم حساب تركيز الكولسترول بعد الإماهة الأنزيمية ثم الأكسدة بواسطة cholestérol oxydase، فيتشكل المركب H_2O_2، هذا الأخير عن طريق أنزيم peroxyde d'hydrogène يتحول إلى quinoneimine والذي يأخذ اللون الوردي كمية هذا المركب تتناسب مع كمية الكولسترول. تتم التفاعلات الأنزيمية وفقا للمعادلات التالية**(Espagne)** Kit spinréact:

$$\text{Esters de cholestérol} + +H_2O \xrightarrow{\text{cholestérol estérase}} \text{Choléstrol} + \text{Acide gras}$$

$$\text{cholestérol} + O_2 \xrightarrow{\text{cholestérol oxydase}} \text{cholest} - 4 - \text{en} - 3 - \text{one} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{Phénol} + 4 - \text{Aminophénazone} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinoméimene} + +4H_2O_2$$

الكواشف المستعملة

الكاشف 1	PIPES pH 6,9 Phénol	90ميلي مول/ل 26ميلي مول/ل
الكاشف 2 **الأنزيمات**	Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4-Aminophénazone (4-AP)	1250وحدة/ل 300وحدة/ل 300وحدة/ل 0,4ميلي مول/ل
المحلول العياري	كولسترول	2غ/ل

طريقة التحضير

يذاب محتوى الكاشف 2 في محتوى زجاجة الكاشف 1، المحلول المتحصل عليه هو الكاشف عن الكولسترول ويبقى ثابتا لمدة 4أشهر في درجة حرارة (8°م–2°م) و 40 يوما في حرارة المخبر.

طريقة المعايرة

المحلول الكاشف (الأبيض)

العينة بلازما الدم

المحلول العياري (2غ/ل)

	الأبيض	**العياري**	**العينة**
العياري	–	10مكل	–
العينة	–	–	10مكل
الكاشف	1ملل	1ملل	1ملل

نرج الأنابيب لمدة 10 دقائق في درجة حرارة المخبر

بعد 10 دقائق تقرأ الكثافة الضوئية للعينات مقابل الأبيض على طول موجة ضوئية قدرها 505نانومتر (500–505نانومتر) باستعمال جهاز المطياف الضوئي.

يحسب التركيز بالعلاقة التالية

$$\text{تركيزالكوليسترول}(\text{غ/ل}) = \frac{\text{الكثافة الضوئية للعينة}}{\text{الكثافة الضوئية للعياري}} \times n(n = 2)$$

3.3.II . تقدير تركيز الغلسيردات الثلاثية في بلازما الدم

يتم تقدير تركيز الغلسيردات الثلاثية بالاعتماد على الطريقة الأنزيمية اللونية Kit **(Espagne)** spinréact **(young & Pestaner, 1975)**

المبدأ

يتم تقدير تركيز وفقا للتفاعلات التالية:

$$\text{Triglycéride} \xrightarrow{\text{Lipoprotéine lipase}} \text{glycérole} + \text{acide gras}$$

$$\text{Glycérol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glycérolkinase,Mg}^{\leftrightarrow}} \text{glycérole} - 3 - \text{Phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glycérole} - 3 - \text{Phosphate} + O_2 \xrightarrow{\text{Glycérole} -3-\text{Phosphate oxydase}} H_2O_2 + \text{dihydroycétone} - \text{P}$$

$$H_2O_2 + \text{amino} - \text{antipyrin} + \text{chloro} - 4 - \text{phénol} \xrightarrow{\text{Proydase}} \text{quinonéimine rose} + H_2O_2$$

الكواشف

الكاشف الأول	Tompon pipes pH 7,5 p-Chlorophénol	5 ميلي مول /ل 2 ميلي مول/ل
الكاشف الثاني	Lipoprotéine lipase (LPL) Glycérol kinase (GK) Glycérol-3-oxydase (GPO) Peroxydase (POD) 4-Aminophénazone(4-AP) ATP	150000وحدة /ل 800وحدة/ل 4000 ميلي مول/ل 400وحدة/ل 0,7 ميلي مول / ل 0,3 ميلي مول/ل
المحلول العياري	الغلسيردات الثلاثية	2غ/ل

طريقة التحضير

يذاب محتوى زجاجة الكاشف 2 في الكاشف 1، المحلول الناتج هو المستعمل لتقدير تركيز الغلسيردات الثلاثية ومن خصائصه أنه يبقى ثابتا لمدة 06 أسابيع في درجة حرارة (2°م-8°م) أو لأسبوع واحد في حرارة المخبر.

طريقة المعايرة

المحلول الكاشف (الأبيض)

العينة : بلازما الدم

المحلول العياري

نضع هذه المحاليل في الأنابيب بالطريقة التالية:

	الأبيض	العياري	العينة
العياري	-	10مكل	-
العينة	-	-	10مكل
الكاشف	1مل	1مل	1مل

ترج الأنابيب وتترك لمدة 10دقائق في درجة المخبر.

ثم تقرأ الكثافة الضوئية للعينات مقابل الأبيض في جهاز المطياف الضوئي على طول موجة ضوئية 505 نانو متر (490-505 نانومتر).

طريقة حساب التركيز

$$\text{تركيز الغليسيريدات الثلاثية} \left(\text{غ/ل}\right) = \frac{\text{الكثافة الضوئية للعينة}}{\text{الكثافة الضوئية للعياري}} \times n \,(n = 2)$$

4.3.II . تقدير تركيز البروتينات الكلية في البلازما

تمت هذه الدراسة بواسطة طريقة) Biuret (**Biuret *et al.*, 1974**) Kit spinréact(**Espagne**

المبدأ

تعتمد هذه الطريقة على تفاعل الروابط الببتيدية للبروتينات مع شوارد النحاس في وسط قلوي وتشكيل معقدات ذات لون بنفسجي والتي تعاير شدة كثافتها اللونية.

$$\text{Protéine} + Cu^{+2} \xrightarrow{\text{pH alcalin}} \text{Cu} - \text{complexe protéinique}$$

الكواشف

الكاشف 1 **كاشف بيوريه**	Sodium iodique Na-K-trtrate Potassium iodique cuivre sulfate	100ميلي مول/ل 15ميلي مول/ل 5ميلي مول/ل 19 ميلي مول /ل
الكاشف 2 **الأبيض**	Sodium iodique Na-K-trtrate	10ميلي مول/ل 16ميلي مول/ل
العياري	بروتين	60غ/ل

طريقة المعايرة

نضع هذه المحاليل في الأنابيب بالطريقة التالية

	الأبيض	**العياري**	**العينة**
ماء مقطر	0,02 ملل	–	–
العياري	–	0,02 ملل	–
العينة	–	–	0,02 ملل
الكاشف	1ملل	1ملل	1ملل

ترج الأنابيب جيدا وتترك في حمام مائي درجة حرارته 37°م لمدة 15 دقيقة

يقرأ تركيز العينات مقابل الأبيض على طول موجة 540نانو متر بواسطة جهاز المطياف الضوئي

$$\text{تركيز البروتينات} \left(\text{غ/ل}\right) = \frac{\text{الكثافة الضوئية للعينة}}{\text{الكثافة الضوئية للعياري}} \times n(n = 6)$$

5.II . تقدير تركيز اليوريا في الدم

تم تقدير تركيز اليوريا حسب الطريقة الإنزيمية اللونية Kit spinréact **(Espagne)**

المبدأ

يتم تقدير التركيز وفقا للتفاعلات التالية:

$$\text{Urée} + H_2O \xrightarrow{\text{Uréase}} (NH_4^+)2 + CO_2$$

$$NH_4^+ + \text{Salicylat} + NaCLO \xrightarrow{\text{Nitroprussiate}} \text{Indophénol}$$

يأخذ indophénol اللون الأخضر وشدة التلوين تتناسب طرديا و نسبة التركيز (**Kaplan, 1984b**).

الكواشف المستعملة

الكاشف 1 **Tampon**	Phosphate pH 6,7 EDTA Salicylate de sodium Nitroprussiate de sodium	50ميلي مول /ل 2 ميلي مول /ل 400 ميلي مول /ل 10 ميلي مول /ل
الكاشف2 **NaClO**	Hypochlorite de sodium (NaClO) Hydroxyde de sodium	140 ميلي مول /ل 150 ميلي مول /ل
الكاشف 3(أنزيمات)	Uréase	3000وحدة/ل
المحلول العياري	Urée aqueuse (standard)	50ملغ /دسل

يذوب الكاشف 3 في الكاشف 1 ثم يمزج جيدا.

طريقة التحضير

	الأبيض	**العياري**	**العينة**
الكاشف (ملل)	1,00	1,00	1,00
العياري (مكل)	–	10	–
العينة (مكل)	–	–	10

يتم خلط المزيج ،جيدا ويوضع في الحاضنة لمدة 10 دقائق في درجة حرارة (15–25°م)

	الأبيض	**العياري**	**العينة**
الكاشف 2 (ملل)	1,0	1,0	1,0

يخلط المزيج ويحضن في درجة حرارة (15–25°م) لمدة 30 دقيقة

تقرأ الكثافة الضوئية للعياري مقابل الأبيض، في طول موجة ضوئية 580 نانومتر.

حساب تركيز

يتم حساب تركيز اليوريا حسب المعادلة التالية :

$$\text{تركيز اليوريا (ملغ/دل)} = \frac{\text{الكثافة الضوئية للعينة}}{\text{الكثافة الضوئية للعياري}} \times n (n = 50)$$

6.3.II . تقدير تركيز الكرياتينين في الدم

تم تقدير تركيز الكرياتينين حسب الطريقة اللونية حسب Kit spinréact **(Espagne)**

المبدأ

يعتمد الإختبار على تفاعل الكرياتينين مع بيكرات الصديوم، حيث يتفاعل الكرياتينين مع بيكرات القلوية، ويتكون معقد أحمر اللون، شدة كثافة اللون المتحصل عليها يتناسب طردا مع تركيز الكرياتينين **(Murray ,1984).**

الكواشف

كاشف 1	Acide picrique	17,5 ميلي مول /ل
كاشف 2	Hydroxyde de soduim	0,29 ميلي مول /ل
كاشف 3	كرياتينين	2ملغ /ل

يتم مزج محتوى الكاشف 1 في محتوى الكاشف 2، الكاشف المتحصل عليه يبقى ثابتا لمدة 10 أيام في درجة حرارة المخبر.

طريقة المعايرة

	الأبيض	**العياري**	**العينة**
الكاشف (ملل)	1,0	1,0	1,0
العياري (مكل)	–	100	_
العينة (مكل)	_	–	100

يتم الخلط و يترك المزيج لمدة 30 ثانية، ثم تقرأ الكثافة الضوئية A_1 وبعد 80 ثانية تقرأ الكثافة الضوئية A_2 .

حساب التركيز

$$\text{تركيز الكرياتين (ملغ/دل)} = \frac{\Delta A\text{عينة} - \Delta A\text{الابيض}}{\Delta A\text{العياري} - \Delta A\text{الابيض}} \times n \ (n = 2)$$

$A_1 - A_2 = A\Delta$

7.3.II . تقدير تركيز الألبومين في الدم

المبدأ

في وسط حامضي Ph= 4,20، أخضر بروموكريزول **(vert bromocrésol)** يتحد و بشكل إنتقائي مع الألبومين ويشكل معقد أخضر اللون كما يلي**(Doumas ,1971):**

$$\text{Albumine} + \text{BCG} \xrightarrow{\text{pH } 4.20} \text{complexe albumine} - \text{BCG}$$

الكواشف المستعملة

الكاشف	Tampon succinate, pH 4.2 Vert de bromocrésol Brige 35	87 ميلي مول/ ل 0.2 ميلي مول/ ل 7.35ميلي مول/ ل
العياري	Albumine bovine	5غ/دسل

طريقة المعايرة

	الأبيض	**العياري**	**العينات**
الكاشف (ملل)	5	5	5
العياري (مكل)	–	20	–
العينة (ملل)	–	–	20

بعد مزج العينات تحضن في دراجة حرارة 37°م، وتقرأ الكثافة الضوئية، على طول موجة 628 نانومتر بعد 25 ثانية.

$$\text{تركيز الألبومين (غ/دل)} = \frac{\text{كثافة الضوئية للعينة}}{\text{كثافة الضوئية للعياري}} \times n.\ n (=5)$$

II.3. 8.تقدير تركيز الغلوتاتيون(GSH) على مستوى الكبد و الخصي

الخصائص الفيزيوكيميائية للغلوتاتيون

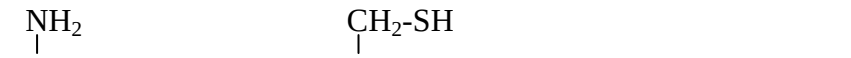
الوزن الجزيئي :307,33 غ/مول

الحالة الفيزيائية :صلب

درجة الإنصهار:195°م

الذوبان: الماء ،الإيثانول و الأمونيا

الصيغة الكيميائية



المبدأ

تم تقدير تركيز الغلوتاتيون حسب طريقة **Weckbeker & Cory (1988)** وذلك بالإعتماد على جهاز المطياف الضوئي لقياس الكثافة الضوئية لحمض 2-nitro-5- marcapturique الناتج من اختزال حمض 5 ,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque وذلك عن طريق مجاميع (SH–) للغليتاتيون و لإزالة البروتينات من خليط، والحفاظ على مجاميع (SH–) ،ويستعمل عادة حمض sulfosalicylique.

طريقة تحضير المحاليل المستعملة

- المحلول المنظم Tris ($C_4H_{11}NO_3$) 0,4 مول، يحتوي على 0,02 مول من EDTA:

يذاب 4,8456غ من Tris + 0,7444 غ من EDTA في 100 ملل من الماء المقطر، ثم تحدد درجة pH عند 9,6 بإضافة Hcl أو NaOH.

- محلول EDTA (0,02 مول) : يذاب 1,8714 غ من المسحوق في 250 ملل من الماء المقطر.
- محلول sulfosalicylique (0,25غ): يذاب 0,25 غ من المسحوق في 100 ملل من الماء المقطر.

- محلول DNTB (0,01 مول): يذاب 99 ملغ من المسحوق في 25 ملل من الماء المقطر.

طريقة المعايرة

1-تحضير خليط العينة

- يؤخذ 200 ملغ من النسيج (الكبد، الخصية) و توضع في أنبوب إختبار ويضاف 0,02 مول من EDTA ،تطحن الأنسجة يدويا ثم أليا، لمدة 3دقائق بالنسبة للكبد و 5 دقائق بالنسبة للخصية، لابد من وضع الأنابيب التي تحتوي على العينات في إناء مليء بالثلج لتفادي إرتفاع درجة الحرارة.
- يوضع الخليط المتحصل عليه في جهاز الطرد المركزي بسرعة 5000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة.
- المستخلص الناتج (الطافي) يستعمل في قياس تركيز البروتين و الغلوتاتيون.

2-تقدير تركيز بروتين النسيج

تم قياس تركيز البروتينات حسب طريقة **Bradford (1976)** الذي يستعمل الأزرق كوماسي (BBC) ككاشف حسب المراحل التالية:

يضاف 5 ملل من BBC إلى 0,05 ملل من المستخلص الطافي ويخلط المزيج جيدا.

بعد 5 دقائق تقرأ الكثافة الضوئية تحت موجة ضوئية 595 نانومتر بالنسبة للمحلول الأبيض الذي يحتوي على الماء المقطر مكان المستخلص .

تقدير تركيز البروتينات في العينات بالاعتماد على منحنى القياسي.

تحضير المنحنى القياسي

يحضر محلول ألبومين مصل العجل BSA بتركيز 1ملغ/ملل (1 ملغ من BSA في 1ملل من الماء المقطر).

يؤخذ كميات مختلفة من هذا المحلول قدرها:20-40-60-80-100 مكل في أنابيب اختبار.

يكمل الحجم في كل أنبوب إلى 100مكل بواسطة الماء المقطر.

يضاف لكل الأنابيب 4 ملل من الكاشف BBC أزرق كوماسي.

يتم الخلط جيدا

تقرا الكثافة الضوئية لهده المحاليل على طول موجة ضوئية 595 نانومتر مقابل الأبيض الذي يحتوي على 100مكل ماء مقطر +4 ملل من كاشف أزرق كوماسي.

3- طريقة نزع البروتينات

-تؤخذ 0,8 ملل من العينة ويضاف 0,2 ملل من حمض sulfosalicylique (0,25 %) ، يمزج الخليط جيدا ثم يترك لمدة 15 دقيقة في الثلاجة، توضع العينة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 1000 دورة لمدة 05 دقائق.

- المستخلص الناتج (الطافي) يستعمل في قياس تركيز الغلوتاتيون .

- يؤخذ 0,5 ملل من المحلول الطافي، يضاف لها 1ملل من المحلول المنظم Tris (0,4 مول) الحاوي على0,02 مول من EDTA (PH=6) ، يضاف للمزيج 0,025 ملل من محلول DTNB (0,01 مول) المذاب في الميثانول، يترك هذا المزيج لمدة 05 دقائق في درجة حرارة الغرفة من أجل التفاعل و ثبات اللون .

- تقرأ الكثافة الضوئية للعينات على طول موجة ضوئية 412 نانو مول مقابل محلول الأبيض الذي يحتوي على الماء المقطر.

طريقة حساب التركيز

$$GSH\ (\text{نانومول/ملغ بروتين}) = \frac{1,525 \times 1 \times DO}{0.5 \times 0.8 \times 13100\ \text{/ملغ بروتين}}$$

حيث أن:

DO:الكثافة الضوئية للعينة.

1: الحجم الكلي المستعمل لإزالة البروتينات (0,8+0,2)

525, 1: الحجم الكلي للمحاليل المستعملة + المحلول الطافي (0,025+1+0,5)

13100: ثابت الإمتصاص الخاص بمجاميع SH عند 412 نانو مول.

8, 0: حجم الخليط المستعمل

5, 0: حجم المحلول الطافي من الخليط.

4.II . الدراسة النسيجية

تم انجاز الدراسة لكل من الكبد و الخصي على مستوى مخبر التشريح(anatomie pathologique) المستشفى الجامعي ابن رشد عنابة حسب طريقة **(Martodja& Martodja,1967; Gabe ,1968)**

بعد الحصول على الخصية و الكبد (قطعة عرضية من الخصية وجزء من الكبد) يتم حفظها في محلول Bouin وذلك لحظ الانسجة من التلف (الحفاظ على الشكل وابقائها اقرب ما يمكن الى الحالة الطبيعة) و كذلك من اجل تسهيل اجراء المقاطع .

تحضير محلول Bouin

Formol.....26ملل

حمضAcétique 7ملل

محلول حمضPicrique بتركيز 1%.....45 ملل(1غ من مسحوق حمض Picrique + 99ملل من كحول 95°).

عملية إزالة الماء و الخزن في البرافين تمت باستعمال جهاز اتوماتيكي يسمى Automate هذا الأخير يسمح بمرور العينات عبر 07 حمامات متتالية : 03 حمامات من الايثانول بتراكيز متصاعدة (70-90-100)، حمامين من Xylène و حمامين من البرافين وذلك لمدة 24 ساعة.

- توضع العينات في قوالب تعرف Barres de leukrat
- يتم انجاز مقاطع ذات 5 مكم وذلك باستعمال microtome من النوع Reiechert-2030 jung
- توضع المقاطع المتحصل عليها من الشرائح تحمل شريط من الماء الجيلاتيني بتركيز 0,2 %.
- تجفف بعدها الشرائح على لوحة مسخنة درجة حرارة 70°م لمدة دقيقة او دقيقتين .
- قبل عملية التلوين، يتم نزع البرافين بمرور الشرائح عبر حمامين منXylène لمدة 10دقائق ، ثم حمامين من الايثانول لمدة 10دقائق.

_ يتم إعادة اماهة العينات عن طريق حمام مائي

- التلوين بواسطة Hematoxyline لمدة 10 دقائق
- الغسل بالماء
- غمر الشرائح في محلولEosin بتركيز2 % لمدة 5 دقائق
- يعاد الغسل بالماء
- توضع االشرائح في حمام من الكحول لمدة دقيقة واحدة.
- لتوضيح المقطع توضع الشرائح في حمامين من Xylène لدقيقتين.

في النهاية توضع المقاطع بين شريحة و ساترة وتفحص تحت المجهر بتكبير (×100) ثم (×400) ومن ثم تؤخذ الصور الفوتوغرافية مباشرة.

III .الدراسة الإحصائية

النتائج المتحصل عليها متمثلة في المتوسط ± الانحراف المعياري ($\bar{X}$±SD)، وممثلة في مخطط بياني بالأعمدة (Histogramme) أو منحنيات، أو جداول.

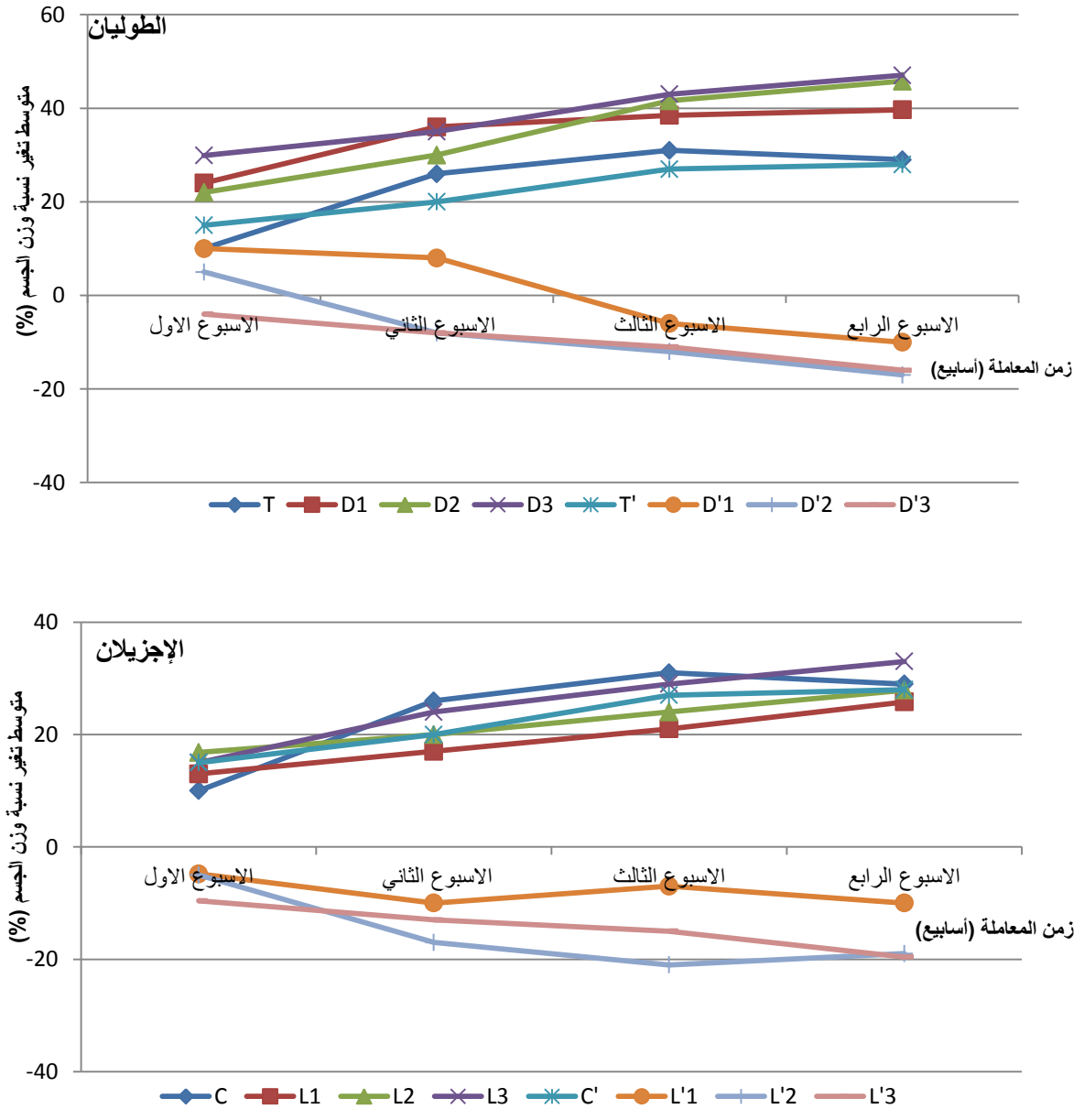
التحليل الإحصائي للنتائج تم بواسطة تحليل التباين أحادي المعامل، AVI للمقارنة بين كل الأفواج المعاملة و الفوج الشاهد، وللمقارنة بين فوجين (فوج معامل و فوج شاهد) تم تطبيق إختبار تحليل الطالب test *t* de student باستعمال MINITAB-13.

النتائج

ثالثا: النتـــــائـج

I .المؤشرات المرفولوجية

1.I.تغير متوسط الفرق النسبي للوزن الكلي للحيوانات المعاملة والفوج الشاهد



الشكل(07).تغير متوسط الفرق النسبي للوزن الكلي لجسم الحيوانات المعاملة بالطوليان الأفواج المعاملة بالإجزيلان و الفوج الشاهد(%) خلال فترة المعاملة.

2.I تغير الوزن النسبي لأعضاء الأفواج المعاملة والفوج الشاهد

يوضح الجدول (**03**) التغير في الوزن النسبي لوزن بعض الأعضاء (الخصية اليسرى، البربخ الأيسر، الكبد، الكلى اليسرى) للحيوانات المعاملة (الطوليان، الإجزيلان) مقارنة بالفوج الشاهد.

2.I . 1 الطوليان

2.I . 1 . 1.الخصية اليسرى

تبين النتائج انخفاض معنوي عالي جدا في وزن الخصي عند الأفواج المعاملة بالطوليان (عن طريق الشم، عن طريق الجرع) مقارنة بالفوج الشاهد حيث سجلت اقل نسبة عند الفوج D3 المعامل بـ ppm150 من الطوليان عن طريق الجرع، و الفوج D ‘3 المعامل بـ 150 ppm من الطوليان عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

2.I . 1 . 2 .البربخ الأيسر

لوحظ من خلال مقارنة تغير نسب وزن البربخ الأيسر عند الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع انخفاض معنوي في وزن هذا العضو مقارنة مع الفوج الشاهد، بالمقابل فلقد سجلنا انخفاض معنوي عالي عند الأفواج المعاملة عن طريق الشم .

وبالمقارنة بين كل فوج معامل و الفوج الشاهد، لوحظ انخفاض معنوي عالي في وزن خصي الأفواج: D2،D3، D’3 و بصفة معنوية عند الفوجين D’1، D’2 .

2.I . 1 . 3.الكبد

من خلال النتائج المبينة في الجدول(**03**) لوحظ ارتفاع معنوي عالي في نسبة وزن الكبد عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، أما الأفواج المعاملة عن طريق الشم فلقد ارتفع الوزن بصفة معنوية عالية جدا .

و لقد لوحظ أن هذا الارتفاع يتناسب طرديا مع تركيز الجرعات المستعملة، ولقد سجل اكبر ارتفاع لوزن الكبد عند الفوج D’3 (9,04±0,11) غ، والذي ارتفع بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد.

I-2 .1. 4. الكلية اليسرى

من خلال الجدول **(03)** لوحظ عدم تغير وزن الكلى للأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد، بالرغم الانخفاض المسجل عند مقارنة كل فوج معامل و الفوج الشاهد، حيث سجلت اقل نسبة للوزن عند الفوج D'3 و الذي انخفض بصفة معنوية عالية مقارنة بالفوج الشاهد.

انخفض الوزن النسبي للكلى، للأفواج المعاملة عن طريق الشم بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد، و لقد سجلت اقل نسبة عند الفوج المعامل بأكبر تركيز.

I.2 .2.الإجزيلان

I.2 .2. 1. الخصية اليسرى

لوحظ انخفاض معنوي عالي جدا في نسبة وزن الخصي إلى وزن الجسم عند الأفواج المعاملة (عن طريق الجرع ، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد. حيث تناسب هذا الانخفاض طرديا مع تركيز الاجزيلان، أي كلما زاد تركيز الإجزيلان زاد الانخفاض. ولقد سجلت اقل نسبة عند الفوج L' 3 (0,01±0,08) %.

I.2 .2.2. البربخ الايسر

من خلال النتائج الموضحة في الجدول**(03)** لوحظ انخفاض في الوزن النسبي للبربخ، بصفة معنوية عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، بالمقابل فلقد كان التغير في الوزن عند الأفواج المعاملة بهذا المركب عن طريق الشم غير معنوي، بالرغم من مقارنة كل من الفوج L'3 L'2 L'1 مع الفوج الشاهد عن طريق تحليل الطالب أظهرت انخفاض معنوي لكل فوجين معا.

I.2 .2. 3.الكبد

يبين الجدول **(03)** ارتفاع معنوي عالي في وزن كبد الافواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد،مع تسجيل اكبر نسبة لوزن الكبد عند الفوج L3 (8,54±0,14) حيث ارتفع وزن هذا الفوج بصفة معنوية عالية جدا مقارنة مع الفوج الشاهد.

I-2 .2. 4. الكلية اليسرى

من خلال ملاحظة الجدول **(03)** لوحظ انخفاض معنوي في وزن الكلى عند الأفواج المعاملة عن طريق الشم و الأفواج المعاملة عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد.

الفوجان L'1 و L'2 لم يسجلا أي فرق معنوي في الوزن النسبي للكلى، على عكس الفوجينL2، L'2 حيث انخفض وزن الكلى بصفة معنوية مقارنة مع الفوج الشاهد، ولقد سجل انخفاض معنوي عالي في الأفواج المعاملة بأكبر تركيز.

جدول (03): تغير متوسط نسبة الوزن النسبي للأعضاء(الخصية اليسرى ، البربخ الأيسر، الكبد و الكلية اليسرى) إلى وزن الجسم للأفواج المعاملة (الطوليان ،الإجزيلان) و الفوج الشاهد%.

	عن طريق الشم							عن طريق الجرع							(%)
	الإجزيلان			الطوليان			الفوج الشاهد	الإجزيلان			الطوليان			الفوج الشاهد	
	L’3	L’2	L’1	D’3	D’2	D’1	C	L3	L2	L1	D3	D2	D1	T	
a***، b***, a’*** b’***	0,01±0,080 ***	0,03±0,12 ***	0,06±0,16 **	0,02±0,05 ***	0,04±0,08 ***	0,03±0,13 ***	0,02±0,19	0,01±0,12 ***	0,03±0,20 Ns	0,04±0,23 NS	0,02±0,13 ***	0,02±0,11 ***	0,02±0,18 NS	0 ,03±0,20	الخصية اليسرى
a* b** a’* b’NS	0,01±0,019 *	0,01±0,018 *	0,01±0,02 *	0,01±0,015 **	0,01±0,018 *	0,01±0,02 *	0,02±0,027	0,01±0,02 **	0,01±0,024 *	0,01±0,03 NS	0,01±0,02 **	0,005±0 ,02 **	0,01±0,029 NS	0,01±0,031	البربخ الأيسر
a** b*** a’** b’**	0,28±8,04 *	0,21±6,77 **	0,19±5,51 *	0,11±9,04 ***	0,17±8,51 ***	0,42±7,60 **	0,12±3 ,24	0,14±8,54 ***	0,08±7,79 **	0,36±5,88 *	0,29±7,94 **	0,38±7,82 **	0,23±4,54 NS	0,24±3,24	الكبد
a NS b* a’* b’*	0,04±0,199 **	0,06±0,25 *	0,05±0,28 NS	0,01±0,20 **	0,02±0,23 *	0,01±0,27 NS	0,02±0,29	0,01±0,20 **	0,02±0,22 *	0,05±0,29 NS	0,04±0,19 **	0,03±0,24 *	0,02±0,30 NS	0,24±0,32	الكلية اليسرى

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد. **b**: المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم و الفوج الشاهد. **a’** المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد. **b’** : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم و الفوج الشاهد.

NS: لا يوجد فرق معنوي، * $P \leq 0,05$ ، ** $P \leq 0,01$ ، *** $P \leq 0,001$

II. دراسة تأثير الطوليان و الإجزيلان على بعض مؤشرات الخصوبة عند ذكور الأرانب

II .1. التغير في بعض المؤشرات البيولوجية للحيوانات المنوية

II .1 .1.التغير في متوسط تركيز الحيوانات المنوية

II .1.1.1.الطوليان

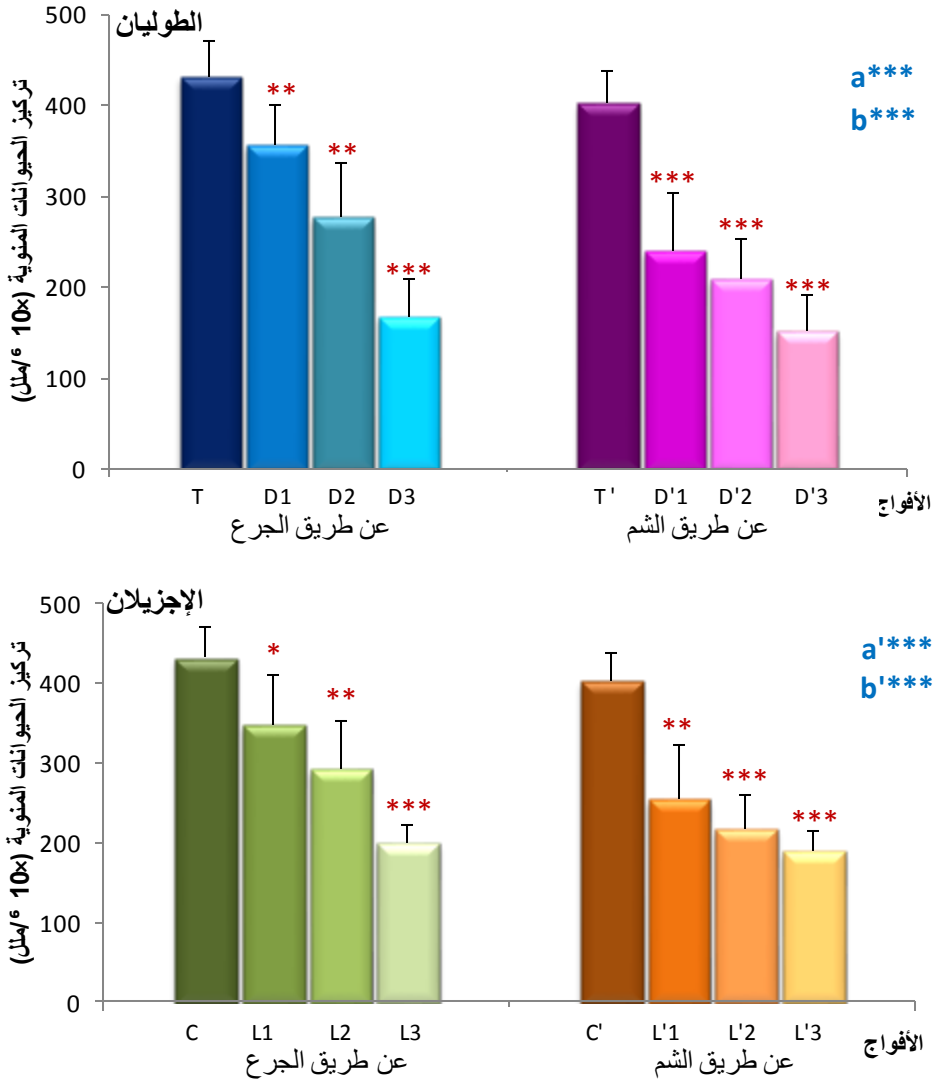
بينت النتائج الموضحة في الشكل(**08**) انخفاض معنوي عالي جدا ($P \leq 0{,}001$) في تركيز الحيوانات المنوية عند الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد .

ولقد كان الانخفاض في تركيز الحيوانات المنوية معنوي وعالي جدا عند الأفواج المعاملة بـ150 ppm (D3)عن طريق الجرع والأفواج المعاملة بـ50، 100 و150 ppm عن طريق الشم، ولقد سجل أقل تركيز عند الفوج المعامل بـ150 ppm (151,100± 15,108) $\times 10^{6}$ /ملل.

II.1 .2. الإجزيلان

من خلال التحاليل الإحصائية لنتائج تأثير الإجزيلان على تركيز الحيوانات المنوية، لوحظ انخفاض معنوي عالي جدا في تركيز الحيوانات المنوية عند جميع الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

وبالنظر إلى النتائج المتحصل عليها من خلال اختبار الطالب (test t de student) فلقد أوضحت النتائج أن الانخفاض في تركيز الحيوانات المنوية للفوج المعامل بـ 50 ppm عن طريق الجرع كان معنوي ($p \leq 0{,}05$)، في حين أن نفس التركيز أدى إلى انخفاض معنوي عالي($p \leq 0{,}01$)عن طريق المعاملة عبر الجهاز التنفسي، ولقد سجلت أقل قيمة لتركيز الحيوانات المنوية عند الفوج المعامل بـppm150 عن طريق الشم ($188{,}606 \pm 24{,}5 \times 10^{6}$/ملل).



الشكل(08) تغير تركيز الحيوانات المنوية ×10 ^{6} /ملل عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد .

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b: المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

II.1. 2. تغير متوسط نسبة حركة الحيوانات المنوية

II.2.1. 1 الطوليان

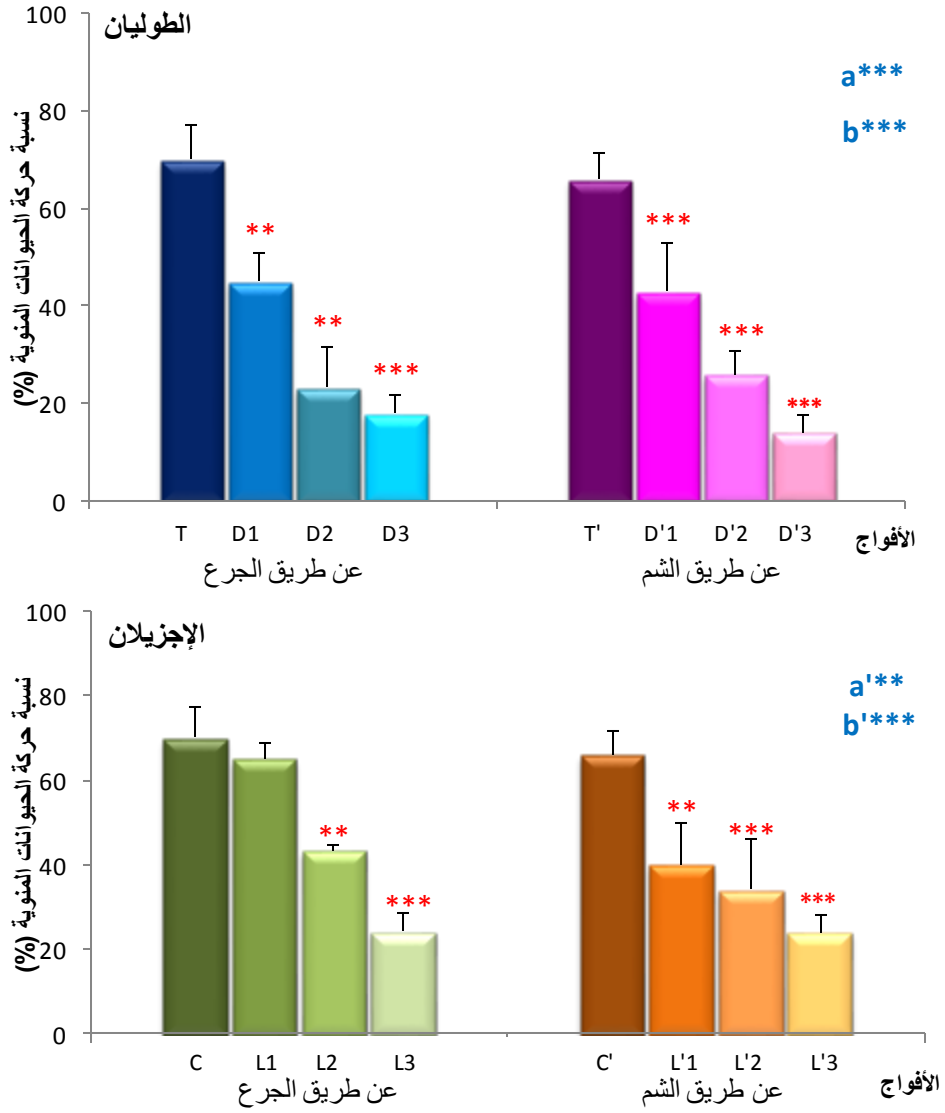
كشفت النتائج المبينة في الشكل (**09**) انخفاض معنوي عالي جدا ($p\leq 0,001$) في نسبة حركة الحيوانات المنوية للأفواج المعاملة (عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

وبالنظر إلى نتائج التحليل الإحصائي المقارن بين فوجين(*t* student) ، فلقد لوحظ أن الانخفاض المعنوي العالي جدا لوحظ في الأفواج المعاملة بـ150 ppm عن طريق الجرع و الأفواج D'3،D'2،D'1 و المعاملة بـ 50، 100، 150 ppm عن طريق الشم، أما الفوجان المعاملان بـ 50 ppm، 100 ppm عن طريق الجرع فلقد سجلنا انخفضا لنسبة سرعة الحيوانات المنوية بصفة معنوية عالية ($p\leq 0,01$) .

II.2.2.2. الإجزيلان

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (**09**) لوحظ انخفاض معنوي عالي جدا في نسبة حركة الحيوانات المنوية لجميع الأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد(b'***)، في حين سجل إنخفاض نسبة حركة الحيوانات المنوية للأفواج المعاملة عن طريق الجرع بصفة معنوية عالية.

و بالنظر إلى مقارنة كل فوج معامل مع الفوج الشاهد، فلقد لوحظ عدم تواجد فرق معنوي لدى الفوج المعامل بـ 50 ppm عن طريق الجرع، في حين أن الفوج L'1 فلقد انخفضت نسبة حركة الحيوانات المنوية لديه بصفة معنوية عالية، ولقد سجلت أقل نسبة لدى الفوج المعامل بـ 150 ppm عن طريق الشم.



الشكل(09) تغير نسبة حركة الحيوانات المنوية(%) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

: P≤0,01 ،* : P ≤0,001

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b':المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

II.3.1. تغير متوسط سرعة الحيوانات المنوية

II.3.1.1. الطوليان

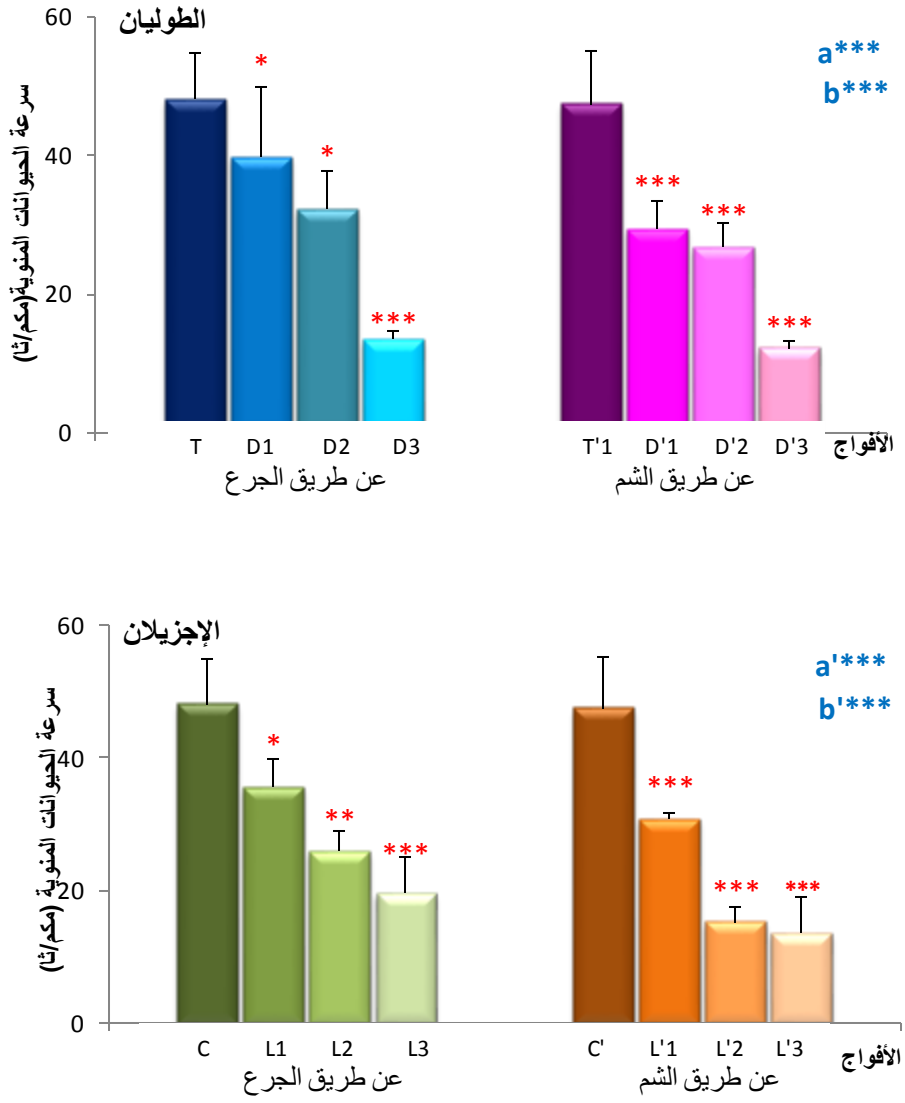
بينت المقارنة الإحصائية بين جميع الأفواج المعاملة، والفوج الشاهد (AV1)، انخفاض معنوي عالي جدا في متوسط سرعة الحيوانات المنوية للأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، وكان هذا الانخفاض متناسب طردا وتركيز المذيب العضوي.

كما انخفضت سرعة الحيوانات المنوية بصفة عالية جدا لدى الفوج المعامل بـ150 ppm من الطوليان عن طريق الجرع ،وكل الأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد ،أما الفوج D1 والفوج D2 والمعاملان بهذا المركب عن طريق الجرع ، فلقد انخفضت السرعة بصفة معنوية ($p\leq0,05$) (الشكل.**10**).

II.3.1.2.الإجزيلان

أوضحت النتائج انخفاض في سرعة الحيوانات المنوية لجميع الأفواج المعاملة عن طريق الجرع و المعاملة عن طريق الشم، وكان هذا الانخفاض بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد وتناسبا طرديا مع تركيز الإجزيلان.

وبالمقارنة بين فوجين(الفوج الشاهد و فوج معامل) لوحظ فرق معنوي عالي جدا بين : L'1،L3 L'2 و L'3 والفوج الشاهد، و بالمقابل فلقد كان الانخفاض معنويا $p\leq0,05$ ومعنوي عالي $p\leq0,01$ عند الفوجين المعاملان بـ50 و 100 ppm من الإجزيلان عن طريق الجرع على التوالي(الشكل. **10**).



الشكل(10) تغير متوسط سرعة الحيوانات المنوية (مكم/ثا) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

II.4.1. تغير نسبة حيوية الحيوانات المنوية

II.1.4.1. عن طريق إستعمال الملون الحيوي

II.1.1.4.1. الطوليان

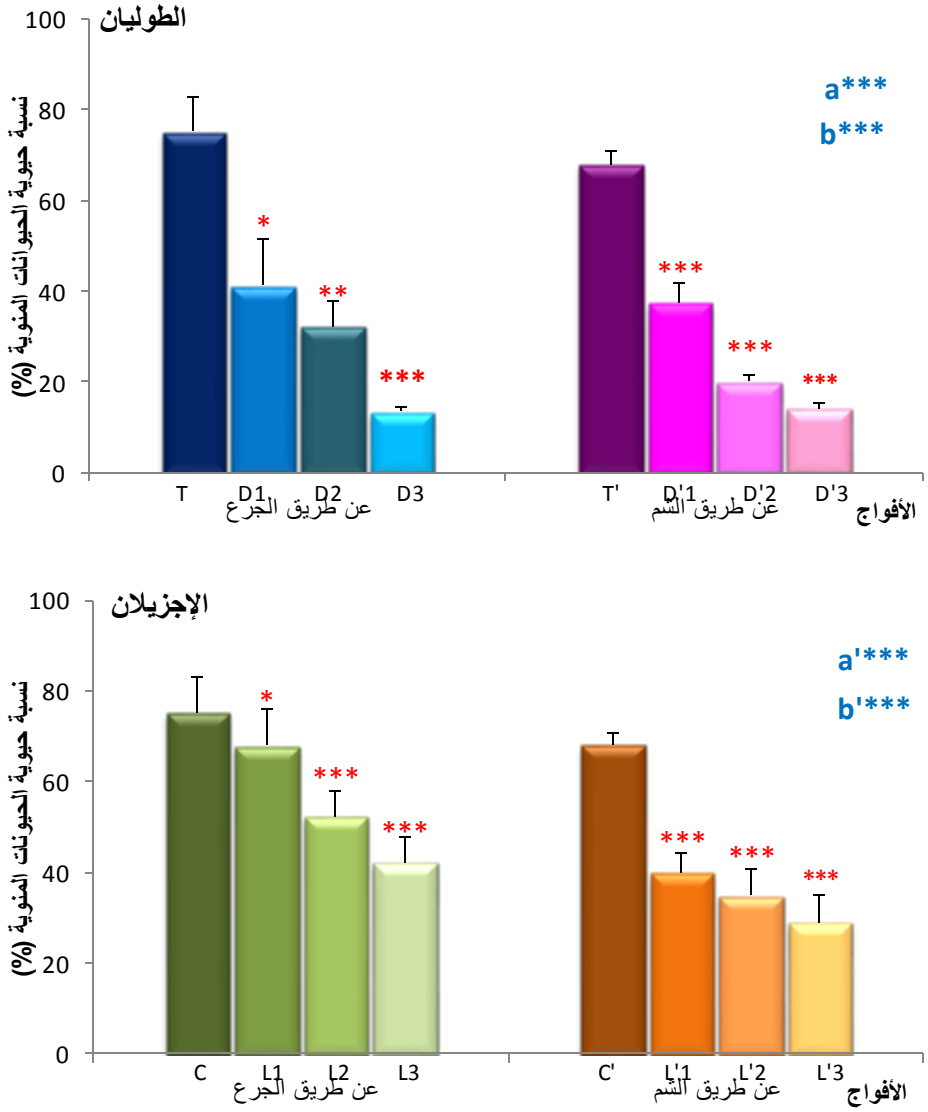
تبين النتائج الموضحة في الشكل (**11**) انخفاض معنوي عالي جدا في نسبة حيوية الحيوانات المنوية للأفواج المعاملة عن طريق الجرع، والأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

حيث انخفضت نسبة الحيوانات المنوية الحية إلى الميتة بصفة معنوية عالية جدا في الأفواج المعاملة بـ50، 100، 150 ppm عن طريق الشم، و الفوج المعامل بـ 150 ppm عن طريق الجرع مقارنة مع الفوج الشاهد، على عكس الفوجين D و الفوج D2 حيث كان الانخفاض معنوي و معنوي عالي على التوالي، ولقد سجلت اقل نسبة عند الفوج المعامل بـ150 ppm عبر الشم (13,4 ±1,2)%.

II.2.1.4.1. الإجزيلان

من خلال الشكل (**11**) لوحظ انخفاض معنوي عالي جدا عند الأفواج المعاملة (عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد وكان الانخفاض متناسبا طرديا مع التركيز أي كلما زاد تركيز الجرعة كانت نسبة الانخفاض أكبر، ولقد لوحظت اقل نسبة عند الفوج المعامل بـ150 ppm عن طريق الشم (29 ±4,18) %.

انخفاض نسبة حيوية الحيوانات المنوية للفوج L1 والمعامل بـ 50 ppm من الإجزيلان عن طريق الجرع، كان بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد، بالمقابل فلقد أظهرت جميع الأفواج الأخرى انخفاضا معنويا عاليا جدا مقارنة بالفوج الشاهد.



الشكل(11) تغير متوسط نسبة حيوية الحيوانات المنوية (%) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد .

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

II.4.1.2 اختبار الضغط الأسموزي المنخفض

II.4.1.2.1. الطوليان

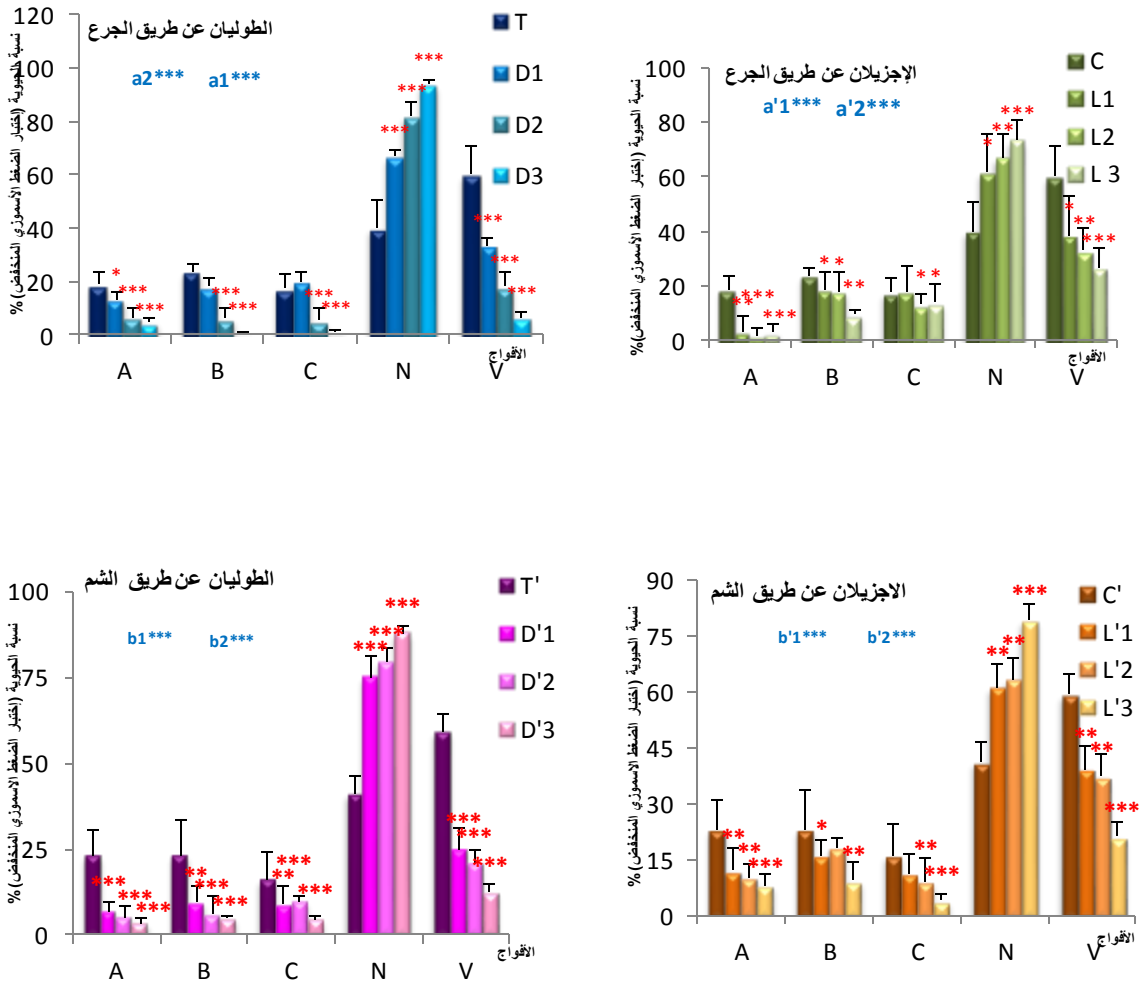
سجلنا من خلال النتائج الموضحة في الشكل (**12**) انخفاض معنوي عالي جدا في نسبة الحيوانات المنوية الحية (مجموع الحيوانات المنوية التي تعرضت للتغيرات المرفولوجية A،B،C) مقارنة بالفوج الشاهد، بالمقابل فلقد ارتفعت نسبة الحيوانات المنوية الميتة (الحيوانات المنوية التي لم تتعرض إلى تغيرات مرفولوجية تحت تأثير الضغط الأسموزي منخفض التركيزN) مقارنة بالفوج الشاهد.

المقارنة بين كل فوج معامل لوحده مع الفوج الشاهد(test –t) بينت انخفاض معنوي عالي جدا لدى كل الأفواج المعاملة سواءا عن طريق الجرع أو عن طريق الشم.

II.4.1.2.2.الإجزيلان

من خلال الشكل (**12**) تبين انخفاض نسبة الحيوانات المنوية الحية إلى الميتة عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، بصفة معنوية عالية جدا $p\leq0,001$.

الانخفاض كان معنوي عند الفوج المعامل بـ 50 ppm عن طريق الجرع، ومعنوي عالي عند الفوج المعامل بـ100 ppm عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، أما الأفواج L3، L'1، L'2، L'3 فلقد انخفضت نسبة الحيوية بصفة معنوية عالية جدا.



الشكل(12) تغير متوسط نسبة حيوية الحيوانات المنوية (%) (اختبار الضغط الأسموزي المنخفض) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين (عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد .

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a_1،a_2:المقارنة بين نسبة الحم الحية و الحم الميتة للأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد على التوالي. b_1،b_2:المقارنة بين نسبة الحم الحية و الحم الميتة للأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد على التوالي. a'_1،.a'_2:المقارنة بين نسبة الحم الحية و الحم الميتة للأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد على التوالي. b'_1،b'_2:المقارنة بين نسبة الحم الحية و الحم الميتة للأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد على التوالي.

II .2. تقدير كمية هرمون التستوستيرون

II .2. 1.الطوليان

من خلال الشكل(**13**)، لوحظ انخفاض معنوي عالي جدا في كمية هرمون التستوستيرون، عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع و المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

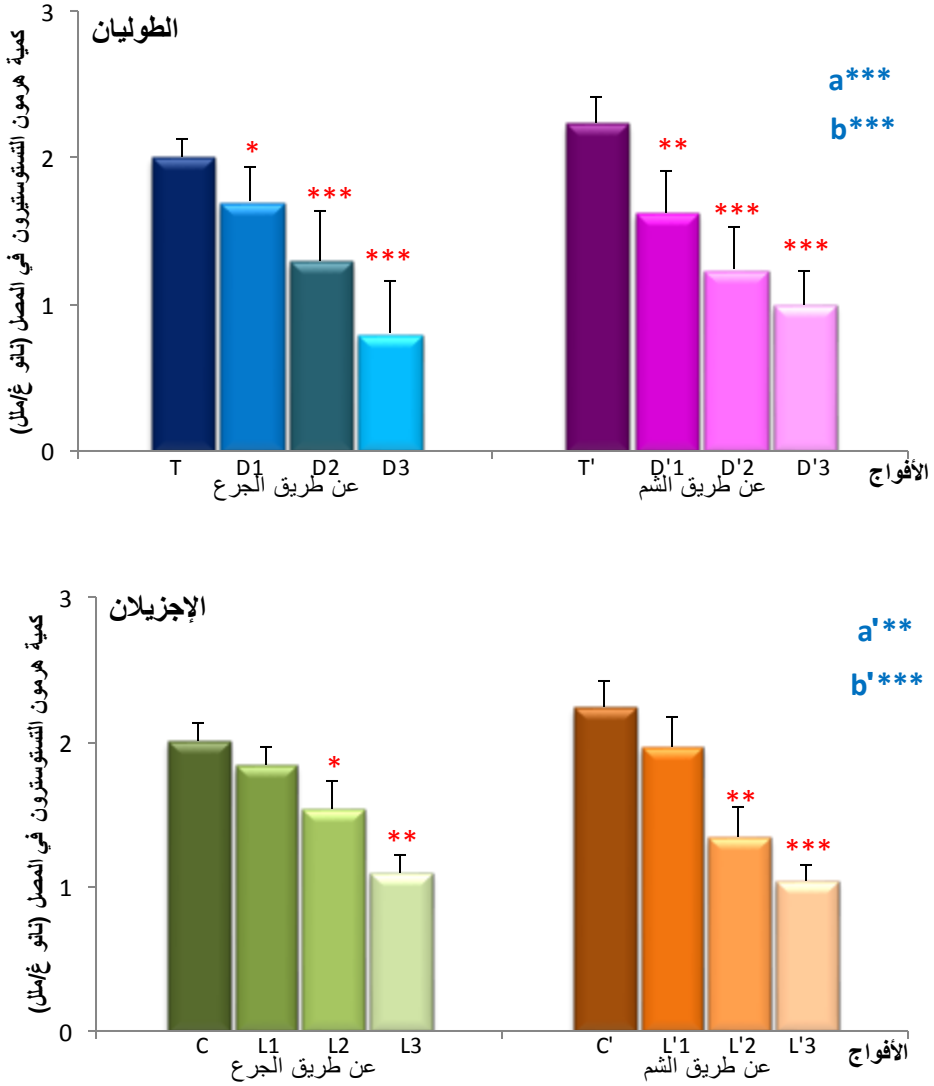
إن المعاملة بالتركيزين 100، 150 ppm عن طريق الجرع و عن طريق الشم، تظهر نفس النتيجة الإحصائية بالمقارنة مع الفوج الشاهد؛ وهي انخفاض كمية هرمون التستوستيرون بصفة معنوية عالية جدا.

في حين أن المعاملة بـ 50ppm من الطوليان عبر الشم، تظهر انخفاض معنوي عالي مقارنة مع الفوج الشاهد، وبالمقابل فإن انخفاض كمية هرمون التستوستيرون للفوج المعامل بهذا التركيز(50 ppm) عن طريق الجرع، يكون معنوي مقارنة بالفوج الشاهد.

II .2. 1.الإجزيلان

إن انخفاض كمية هرمون التستوستيرون عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع كان معنويا عاليا مقارنة بالفوج الشاهد، أما الأفواج المعاملة عن طريق الشم فهي تظهر انخفاض معنوي عالي جدا، مقارنة بالفوج الشاهد.

الفوجان L1، L′1 لم ينخفضا بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد، في حين أن الفوجان L3،L′2 فلقد انخفاضا بصفة معنوية عالية، ولقد ظهر أقل متوسط لتركيز الهرمون عند الفوج المعامل بـ150ppm من الإجزيلان عن طريق الشم.



الشكل(13) كمية هرمون التستوستيرون في المصل (نانوغ/ملل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.المؤشرات البيوكيميائية

III. 1 .الغلوكوز

III. 1. 1.الطوليان

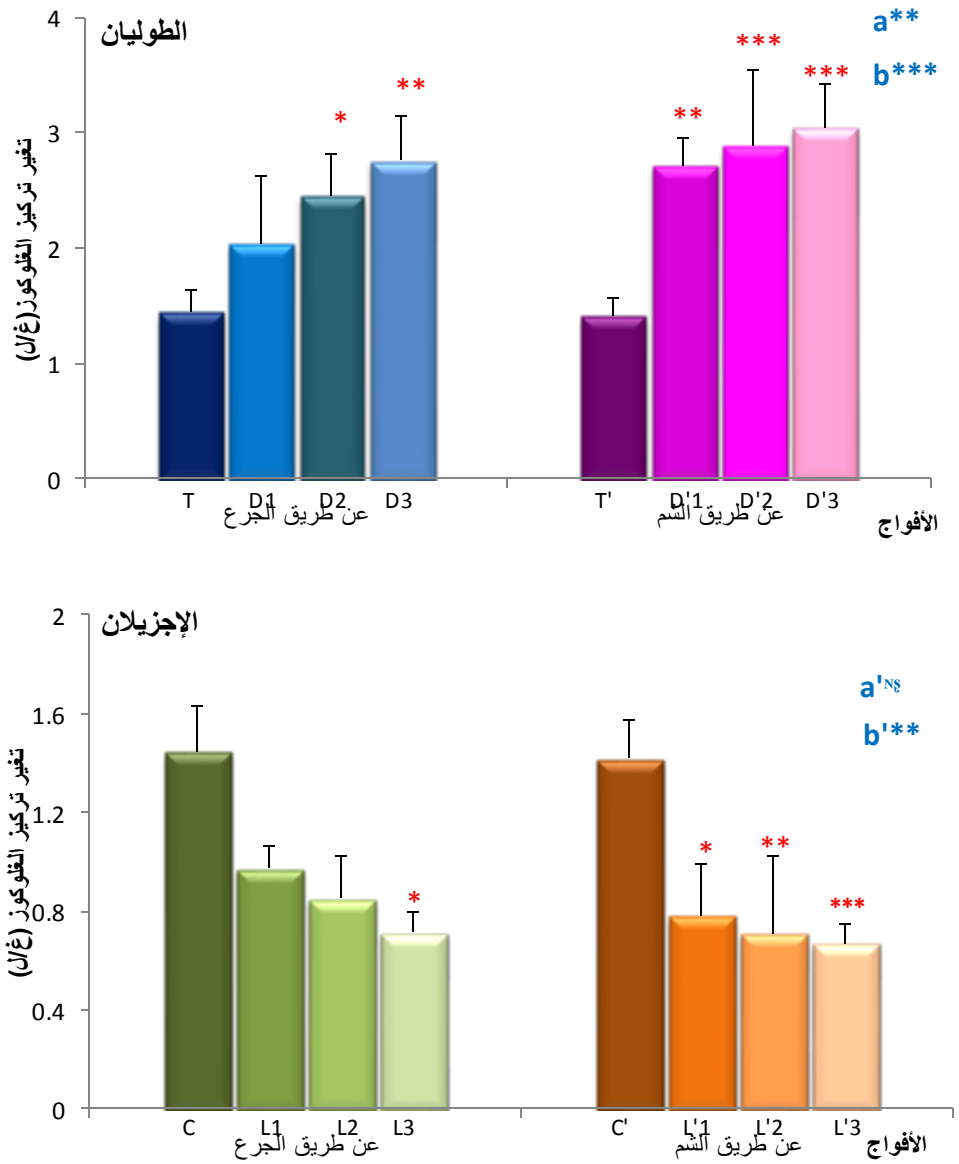
النتائج الموضحة في الشكل(**14**) تبين ارتفاع معنوي عالي في تركيز الغلوكوز للأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، بالمقابل فإن الأفواج المعاملة عن طريق الشم فلقد ارتفع تركيز الغلوكوز بصفة معنوية عالية جدا.

كما لوحظ عدم تغير معنوي في تركيز الفوج D1 والمعامل بـ 50 ppm عن طريق الجرع، أما الفوجين D3 و D'1 فلقد ارتفع تركيز الغلوكوز لديهما بصفة معنوية عالية ،وبالمقابل فلقد ارتفع تركيز الغلوكوز إلى أعلى المستويات عند الفوجين2 D' (2,89± 0,65) غ/ل والفوج D'3 (3,04± 0,7)غ/ل بصفة معنوية عالية جدا.

III. 1. 1.الإجزيلان

إن معاملة الأفواج بالإجزيلان عن طريق الجرع لا تحدث تغيرا معنويا في تركيز الغلوكوز لكل الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، لكن المعاملة عن طريق الشم تؤدي إلى انخفاض معنوي عالي لتركيز الغلوكوز عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

وبالنظر إلى تأثير الإجزيلان على تركيز الغلوكوز لكل فوج على حدى مقارنة بالفوج الشاهد، فلقد انخفض التركيز بصفة معنوية عند الفوج L'1 و الفوج L3، أما الفوجL'3 فلقد بين التحليل الإحصائي انه انخفض بصفة معنوية عالية جدا(الشكل .**14**).



الشكل (14) تغير تركيز الغلوكوز (غ/ل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P\leq0,05$ ، **: $P\leq0,01$ ، ***: $P\leq0,001$ NS $P>0,05$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.2.تغير تركيز الكولسترول

III.2.1. الطوليان

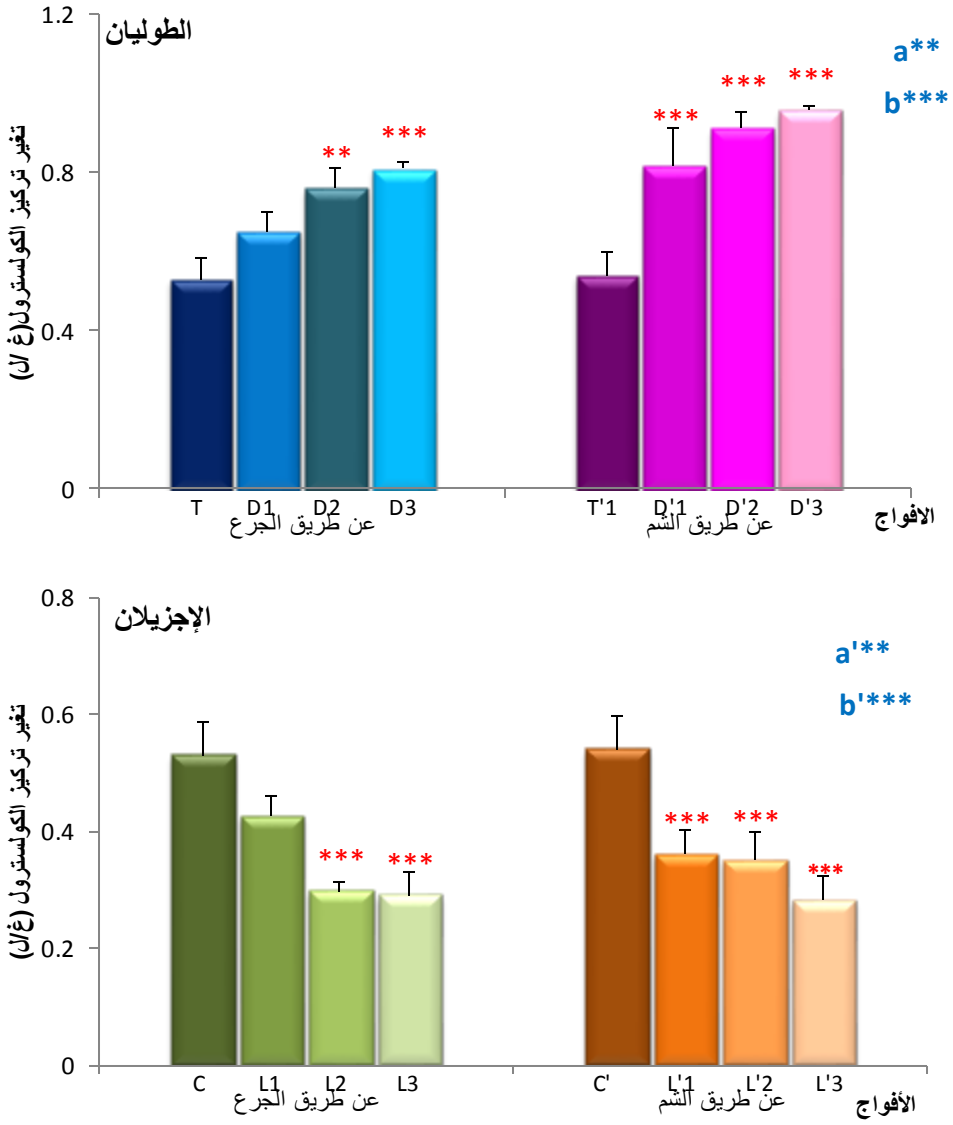
من خلال النتائج الموضحة في الشكل(**15**)، فلقد ارتفع تركيز الكولسترول عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع بصفة معنوية عالية مقارنة بالفوج الشاهد، أما المعاملة عن طريق الشم فلقد أدت إلى ارتفاع تركيز الكولسترول بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد.

ارتفع تركيز كولسترول جميع الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم، بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد بالمقابل فلقد لوحظت نفس النتيجة الإحصائية عند مقارنة الفوج D3 والمعامل بـ 150 ppm عن طريق الجرع بالفوج الشاهد أما الفوج المعامل بـ 50 ppm عن طريق الجرع فلم يظهر أي تغير معنوي.

III.2.2 الإجزيلان

إن المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع، أدت إلى انخفاض معنوي عالي في تركيز كولسترول الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، في حين أن المعاملة عن طريق الشم أدت إلى انخفاض معنوي عالي جدا للأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

النتائج الموضحة في الشكل(**15**) تبين أن كل فوج معامل بالإجزيلان عن طريق الشم والمعامل عن طريق الجرع انخفض بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد، باستثناء الفوج L1 الذي لم يظهر أي فرق معنوي.



الشكل(15) تغير تركيز الكولسترول (غ/ل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

: P≤0,01 ،*: P≤0,001

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a’ : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b’: المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.3. تغير تركيز الغليسيريدات الثلاثية

III.3 .1.الطوليان

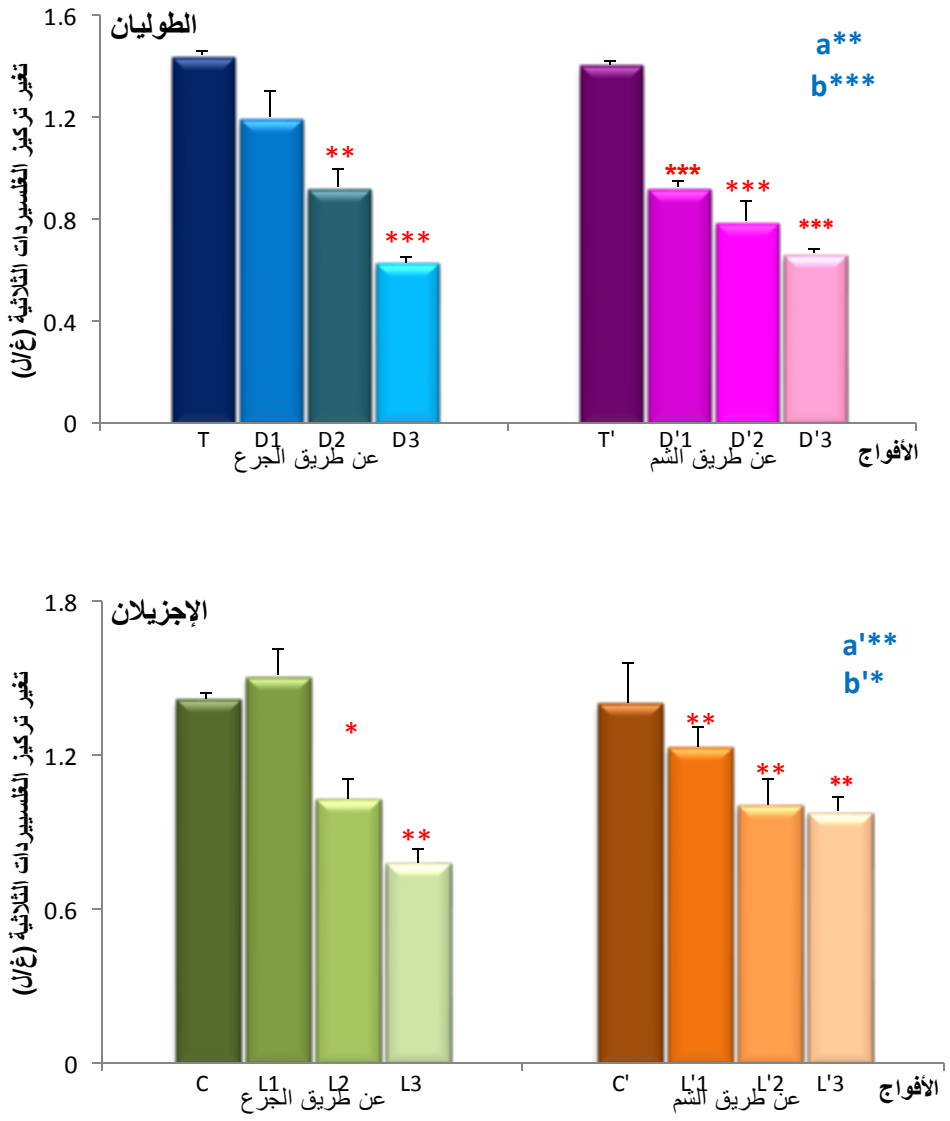
يبين الشكل **(16)** أن متوسط تركيز الغسيريدات الثلاثية قد انخفض عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، حيث كان الانخفاض معنوي عالي في الأفواج المعاملة عن طريق الجرع، أما الأفواج المعاملة عن طريق الشم فلقد انخفض التركيز بصفة معنوية عالية جدا.

وبالنظر إلى نتائج المقارنة بين كل فوجين (فوج معامل و شاهد)، فلقد تبين أن الفوج D1 انخفاض ولكن ليس بصفة معنوية، أما الفوج D2 فلقد انخفض تركيز الغليسيريدات الثلاثية بصفة معنوية عالية مقارنة مع الفوج الشاهد، ولقد سجل أقل تركيز عند الفوج D3 (0,021±0,63).

III.3 .2.الإجزيلان

أوضحت النتائج المبينة في الشكل**(16)** انخفاض تركيز ثلاثي الغلسيريدات عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، الانخفاض كان معنويا و عاليا عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع، أما الأفواج المعاملة عن طريق الشم فلقد أوضحت انخفاض معنوي في التركيز بين الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

سجلنا من خلال مقارنة تركيز الغليسيريدات الثلاثية للفوج L3، L'1، L'2، L3' و الفوج الشاهد، انخفاض معنوي عالي عند كل الأفواج، أما الفوج L2 فلقد انخفض بصفة معنوية $p \leq 0,05$ مقارنة بالفوج الشاهد، أما الفوج L1، فلقد ارتفع لكن لم نسجل أي فرق معنوي بينه وبين الفوج الشاهد.



الشكل(16) تغير تركيز الغليسيريدات الثلاثية (غ/ل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.4. تغير تركيز البروتينات الكلية

III.4.1.الطوليان

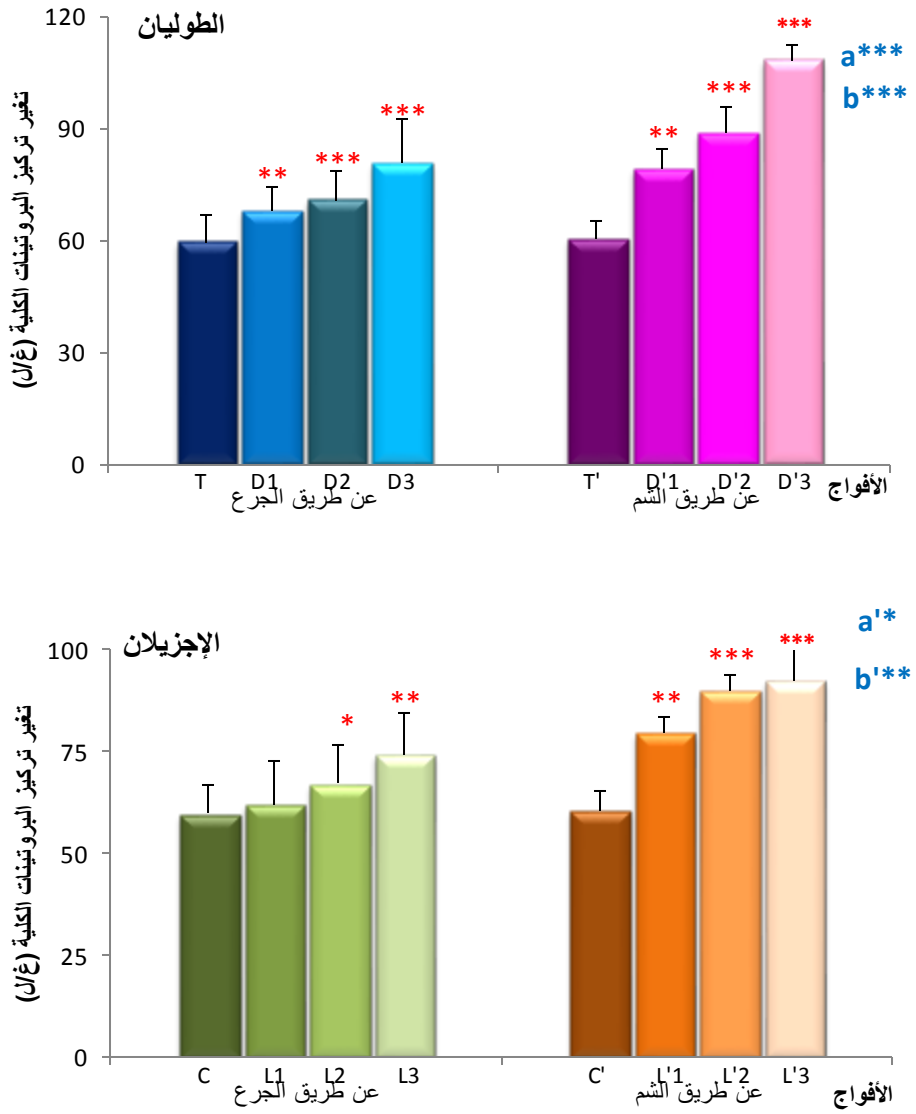
أوضحت النتائج المبينة في الشكل **(17)**، ارتفاع معنوي عالي جدا لتركيز البروتينات الكلية عند الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

حيث ارتفع تركيز البروتينات الكلية بصفة معنوية عالية عند الفوجين1 D و1 'D مقارنة بالفوج الشاهد، أما الأفواج : D2،D'2،D3،D3' فلقد ارتفع تركيز البروتينات الكلية بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد، وبالمقارنة بين أعلى تركيزين مسجلين في تركيز البروتينات للمعاملتين، فلقد لوحظ عند الفوجان المعاملان بأعلى تركيز، إلا أن القيم مختلفة حيث نجد متوسط تركيز البروتينات الكلية للفوج D3(80,79±11,9)، في حين كانت النتيجة في الفوج D'3 تقدر بـ (108,50±4,01) .

III.4.2.الإجزيلان

من خلال نتائج تأثير الإجزيلان على تركيز البروتينات الكلية لاحظنا ارتفاع معنوي عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع، مقارنة بالفوج الشاهد، بالمقابل فلقد كان الإرتفاع معنوي عالي لدى الأفواج المعاملة عن طريق الشم.

ولقد بين تحليل الطالب(test-*t*) اختلاف في النتائج الإحصائية المقارنة بين كل فوجين(فوج معامل و فوج شاهد)؛ حيث سجلنا: ارتفاع معنوي عند الفوج المعامل 100 ppm عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد،ارتفاع معنوي عالي لدى الفوجين3L و الفوج 1'L، ارتفاع معنوي عالي جدا لدى الفوجين 2'L و 3'L.



الشكل(17) تغير تركيز البروتينات الكلية (غ/ل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.5.تغير تركيز اليوريا

III. 5. 1. الطوليان

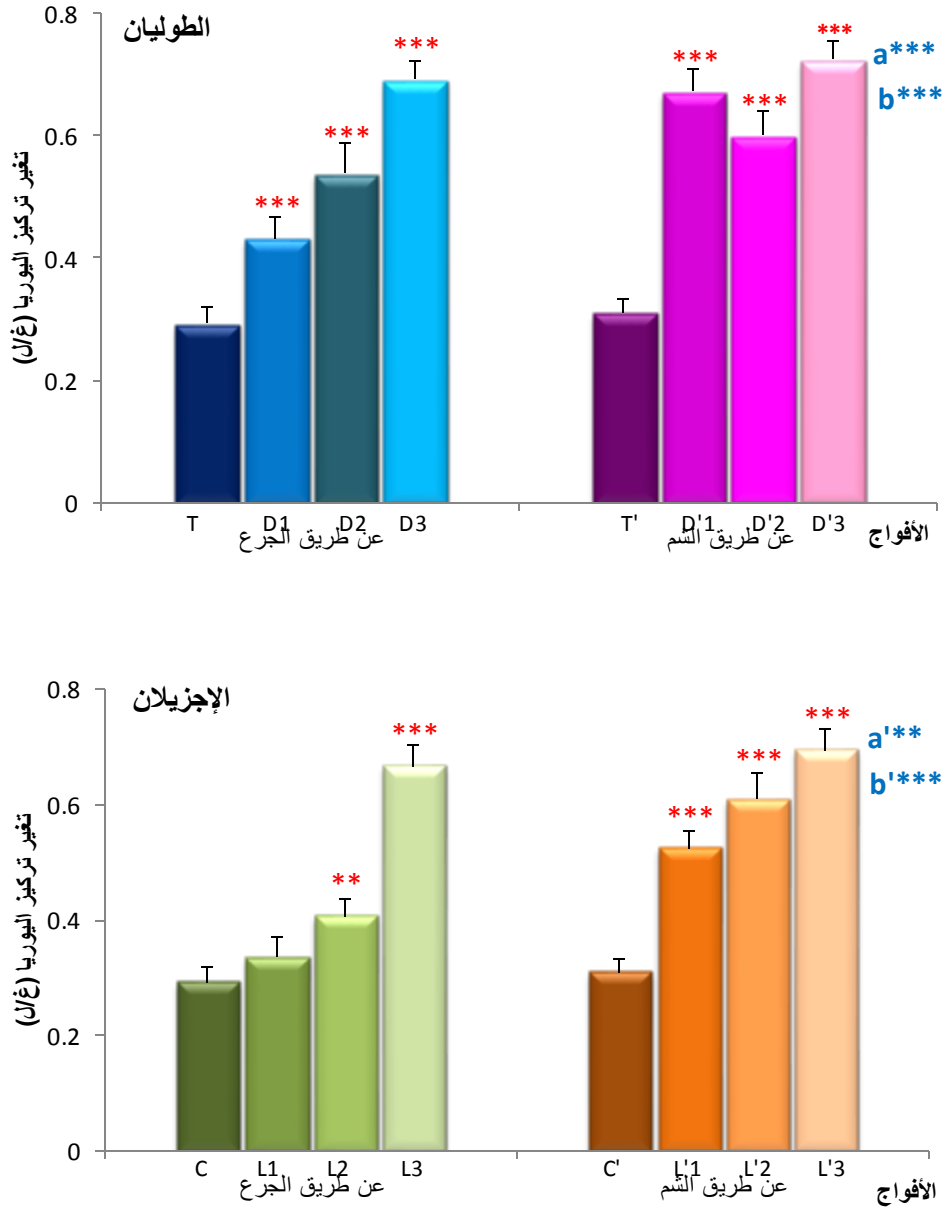
النتائج المتحصل عليها والممثلة في الشكل(**18**) تبين ارتفاع معنوي عالي جدا في تركيز اليوريا بين جميع الأفواج المعاملة (عن طريق الجرع ، وعن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

حيث سجلنا ارتفاع معنوي عالي جدا عند كل فوج معامل مقارنة بالفوج الشاهد (التحليل المقارن بين فوجين(*test-t*) ، ولقد لوحظت أعلى قيمة لتركيز اليوريا عند الفوج D'3 والمعامل بـppm150 من الطوليان عن طريق الشم (0,725±0,02) غ/ل.

III.2.5.الإجزيلان

بينت النتائج؛ ارتفاع معنوي عالي عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، وبالمقابل فإن تركيز اليوريا للأفواج المعاملة عن طريق الشم ارتفع بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد.

المقارنات الإحصائية بين: الفوج L3 المعامل عن طريق الجرع والفوج الشاهد، الأفواج (L3'،L2'،L'1) و المعاملة عن طريق الشم مع الفوج الشاهد بينت ارتفاعا معنويا عالي جدا في تركيز اليوريا في بلازما الدم مقارنة بالفوج الشاهد، ولقد كان أعلى تركيز عند الفوج المعامل بـ150 ppm عن طريق الشم(0,045±0,695)، أما الفوج L2، فلقد ارتفع التركيز بصفة معنوية عالية على عكس الفوج المعامل بـ 50 ppm عن طريق الجرع والذي وبالرغم من الارتفاع الطفيف إلا أنه لم يكن معنوي.



الشكل(18) تغير تركيز اليوريا (غ/ل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين (عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

P≤0,001 :***، P≤0,01 :**

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد.

III.6.تغير تركيز الكرياتينين

III.6.1.الطوليان

يبين الشكل(**19**) ارتفاع معنوي عالي في تركيز الكرياتينين للأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، كما أبدت النتائج نفس الملاحظة الإحصائية من خلال المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد.

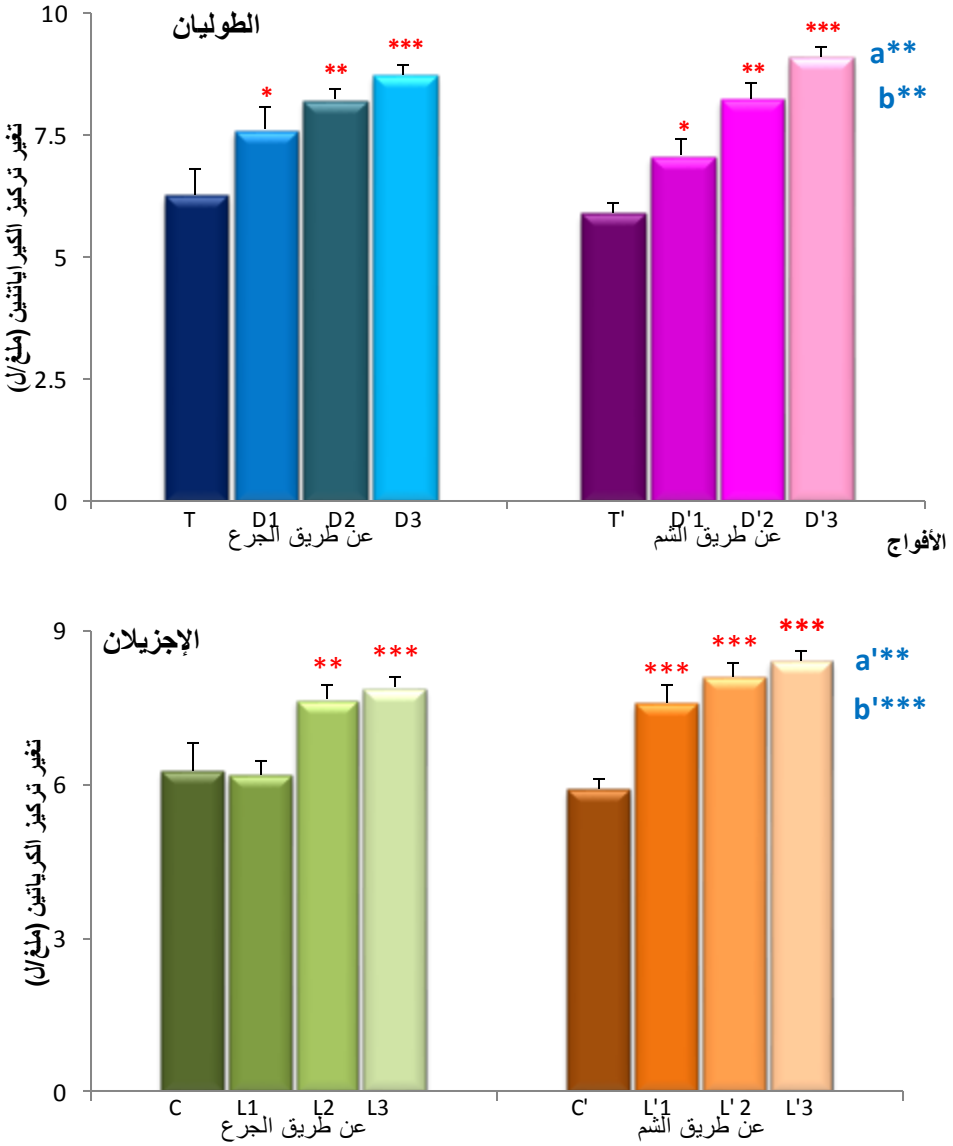
المقارنة بين كل فوج على حدى والفوج الشاهد كانت متماثلة بين طريقتي المعاملة أي أن كل جرعة تركيز أوضحت نفس الملاحظة الإحصائية بمعاملتين.

ولقد كان ارتفاع تركيز الكرياتينين متناسبا طرديا مع تركيز الطوليان.

III.6. .الإجزيلان

بينت النتائج أن المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع، تؤدي إلى ارتفاع معنوي عالي في تركيز الكرياتينين في بلازما دم الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، و بالمقابل فإن نفس تراكيز هذا المركب والمتناولة عن طريق الشم تحدث ارتفاع معنوي عالي جدا في تركيز الكرياتينين مقارنة بالفوج الشاهد.

الارتفاع في تركيز الكرياتينين يتناسب طردا مع تركيز المركب، حيث سجل ارتفاع معنوي عالي جدا عند مقارنة كل فوج من الأفواج المعاملة عن طريق الشم، والفوج المعامل بأكبر تركيز ppm150 عن طريق الجرع مع الفوج الشاهد، أما الفوج المعامل بأقل تركيز عن طريق الجرع لم يسجل أي فرق معنوي $p>0,05$ (الشكل. **19**).



الشكل(19) تغير تركيز الكرياتينين (ملغ/ل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: P≤0,05 ، **: P≤0,01 ، ***: P ≤0,001

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.7.تغير تركيز الألبومين

III.7.1.الطوليان

تبين نتائج تغير تركيز الألبومين عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع ارتفاع معنوي عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، كما سجل ارتفاع لتركيز الألبومين لدى الأفواج المعاملة عن طريق الشم ولكن بصفة معنوية عالية جدا.

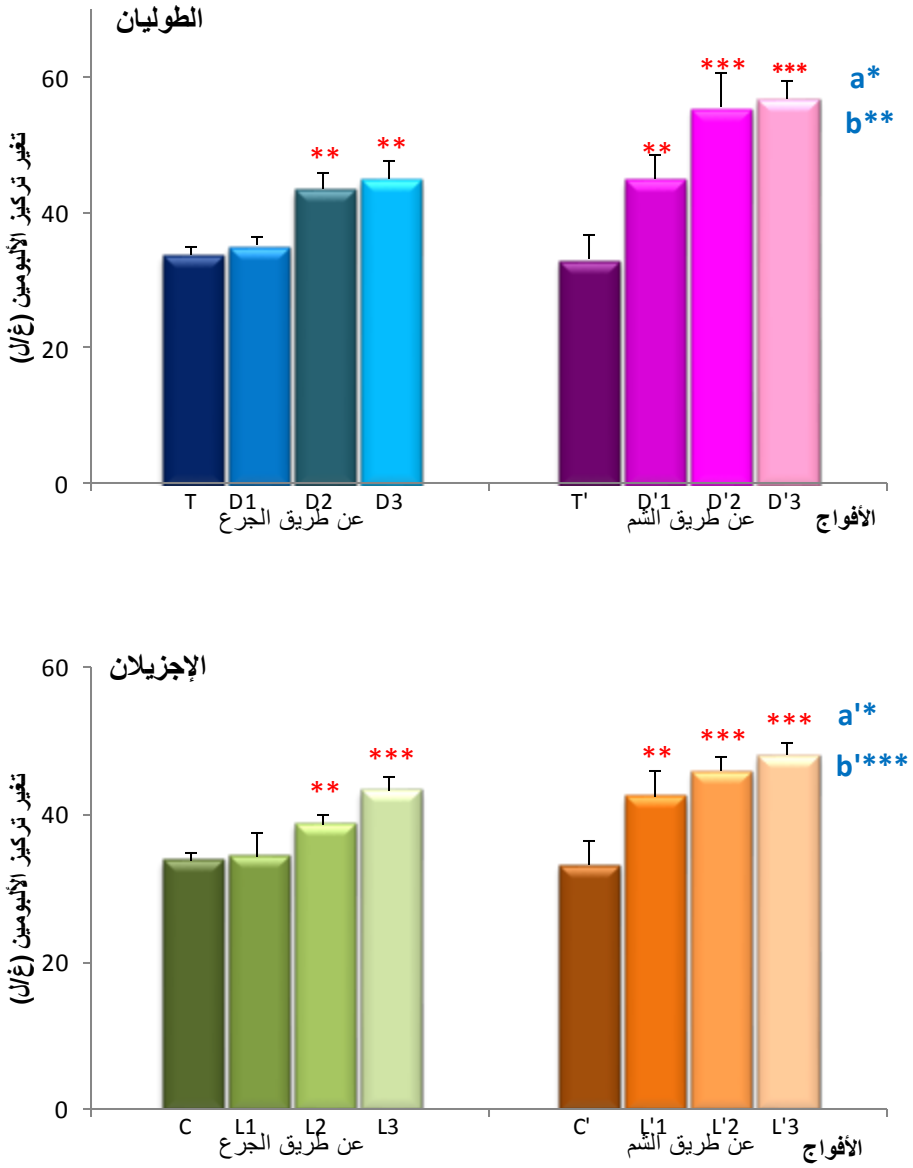
ومن خلال المقارنة بين:

- الفوج D'3 والفوج الشاهد، الفوج D'2 والفوج الشاهد تبين أن انخفاض التركيز كان معنوي عالي جدا $p \leq 0,001$.
- الفوج D2 والفوج الشاهد، الفوج D3 والفوج الشاهد، الفوج D' 1 والفوج الشاهد كان ارتفاع تركيز الألبومين بصفة معنوية عالية(الشكل. **20**).

III.7.2.الإجزيلان

من خلال الدراسة الإحصائية المقارنة بين الأفواج المعاملة والفوج الشاهد، والموضحة في الشكل **(20)** سجلنا ارتفاع معنوي في تركيز الألبومين بين الأفواج المعاملة عن طريق الجرع والفوج الشاهد، ولقد إرتفع التركيز كذلك عند الأفواج المعاملة عن طريق الشم ولكن بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد.

إن تركيز الألبومين للأفواج L3، L'2، L'3 قد ارتفع بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد، أما الفوجين L2 وL'1 فلقد ارتفع تركيزهما بصفة معنوية عالية.



الشكل(20) تغير تركيز الألبومين (غ/ل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: P≤0,05 **: P≤0,01 ،***: P≤0,001

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a’ : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b’: المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.8. تقدير تركيز الغلوتاتيون في الأعضاء

III.8. 1. في الكبد

III.8.1.1. الطوليان

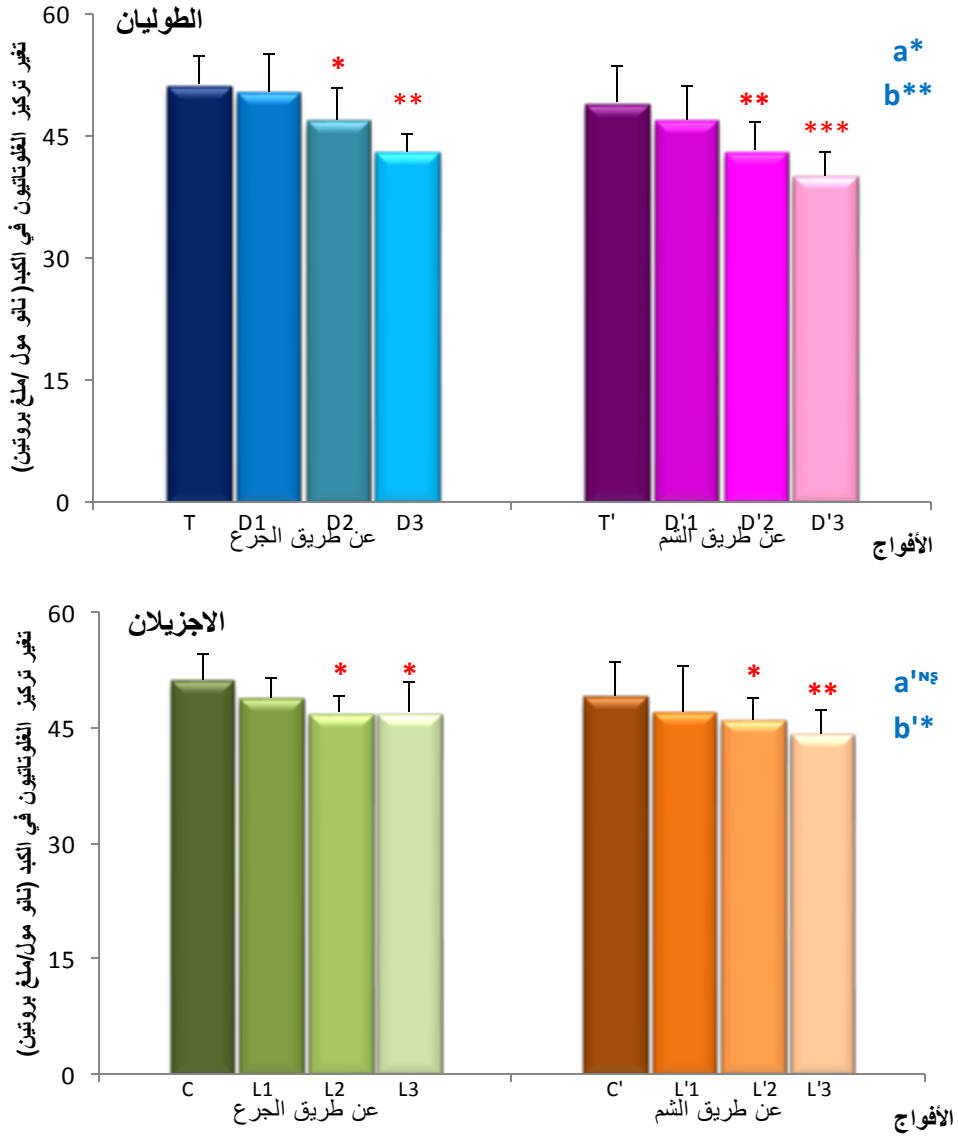
يوضح الشكل **(21)** أن مستوى تركيز الغلوتاتيون في نسيج الكبد قد انخفض بصفة معنوية لدى الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، في حين أن نفس المعاملة عن طريق الشم تؤدي إلى انخفاض معنوي عالي داخل الأفواج المعاملة .

إن الفوجين D1 وD′1 لم ينخفض تركيزهما بصفة معنوية، في حين الأفواج الأخرى أبدت تغيرا إحصائيا خاصة الفوج L’3 والذي انخفض تركيز GSH بصفة معنوية عالية جدا.

III.8.1.2. الإجزيلان

بالرغم من ملاحظة انخفاض تركيز الغلوتاتيون في نسيج كبد الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع؛ إلا أننا لم نسجل أي فرق معنوي بين الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، على عكس الأفواج المعاملة عن طريق الشم حيث سجل إنخفاض معنوي عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

بالاعتماد على نتائج تحليل الطالب، لاحظنا انخفاض معنوي في تركيز الغلوتاتيون الأفواج L2،L3،L'2 مقارنة مع الفوج الشاهد، أما الفوج L'3 فلقد انخفض بصفة معنوية عالية مقارنة مع الفوج الشاهد.



الشكل(21) تغير تركيز الغلوتاتيون في الكبد (نانومول/ملغ بروتين) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

NS: P>0,05 :*:P≤0,05 ،**: P≤0,01 ،***: P≤0,001

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

III.8. 2. تركيز الغلوتاتيون في الخصي

III.8. 1.2. الطوليان

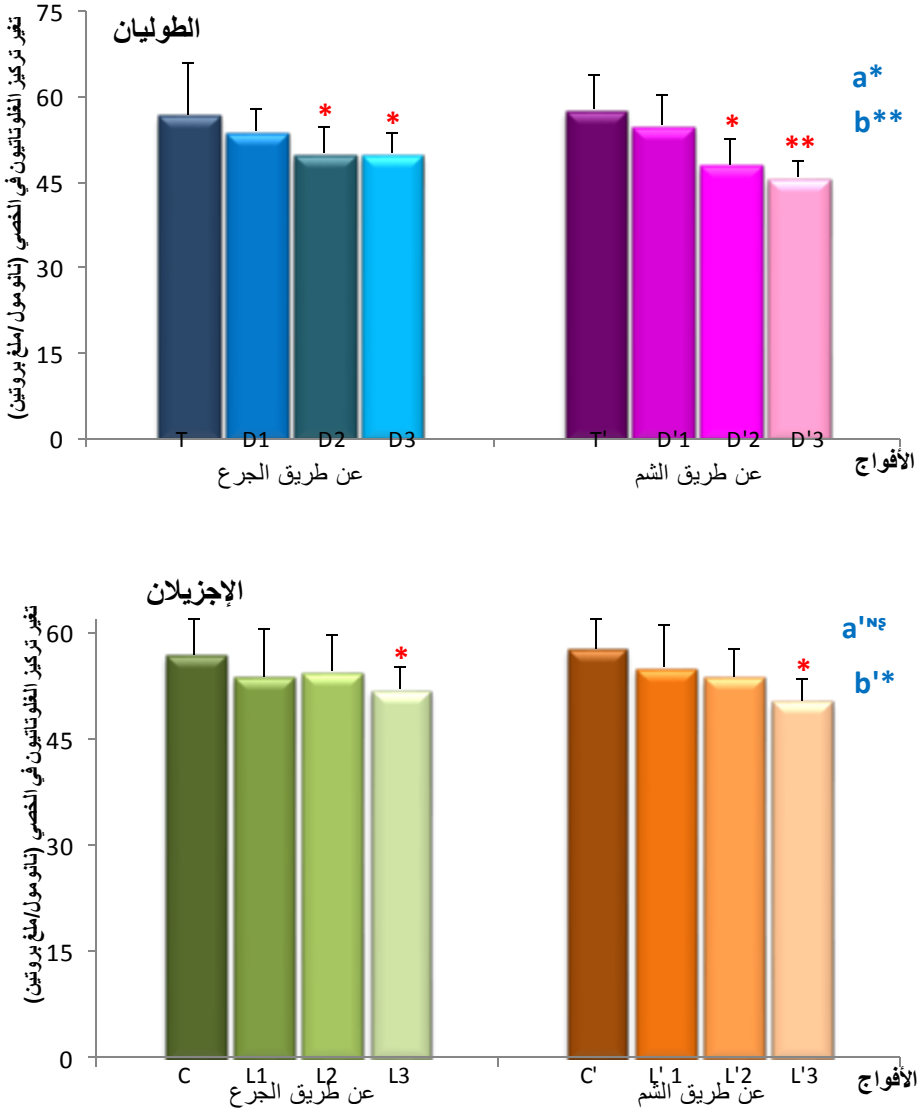
من خلال النتائج المتحصل عليها والمبينة في الشكل **(22)**، استنتجنا أن معاملة الطوليان عن طريق الجرع أي عبر الجهاز الهضمي تتسبب في تخفيض تركيز الغلوتاتيون في نسيج الخصي بصفة معنوية عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد، وبالمقابل فهو يتسبب في خفض تركيز هذا المعامل بصفة معنوية عالية عند الأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

بمقارنة الفوج D'3 والفوج الشاهد لوحظ انخفاض معنوي عالي مقارنة بين الفوجين، أما الأفواج D2، D3، D'2 فلقد انخفض تركيز الغلوتاتيون بصفة معنوية.

III.8. 2.2. الإجزيلان

إن معاملة الأرانب بثلاث تراكيز مختلفة من الإجزيلان عن طريق الجرع لا تؤدي إلى ملاحظة فرق معنوي بين تركيز غلوتاتيون الأفواج المعاملة والفوج الشاهد ، ولكن نفس هذه التراكيز تظهر انخفاض معنوي في تركيز غلوتاتيون نسيج الخصي المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

المقارنة بين كل فوج لوحده والفوج الشاهد تبين أن أغلب الأفواج المعاملة عن طريق الشم وعن طريق الجرع لا تظهر فرقا معنويا في التركيز على الرغم من ملاحظة انخفاض تركيز الغلوتاتيون، ولكن سجل فرق معنوي لكل من الفوج L3 و الفوج L'3 والمعاملين بـ150 ppm من الإجزيلان عن طريق الجرع، عن طريق الشم على التوالي(الشكل. **22**).



الشكل(22) تغير تركيز الغلوتاتيون في خصي (نانومول/ملغ بروتين) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

NS: $P>0,05$، *: $P\leq0,05$، **: $P\leq0,01$، ***: $P\leq0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .المؤشرات الدموية

IV .1. متوسط عدد كريات الدم الحمراء

IV . 1.1 . الطوليان

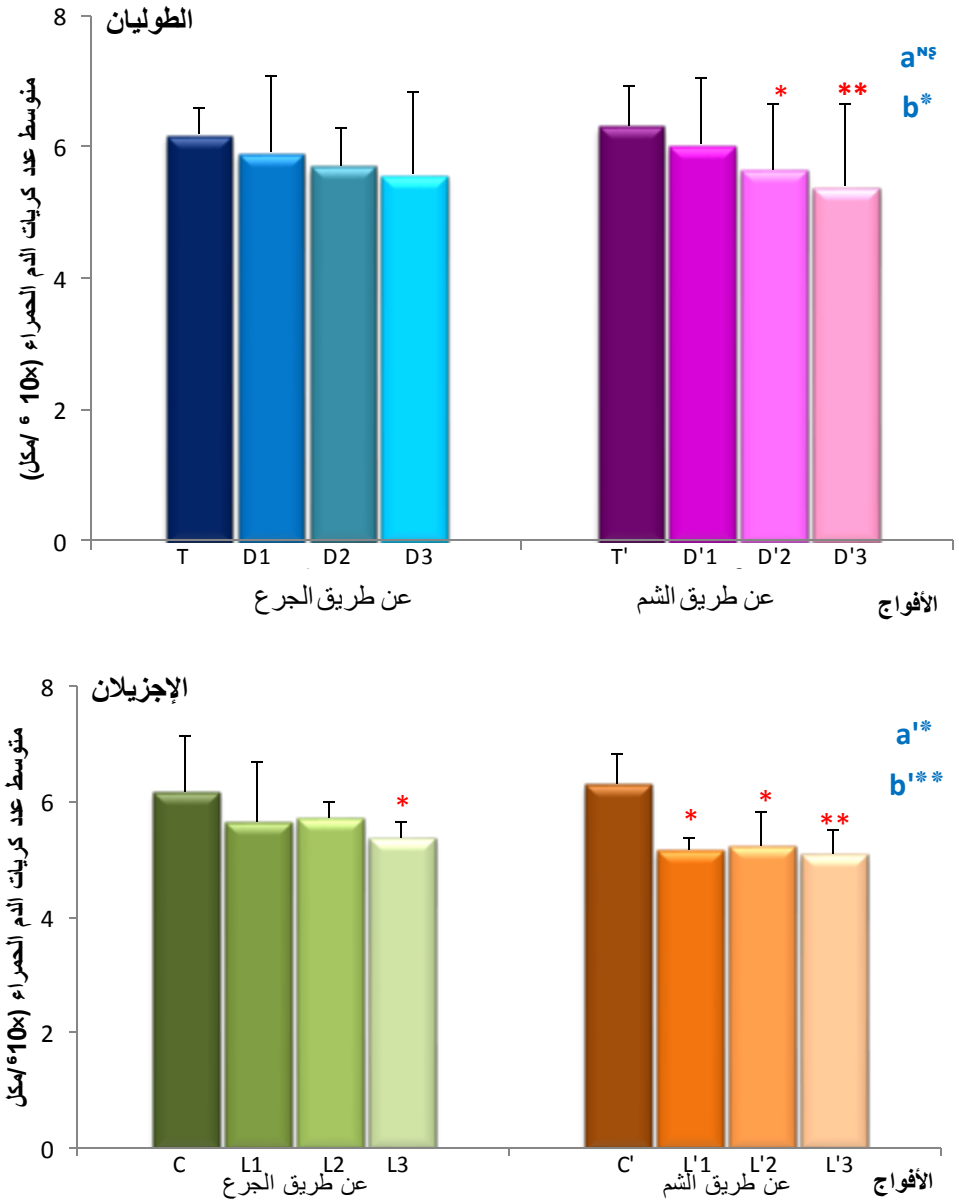
يبين الشكل **(23)** أن متوسط عدد كريات الدم الحمراء قد انخفض، بعد معاملة الأفواج بالطوليان، إلا أن هذا الانخفاض لم يكن معنويا بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، في حين كان الانخفاض معنوي عند الأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

إن مقارنة عدد كريات الدم الحمراء لكل من الفوج D3،D2،D1 والمعاملون بـ50 ppm، 100 ppm، 150 ppm من الطوليان عن طريق الجرع مع الفوج T الشاهد، عن طريق التحليل الإحصائي test-t لم تسجل تغير معنوي، في حين أن الفوج D'2 انخفض عدد كرياته الدموية الحمراء بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد أما الفوج D'3 فلقد كان انخفاض عددها بصفة معنوية عالية مقارنة بالفوج الشاهد.

الإجزيلان

لوحظ انخفاض في عدد كريات الدم الحمراء بصفة معنوية بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد، في حين سجل انخفاض معنوي عالي بين الأفواج المعاملة عن طريق الشم والفوج الشاهد.

بينت النتائج انخفاضا معنويا في عدد كريات الدم الحمراء عند مقارنة : الفوج L3 والفوج الشاهد، الفوج L'1 والفوج الشاهد، الفوج L'2 والفوج الشاهد، في حين لوحظ إنخفاض معنوي عالي في عدد كريات الدم الحمراء للفوج L'3 والمعامل بـ150ppm من الإجزيلان عن طريق الشم (0,43±5,09).



الشكل(23) تغير متوسط عدد كريات الدم الحمراء (10^6/ملل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

NS: P>0,05 :* P≤0,05 ،*** : P≤0,001 .

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .2. تغير متوسط عدد كريات الدم البيضاء

IV .1.2. الطوليان

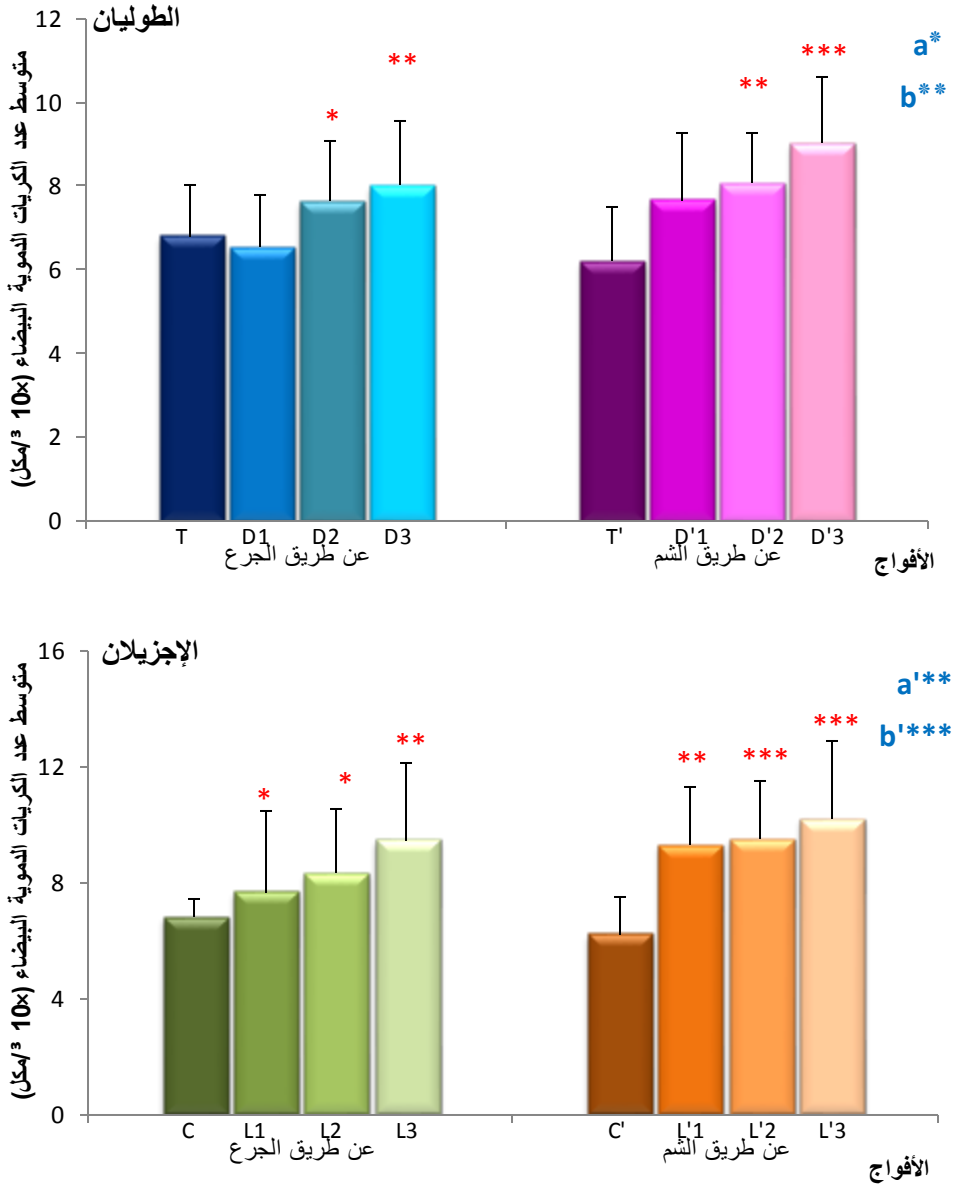
تؤدي المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع إلى ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم البيضاء مقارنة بالفوج الشاهد، أما المعاملة عن طريق الشم فتحدث ارتفاع معنوي عالي لعدد كريات الدم البيضاء بين الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

نلاحظ ارتفاع معنوي عالي في عدد كريات الدم البيضاء للفوجين D3 وD'2 مقارنة بالفوج الشاهد، أما المعاملة بتركيز 50 ppm عن طريق الجرع و عن طريق الشم لا تظهر أي فرق معنوي مقارنة بالفوج الشاهد، في حين أن المعاملة بتركيز 150 عبر الجهاز التنفسي عن طريق الشم تتسبب في ارتفاع عدد كريات الدم البيضاء بصفة معنوية عالية جدا(الشكل .**24**).

IV .2.2. الإجزيلان

يوضح الشكل (**24**) ارتفاع معنوي عالي في عدد كريات الدم البيضاء للأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، كما تبين النتائج ارتفاع عدد الكريات الدموية البيضاء بصفة معنوية عالية جدا عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

بينت النتائج ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم البيضاء عند الفوجين L1، L2 مقارنة بالفوج الشاهد، أما المقارنة بين الفوج L 3، L'1 والفوج الشاهد فلقد أظهرت ارتفاعا معنويا عاليا، أما الفوجان L'2، L' 3 فلقد ارتفع عدد كريات الدم البيضاء بصفة معنوية عالية جدا.



الشكل (24) تغير متوسط عدد كريات الدم البيضاء (10^3/مكل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: P≤0,05 ، **: P≤0,01 ، ***: P ≤0,001

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .3. تغير تركيز الهيموغلوبين

IV .1.3. الطوليان

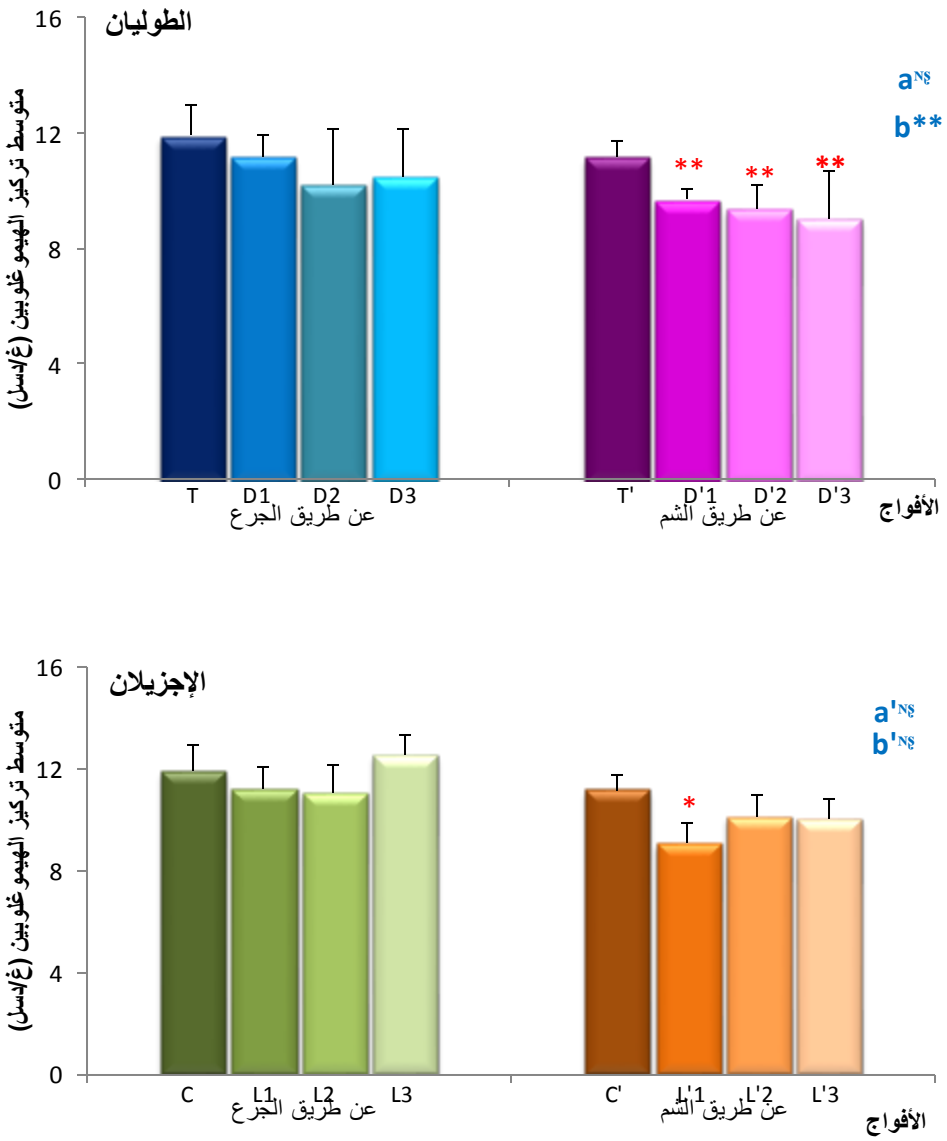
النتائج الموضحة في الشكل (25) تبين أن المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع، لا تحدث فرقا معنويا بين الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد ،وبالمقابل فإن المعاملة عن طريق الشم تتسبب في انخفاض معنوي عالي في تركيز الهيموغلوبين عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

لم نسجل أي فرق معنوي بين كل فوج معامل عن طريق الجرع و الفوج الشاهد، في حين أن المعاملة عبر الجهاز التنفسي أبدت نفس الملاحظة الإحصائية لكل فوج معامل مقارنة بالفوج الشاهد، وهي الانخفاض المعنوي العالي لتركيز الهيموغلوبين.

IV .2.3.الإجزيلان

من خلال النتائج تبين عدم ملاحظة أي تغيير معنوي في تركيز هيموغلوبين جميع الأفواج المعاملة(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

من خلال مقارنة كل فوج معامل مع فوج شاهد، تبين عدم وجود أي فرق معنوي بين كل فوجين بإستثناء الفوج المعامل بـ50 ppm من الإجزيلان عن طريق الشم.



الشكل(25) تغير متوسط تركيز الهيموغلوبين (غ/سل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

$P \le 0{,}01$:**، $P \le 0{,}05$:* $P > 0{,}05$:NS

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .4. تغير نسبة الهيماتوكريت

IV .1.4.الطوليان

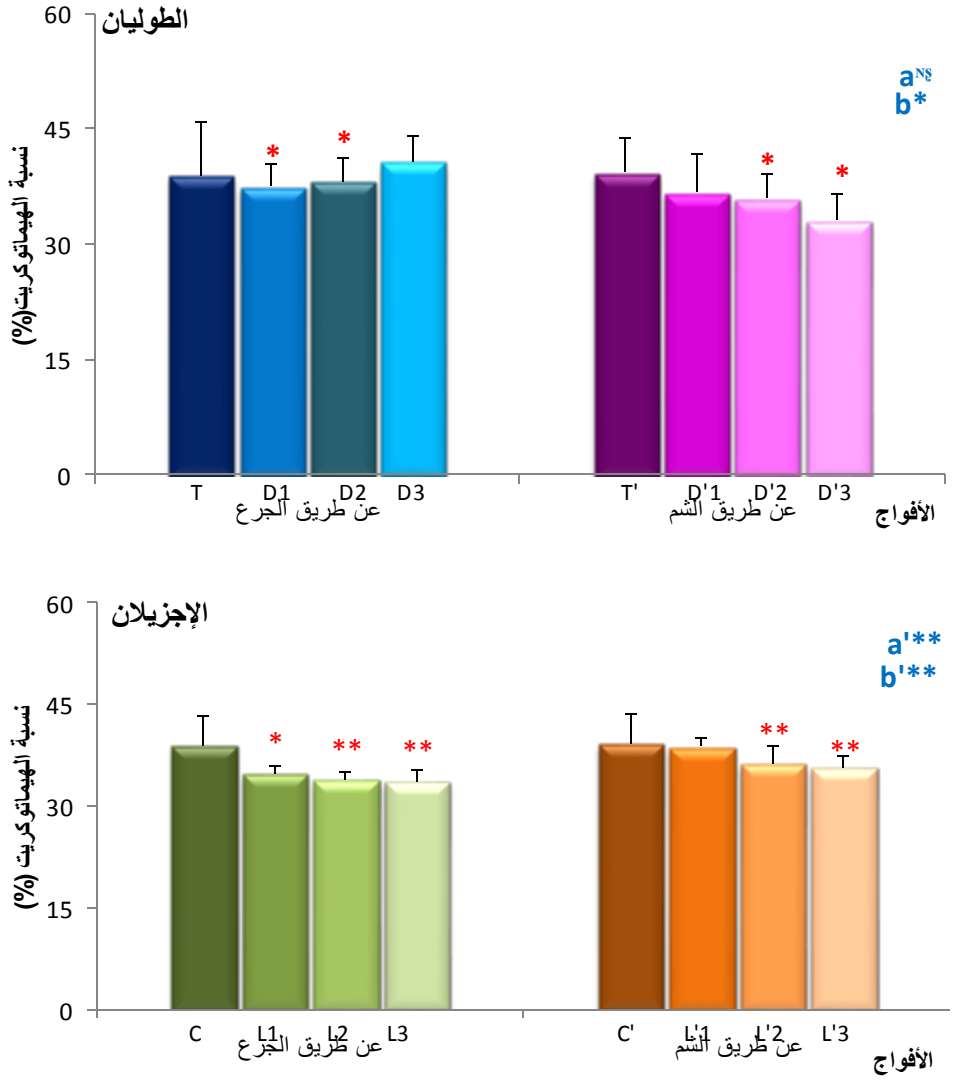
من خلال الشكل(**26**) تبين عدم وجود فرق معنوي بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد، أما الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم فلقد أظهرت انخفاض معنوي لنسبة الهيماتوكريت عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

إن نسبة الهيماتوكريت للأفواج D'1،D2،D1 لم تتغير بصفة معنوية مقارنة بين كل فوج على حدى والفوج الشاهد ، في حين لوحظ انخفاض معنوي عند الأفواجD'3،D'2،D3 مقارنة بالفوج الشاهد.

IV .2.4.الإجزيلان

بينت النتائج انخفاض معنوي عالي في نسبة هيماتوكريت الأفواج المعاملة :عن طريق الجرع و عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

المقارنة بين الفوج L2 والفوج الشاهد، L3 و الفوج الشاهد، الفوج L'2 و الفوج الشاهد ،الفوجL'3 و الفوج الشاهد تبين انخفاض معنوي عالي، أما الفوجL 1 والمعامل بـ 50 ppm من الإجزيلان عن طريق الجرع فلقد انخفض بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد.



الشكل(26) تغير نسبة الهيماتوكريت (%) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

NS: $P>0,05$ ، *: $P\leq0,05$ ، ***: $P\leq0,001$

a: المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .5.تغير متوسط عدد الصفائح الدموية

IV .1.5.الطوليان

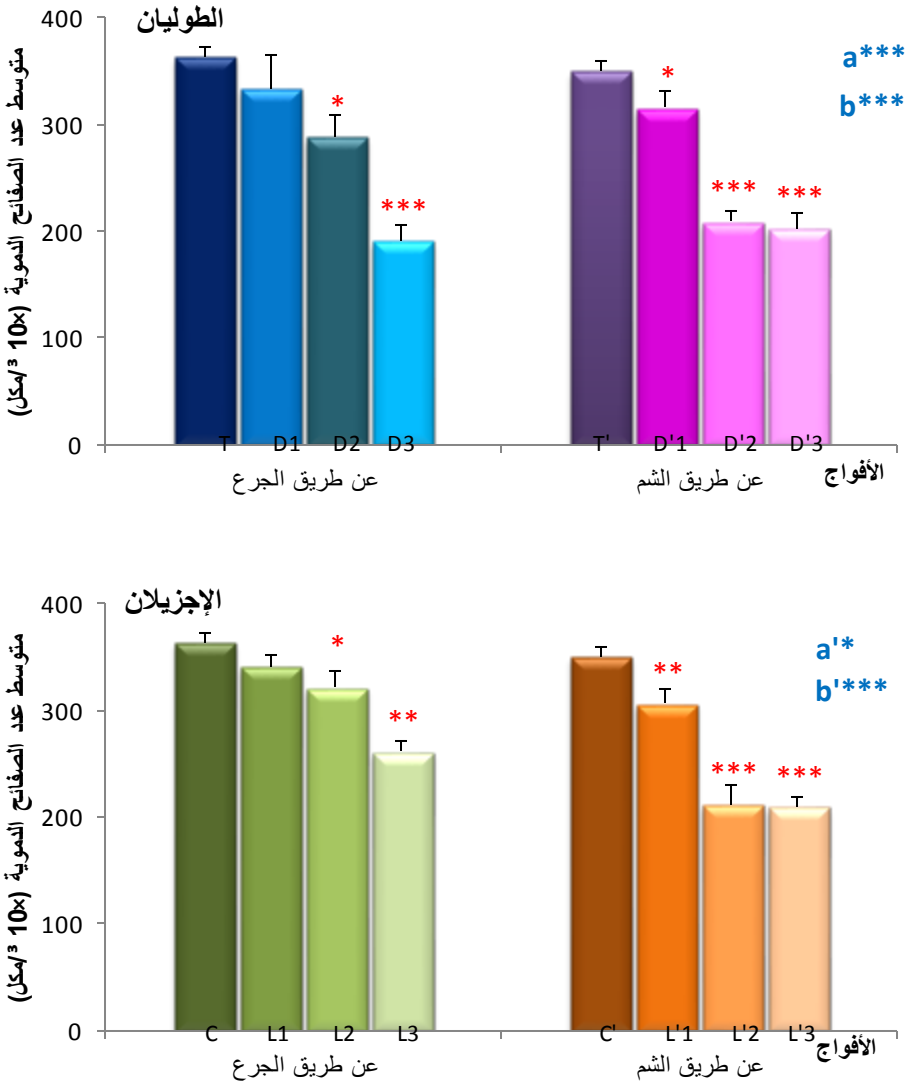
سجلنا انخفاض معنوي عالي جدا في عدد الصفائح الدموية للأفواج المعاملة عن طريق الجرع و الأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

انخفض عدد الصفائح الدموية للفوج D2 والفوج D'1 بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد، كما إنخفض عددها عند الأفواج D3،D'2،D'3 بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد، في حين أن الفوج المعامل بـ50 ppm من الطوليان عن طريق الجرع لم يتعرض لأي تغيير معنوي(الشكل 27).

IV .2.5.الإجزيلان

تظهر المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع انخفاض معنوي في عدد الصفائح الدموية مقارنة بالفوج الشاهد، أما المعاملة عن طريق الشم فهي تتسبب في انخفاض معنوي عالي جدا بين الأفواج المعاملة والفوج الشاهد.

إن المقارنة بين كل من الفوج L'2 وL'3 مع الفوج الشاهد تظهر انخفاضا معنويا عاليا جدا، في حين أن عدد الصفائح الدموية قد انخفضت عند الفوج L'1 وL3 الفوج بصفة معنوية عالية مقارنة بالفوج الشاهد.



الشكل(27) تغير متوسط عدد الصفائح الدموية (10^3/مكل) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .6. تغير نسبة الخلايا اللمفاوية

IV .1.6. الطوليان

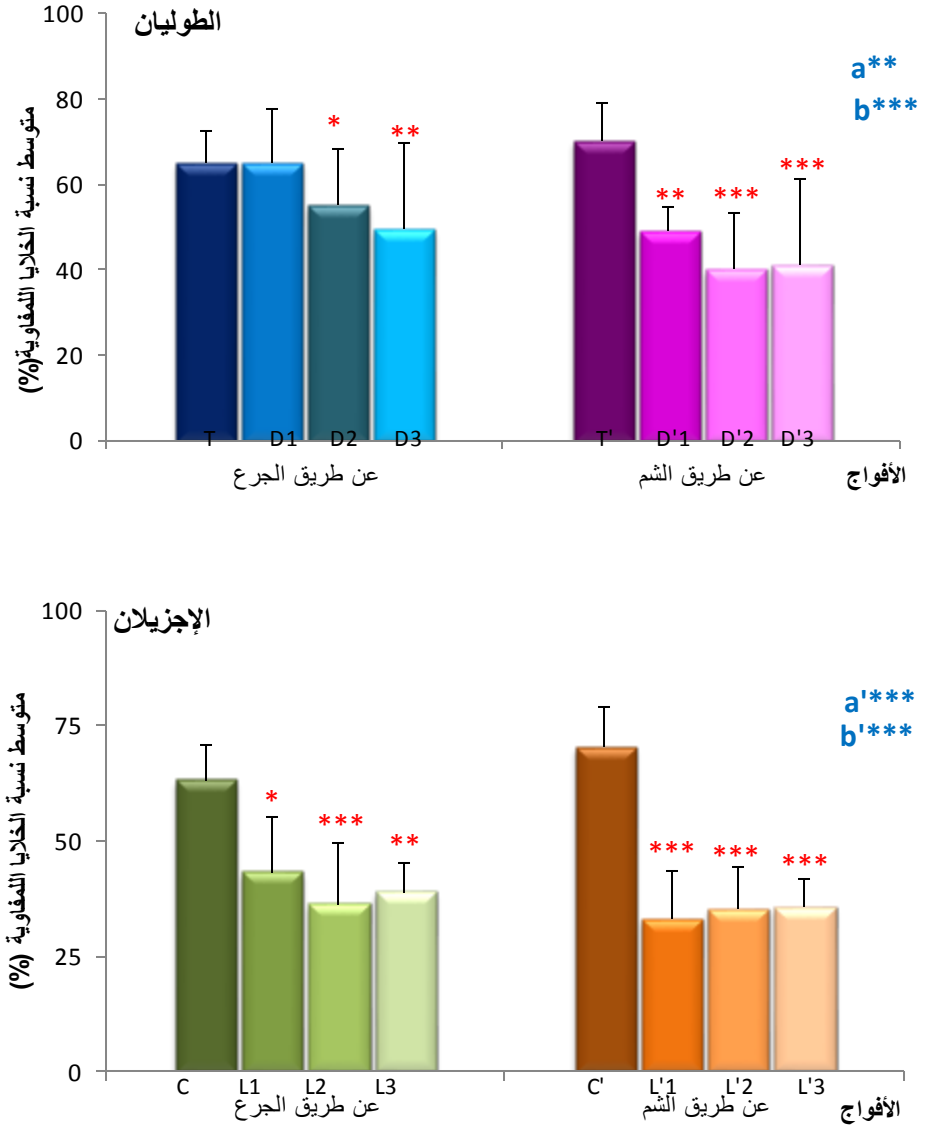
يبين الشكل(**28**) انخفاض نسبة الخلايا اللمفاوية عند الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع و عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد، ولقد كان الانخفاض معنوي عالي عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع ، و معنوي عالي جدا عند الأفواج المعاملة عن طريق الشم.

انخفضت نسبة الخلايا اللمفاوية بصفة معنوية عالية جدا عند الفوجين'D2 و'D3 مقارنة بالفوج الشاهد، في حين كان الانخفاض معنوي عالي عند الفوجين D3، 'D1 مقارنة بالفوج الشاهد.

IV .2.6.الإجزيلان

يوضح الشكل (**28**) انخفاض معنوي عالي جدا في عدد الخلايا اللمفاوية عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

وبالمقارنة بين كل فوج معامل و الفوج الشاهد لوحظ، انخفاضا معنويا عاليا جدا في نسبة الخلايا اللمفاوية لكل الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد، ولقد سجلت نفس الملاحظة الإحصائية عند الفوج L2، أما الفوج L1 فلقد انخفضت نسبة الخلايا اللمفاوية بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد.



الشكل(28) تغير متوسط نسبة الخلايا اللمفاوية(%) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .7.تغير متوسط نسبة الخلايا وحيدة النواة

IV .1.7.الطوليان

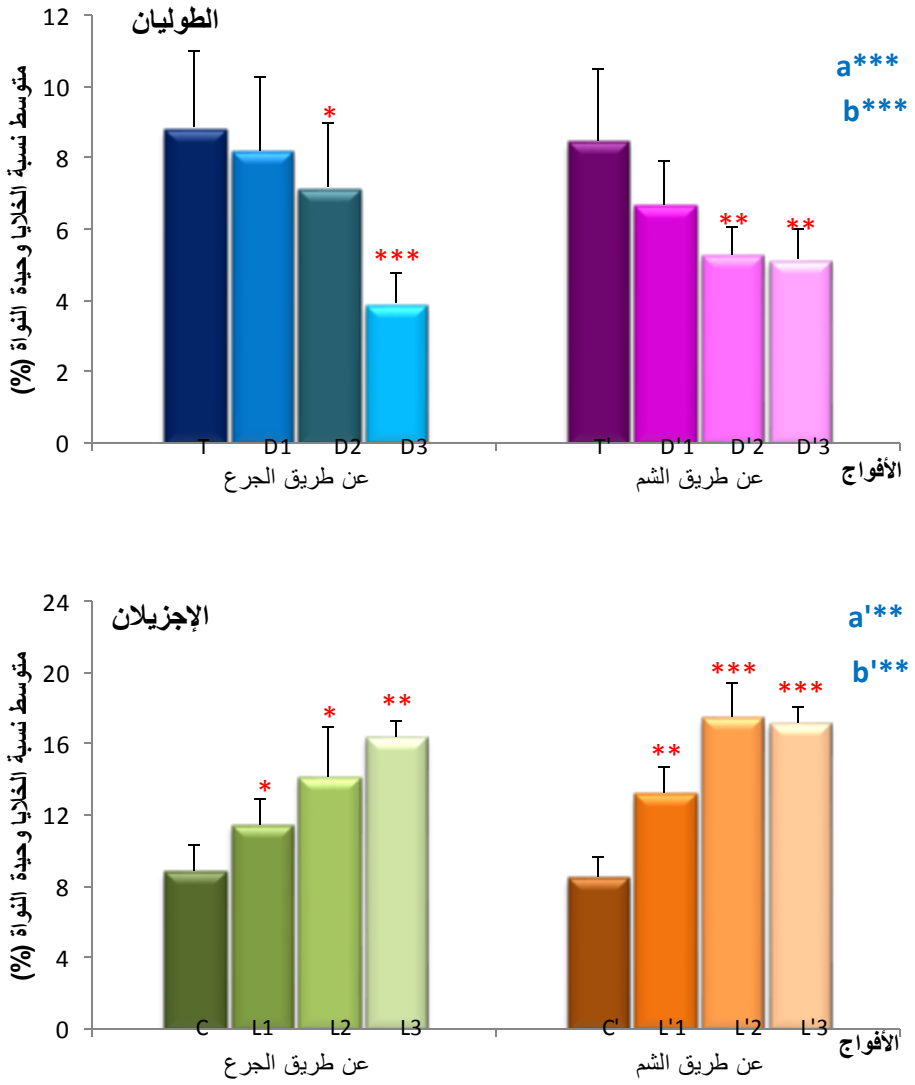
يوضح الشكل (**29**) انخفاض معنوي عالي جدا في نسبة الخلايا وحيدة النواة عند الأفواج المعاملة (عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

الفوج D3 و المعامل بـ150 من الطوليان عن طريق الجرع، تعرض لإنخفاض كبير في نسبة الخلايا وحيدة النواة، ولقد كان هذا الانخفاض معنوي عالي جدا مقارنة بالفوج الشاهد، أما الفوجين D'2 وD'3 فلقد انخفاضا بصفة معنوية عالية مقارنة بالفوج الشاهد، على خلاف الفوجين D1 وD'1 اللذان لم يظهرا أي تغيير معنوي.

IV .2.7. الإجزيلان

بينت النتائج المتحصل عليها ارتفاع معنوي عالي في نسبة الخلايا وحيدة النواة عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع و المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

ولقد سجل أعلى ارتفاع عند الفوج المعامل بـ 150 عبر الجهاز التنفسي(17,2± 2)، والذي أظهر ارتفاع معنوي عالي جدا مقارنة بالفوج الشاهد، أما الفوج L1 فلقد اظهر ارتفاعا في نسبة الخلايا وحيدة النواة بنسبة قليلة لكن بصفة معنوية مقارنة بالفوج الشاهد.



الشكل(29) تغير نسبة الخلايا وحيدة النواة (%) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

IV .8.متوسط نسبة الخلايا المحببة

IV .1.8.الطوليان

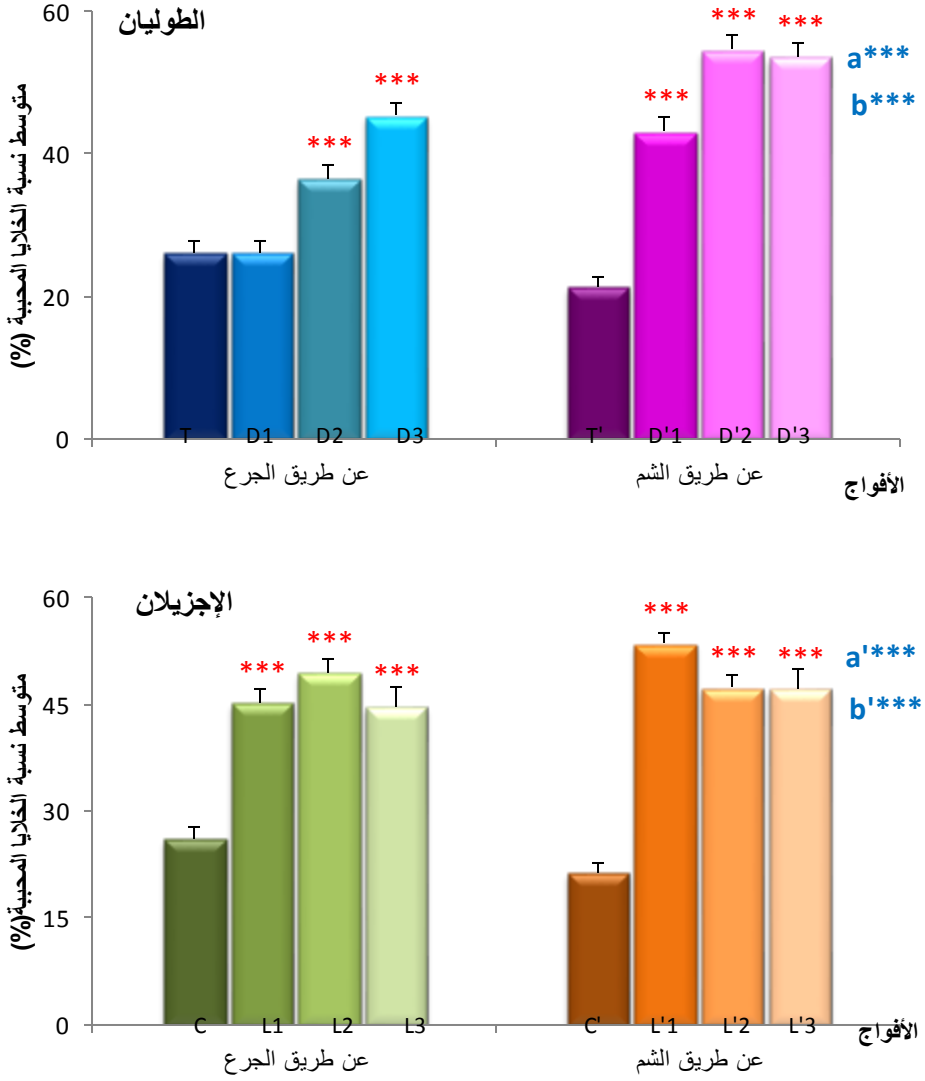
أوضح الشكل(**30**) ارتفاع معنوي عالي جدا في نسبة الخلايا المحببة عند جميع الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد.

المقارنة بين كل فوج معامل بالطوليان عن طريق الشم مع الفوج الشاهد تبين أن كل التراكيز المستعملة تحدث فرقا معنويا عاليا جدا بين الفوج المعامل والفوج الشاهد، ونفس النتيجة تحصلنا عليها من خلال دراسة مدى تأثير الطوليان على نسبة الخلايا المحببة عند الفوجين2 D،D3، في حين أن الفوج D1 لم يظهر أي فرق معنوي.

IV .2.8. الإجزيلان

من خلال ملاحظة الشكل (**30**) لاحظنا ارتفاع معنوي عالي جدا في نسبة الخلايا المحببة بين الأفواج المعاملة (عن طريق الجرع ، عن طريق الشم) والفوج الشاهد.

المقارنة باستعمال تحليل الطالب تبين أن كل فوج معامل يظهر ارتفاع معنوي عالي جدا مقارنة بالفوج الشاهد.



الشكل(30) تغير متوسط نسبة الخلايا المحببة (%) عند الأفواج المعاملة بالطوليان والأفواج المعاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

*: $P \leq 0,05$ ، **: $P \leq 0,01$ ، ***: $P \leq 0,001$

a:المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالطوليان عن طريق الشم والفوج الشاهد

a' : المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع والفوج الشاهد

b': المقارنة بين الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الشم والفوج الشاهد

V.الدراسة النسيجية

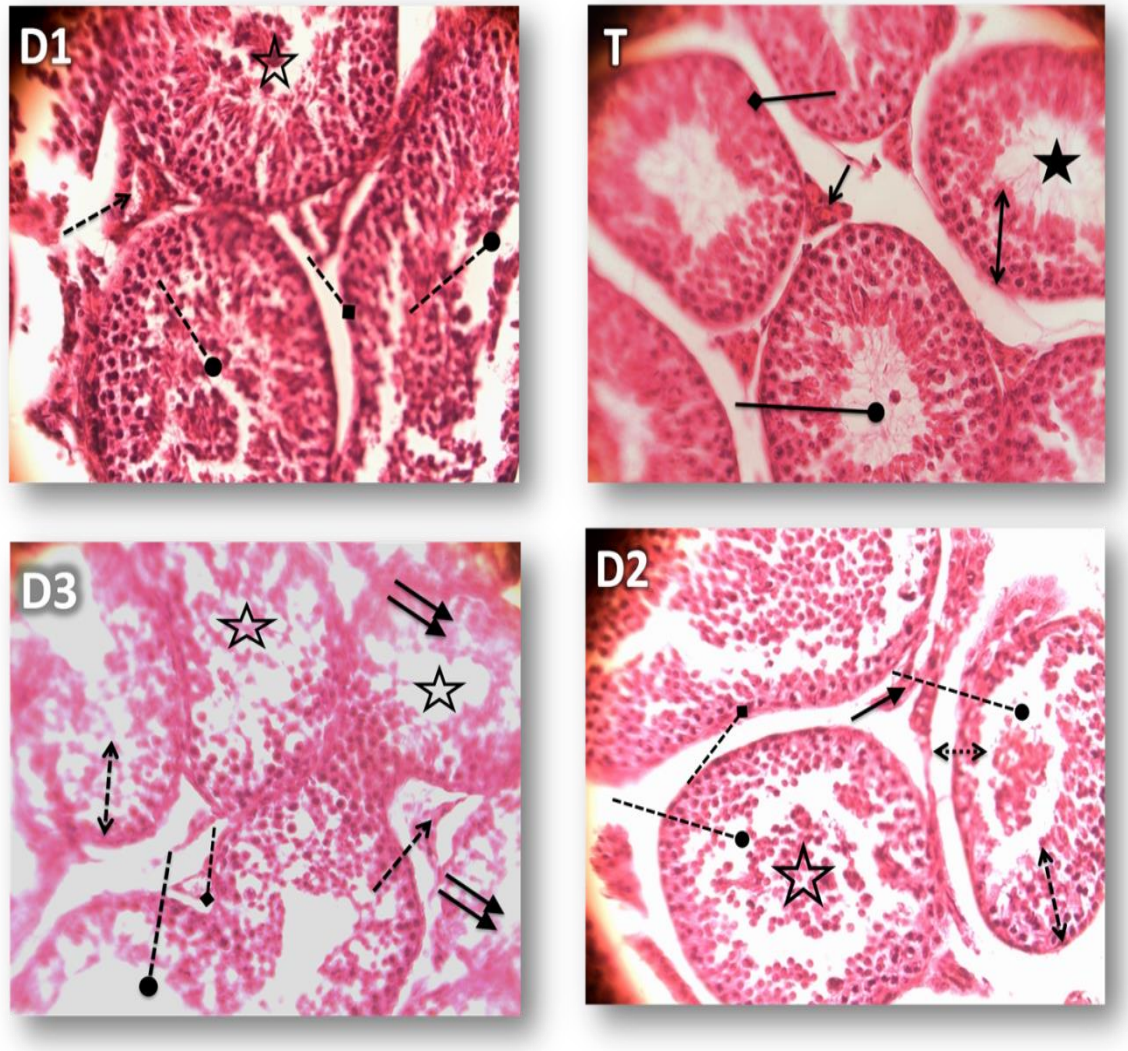
V.1.نسيج الخصي

V.1.1. الطوليان

يمثل الشكلان **(32،31)** صور مجهرية لقطع نسيجية لعضو الخصي، للأرانب المعاملة بالطوليان عن طريق الجرع و عن طريق الشم على التوالي بتكبير ×400، ولقد أوضح الفحص المجهري لهذا العضو تأثر البنية النسيجية للخصي عند الأفواج المعاملة مقارنة مع الفوج الشاهد الذي أبدى هذا الأخير بنية نسيجية سليمة لهذا العضو.

حيث لوحظ تناقص في عدد الحيوانات المنوية لدى الفوج D'1، و بالمقابل فلقد انعدم تواجدها (الحيوانات المنوية) في لمعة الأنابيب المنوية للأفواج D1، D'2،D2 ، D3، D'3 ،كما لوحظ تغير في شكل الأنابيب المنوية التي أصبحت متطاولة قليلا عند الأفواج D1، D'1، D2 ، في حين أدت معاملة الفوجين D'2، D'3 بالطوليان عن طريق الشم إلى تصغير و تضيق قطر الأنابيب المنوية. كما لوحظ تواجد عدد من الخلايا المنوية داخل لمعة الأنبوب المنوي للأفواج D1، D'1، D2، D'2، ولقد ابدي الفحص المجهري للفوجان D3 و D'3 تلف كبير لخلايا سرتولي مما أدى إلى ظهور فراغات في محيط الأنبوب المنوي و عدم انتظام و تماسك الخلايا المنوية خاصة عندا الفوج D'3.

كما بينت الدراسة النسيجية لهذا العضو تغير في شكل و كمية النسيج البيني من فوج لأخر مقارنة بالفوج الشاهد، حيث لوحظ تلف في هذا النسيج مصحوب بتحلل الخلايا(نخر) Nécrose عند الفوجان D'3،D3 .



الشكل (31) صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي أرانب معاملة بالطوليان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400)

★ لمعة الأنبوب المنوي — ☆ تغير في لمعة الأنبوب المنوي

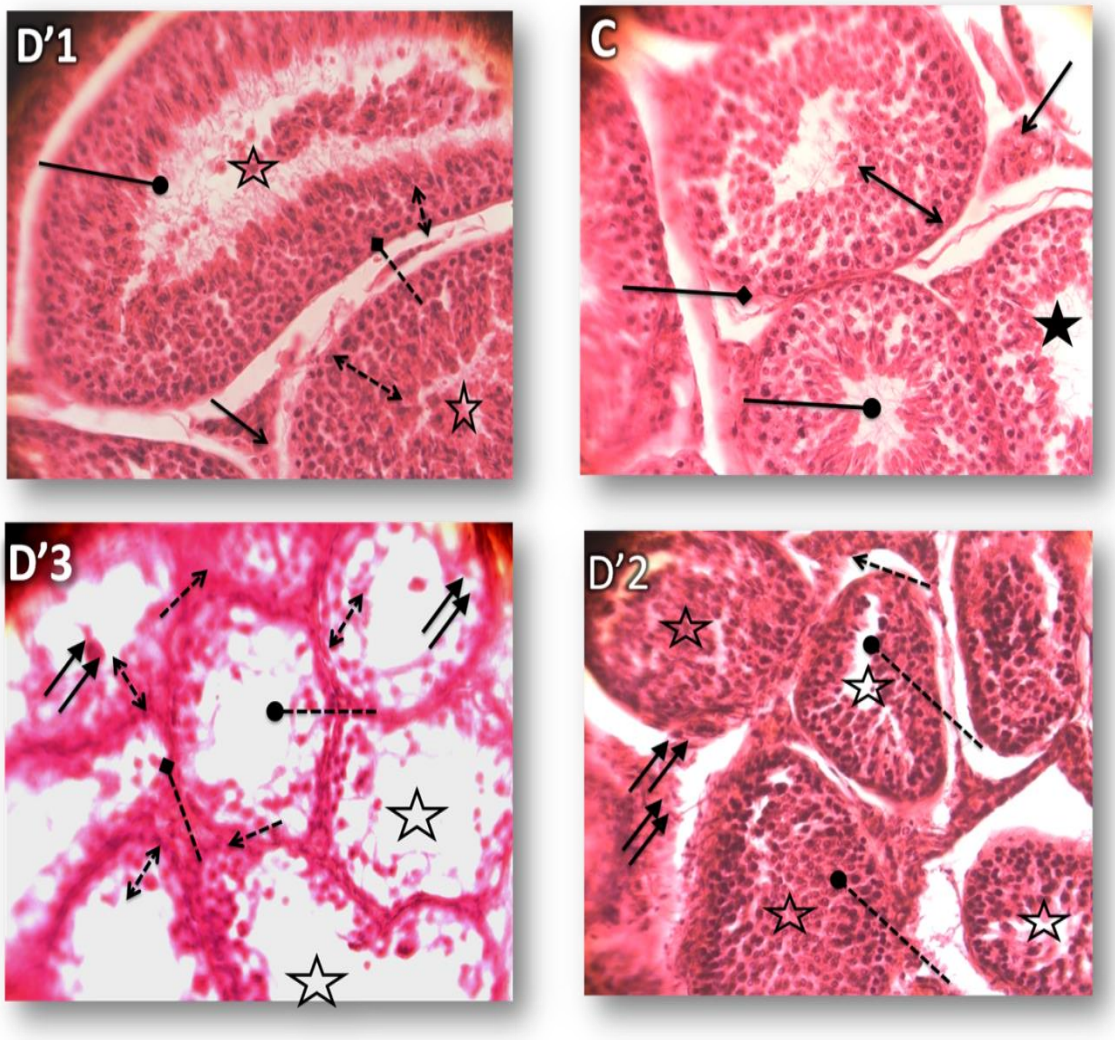
⟵ النسيج البيني — ⟵----- تغير في النسيج البيني

●⟵ الحيوانات المنوية — ●----- تغير في عدد الحيوانات المنوية

⟷ سمك الأنبوب المنوي — ⟵---⟶ التغير في سمك الأنبوب المنوي

◆⟵ الأنبوب المنوي — ◆----- التغير في شكل الأنبوب المنوي

⇙ نخر (تحلل الخلايا) nécrose



الشكل (32) صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي أرانب معاملة بالطوليان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)

★ لمعة الأنبوب المنوي
☆ تغير في لمعة الأنبوب المنوي
← النسيج البيني
←----- تغير في النسيج البيني
●—— الحيوانات المنوية
●----- تغير في عدد الحيوانات المنوية
↔ سمك الأنبوب المنوي
↔--- التغير في سمك الأنبوب المنوي
◆—— الأنبوب المنوي
◆----- التغير في شكل الأنبوب المنوي
⇙ نخر (تحلل الخلايا nécrose)

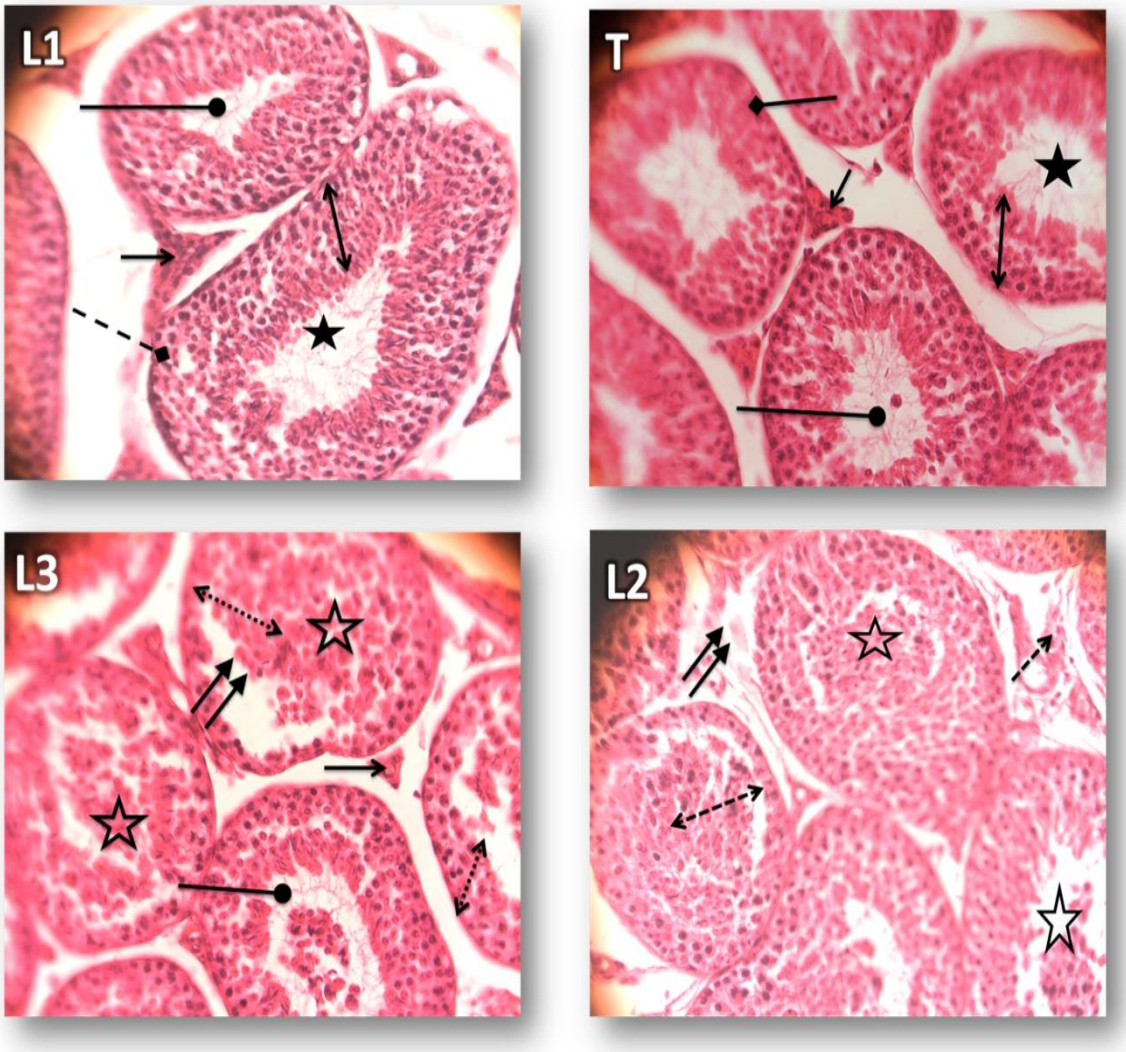
V.2.1. الإجزيلان

يمثل الشكل **(33)** و الشكل **(34)** صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي أرانب معاملة بالإجزيلان بطريقتين مختلفتين،عن طريق الجرع و عن طريق الشم على التوالي بتكبير ×400.

ولقد أبدت هذه القطع النسيجية تغير في نسيج الخصي الأرانب المعاملة بالإجزيلان مقارنة مع الفوج الشاهد، حيث نقص عدد الحيوانات المنوية المتواجدة في لمعة الأنبوب المنوي للأفواج L3، L2 و إنعدمت(الحيوانات المنوية) في الفوج L'3، مع تواجد خلايا منوية داخل لمعة الأنبوب المنوي للفوجان L3، L2.

كما لوحظ تغير في شكل الأنبوب المنوي للفوج L'2 و الفوج L'3، هذا الأخير أبدى تغير جد كبير في شكل الأنابيب المنوية مقارنة بالفوج الشاهد.

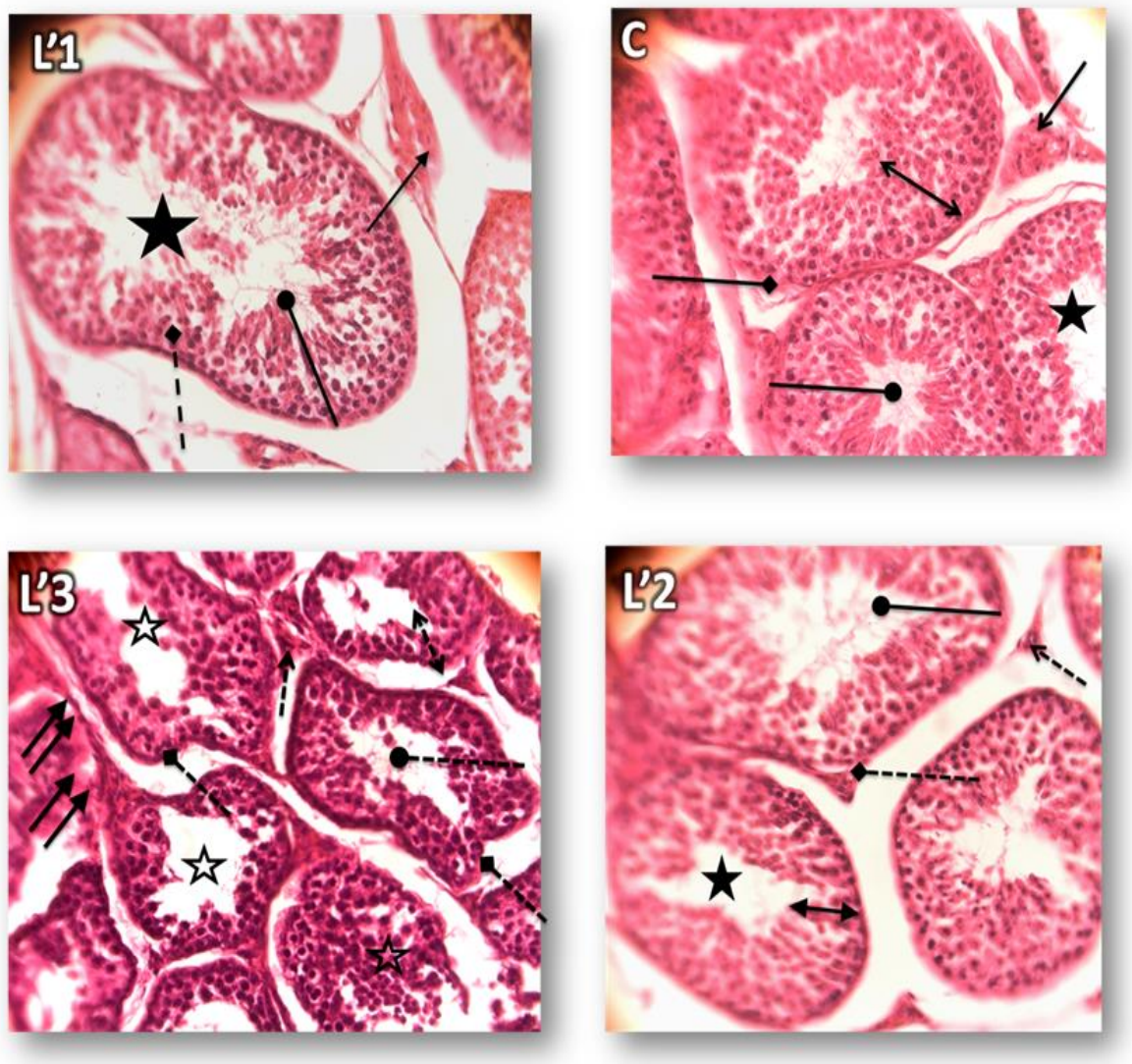
كما أظهر الفحص النسيجي لهذا العضو، تغير في النسيج البيني و الذي تعرض لعملية النخر و التلف في الفوج L'3، L2، والفوج L'2 .



الشكل (33) صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي أرانب معاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400)

- ★ لمعة الأنبوب المنوي
- ☆ تغير في لمعة الأنبوب المنوي
- ⟵ النسيج البيني
- ⟵ تغير في النسيج البيني
- ⟵● الحيوانات المنوية
- ⟵● تغير في عدد الحيوانات المنوية
- ⟷ سمك الأنبوب المنوي
- ⟷ التغير في سمك الأنبوب المنوي
- ⟵◆ الأنبوب المنوي
- ⟵◆ التغير في شكل الأنبوب المنوي

نخر (تحلل) الخلايا nécrose



الشكل(34) صور مجهرية لقطع نسيجية لخصي أرانب معاملة بالإجزيلان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)

★ لمعة الأنبوب المنوي
☆ تغير في لمعة الأنبوب المنوي
⟵ النسيج البيني
⟵----- تغير في النسيج البيني
⟵● الحيوانات المنوية
⟵●----- تغير في عدد الحيوانات المنوية
⟷ سمك الأنبوب المنوي
⟷ التغير في سمك الأنبوب المنوي
⟵♦ الأنبوب المنوي
⟵♦----- التغير في شكل الأنبوب المنوي

نخر (تحلل) الخلايا nécrose

V.2.نسيج الكبد

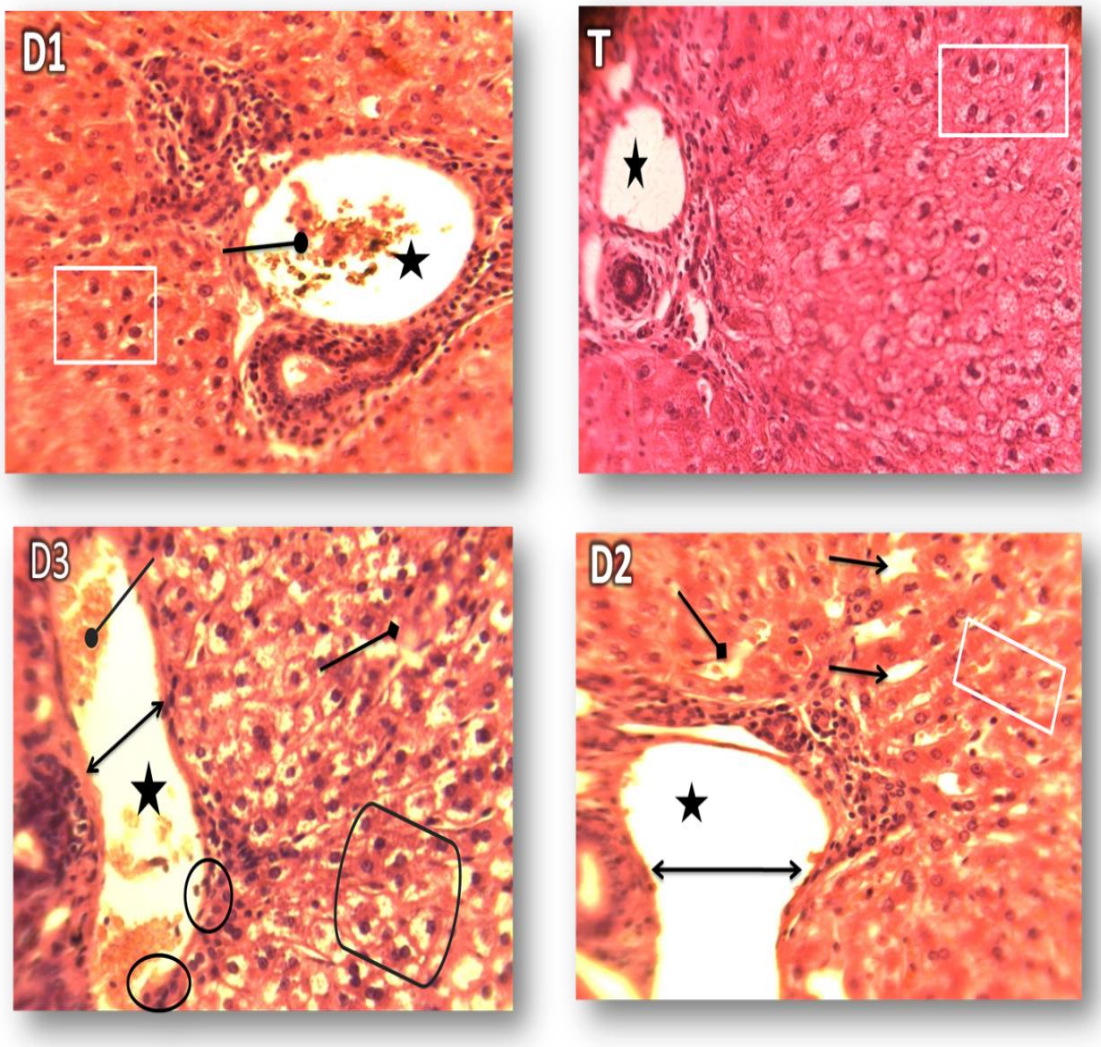
V.2.1. الطوليان

يوضح الشكلان **(35،36)** صور مجهرية لقطع نسيجية لعضو الكبد عند أرانب معاملة بالطوليان عن طريق الجرع و عن طريق الشم ، و الفوج الشاهد بتكبير ×400 .

لوحظ تغير نسيج عضو الكبد للأرانب المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد هذا الأخير الذي يظهر بنية مرفولوجية سليمة لنسيج الكبد.

ومن مظاهر التغيرات الملاحظة في نسيج كبد الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد هي:

- اتساع قطر الوريد المركزي للفوج1'D .
- اتساع قطر الوريد البابي للفوجان 2'D،D2،D3.
- تجمع الدم داخل الوريد البابي للأفواج1D،2'D ، 3'D، D3.
- تجمع الدم داخل الوريد المركزي للفوج؛1'D .
- تضخم الخلايا الكبدية وظهورها باللون الشاحب عند الفوجان D3،3'D.
- تلف و نخر خلايا بطانية الوريد الدموي للفوجان D3، 1'D.
- تلف الخلايا الكبدية وتحلل غشاء النسيج الكبدي للأفواج D3،3'D،1'D.

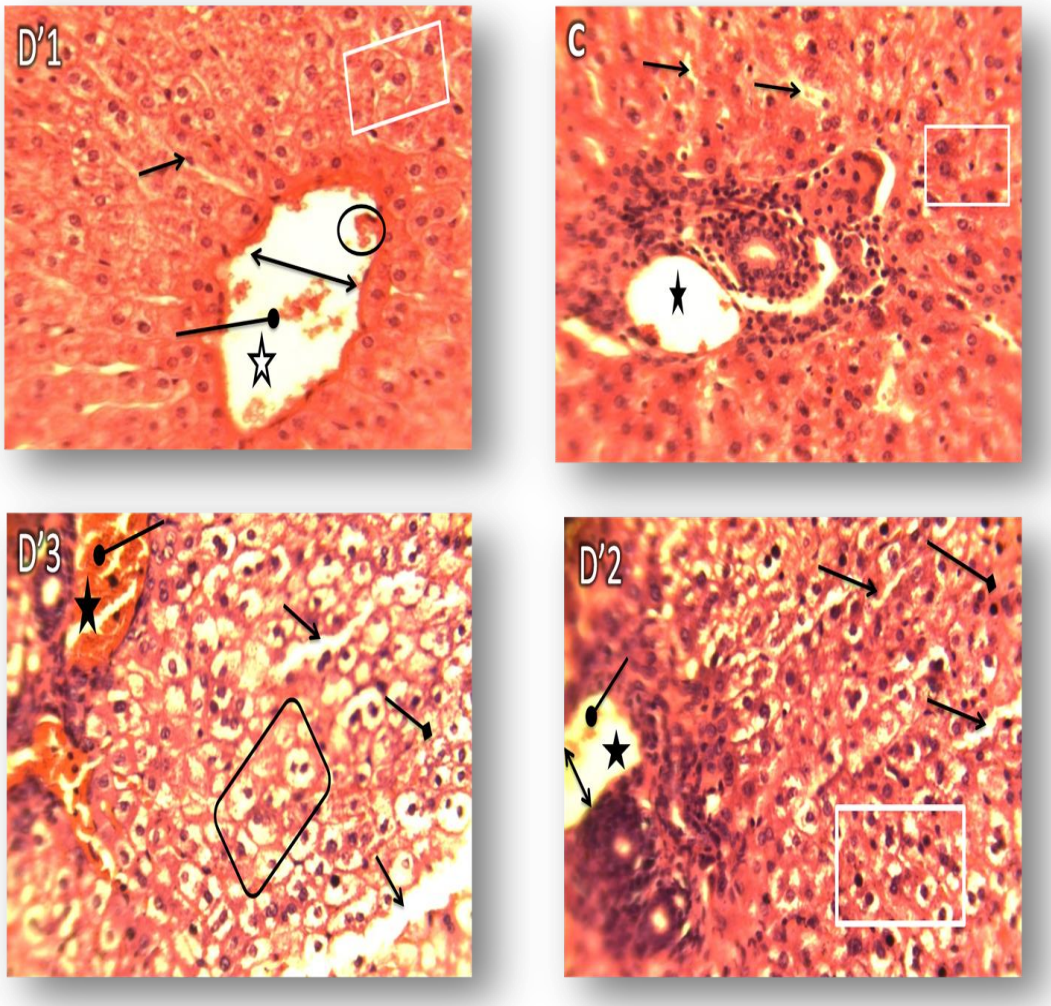


الشكل(35) صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالطوليان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400)

الخلايا الكبدية — تجمع الدم — تضخم الخلايا الكبدية — تلف الخلايا الكبدية نخر(nécrose)

الوريد البابي — الجيوب الكبدية — الوريد المركزي — خلايا بطانية

توسع قطر الوريد المركزي / الوريد البابي



الشكل(36) صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالطوليان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)

الخلايا الكبدية — تجمع الدم — تضخم الخلايا الكبدية — تلف الخلايا الكبدية نخر(nécrose)

الوريد البابي — الجيوب الكبدية — الوريد المركزي — خلايا بطانية

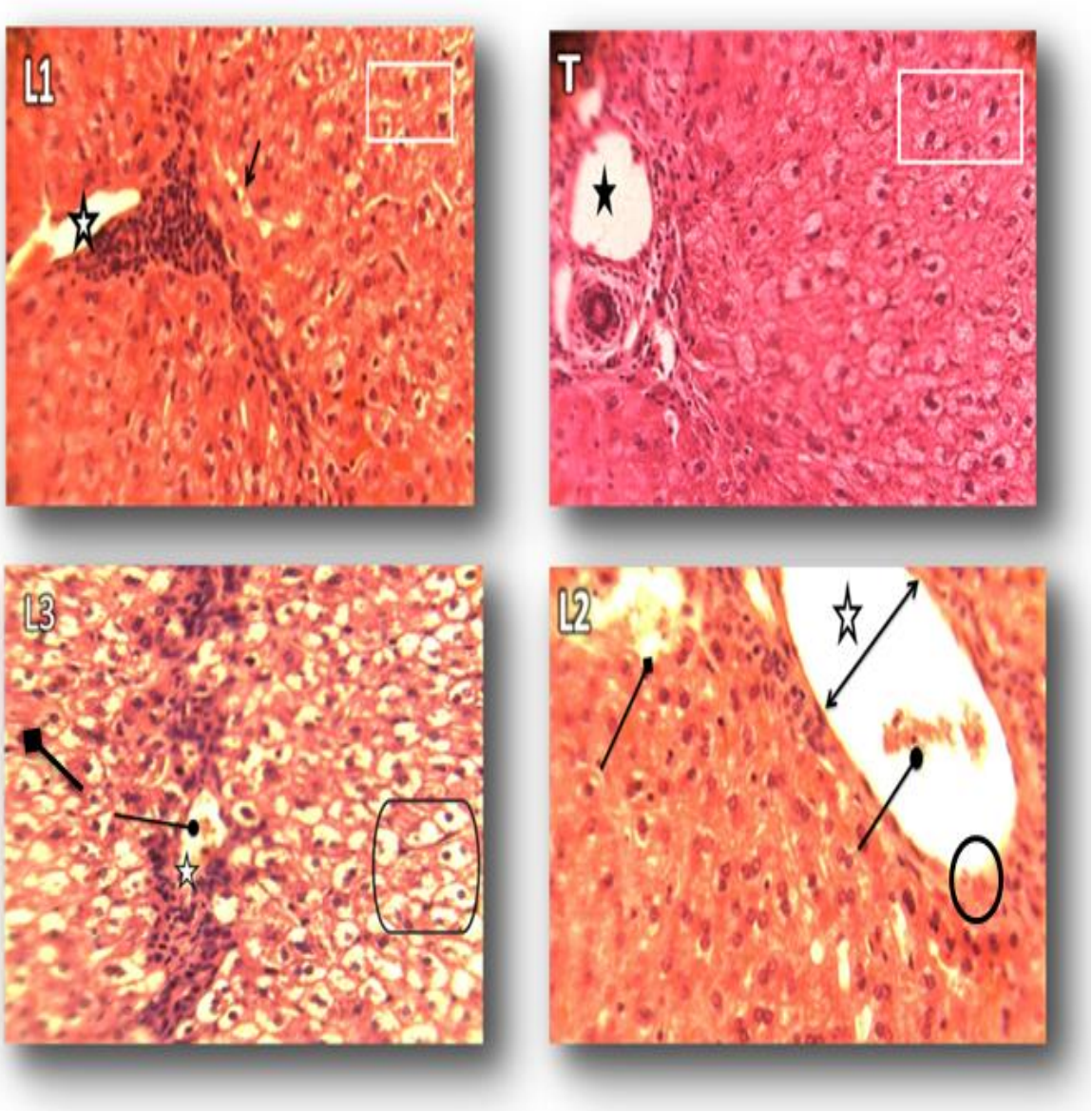
توسع قطر الوريد المركزي / الوريد البابي

V.2.2. الإجزيلان

يوضح الشكلان **(37،38)** صور مجهرية لقطع نسيجية لعضو الكبد عند أرانب معاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع و عن طريق الشم ، و الفوج الشاهد بتكبير ×400 .

استنتج من خلال تحليل القطع النسيجية لكبد أرانب معاملة بالإجزيلان، قدرة هذا الأخير على التسبب في الكثير من التغيرات المرفولوجية لهذا العضو، وتكمن هذه التغيرات في:

- اتساع قطر الوريد المركزي للفوج L2 .
- اتساع قطر الوريد البابي للفوج L'3.
- تجمع الدم داخل الوريد البابي للأفواج2L'،3L' ، L3 .
- تجمع الدم داخل الوريد المركزي للفوج L2 .
- تضخم الخلايا الكبدية وظهورها باللون الشاحب عند الأفواج L3،2L'،3L' .
- تلف و نخر خلايا بطانية الوريد الدموي للفوجانL3 L2 ، L'3 .
- تلف الخلايا الكبدية وتحلل غشاء النسيج الكبدي للفواجان L2 ، L'3

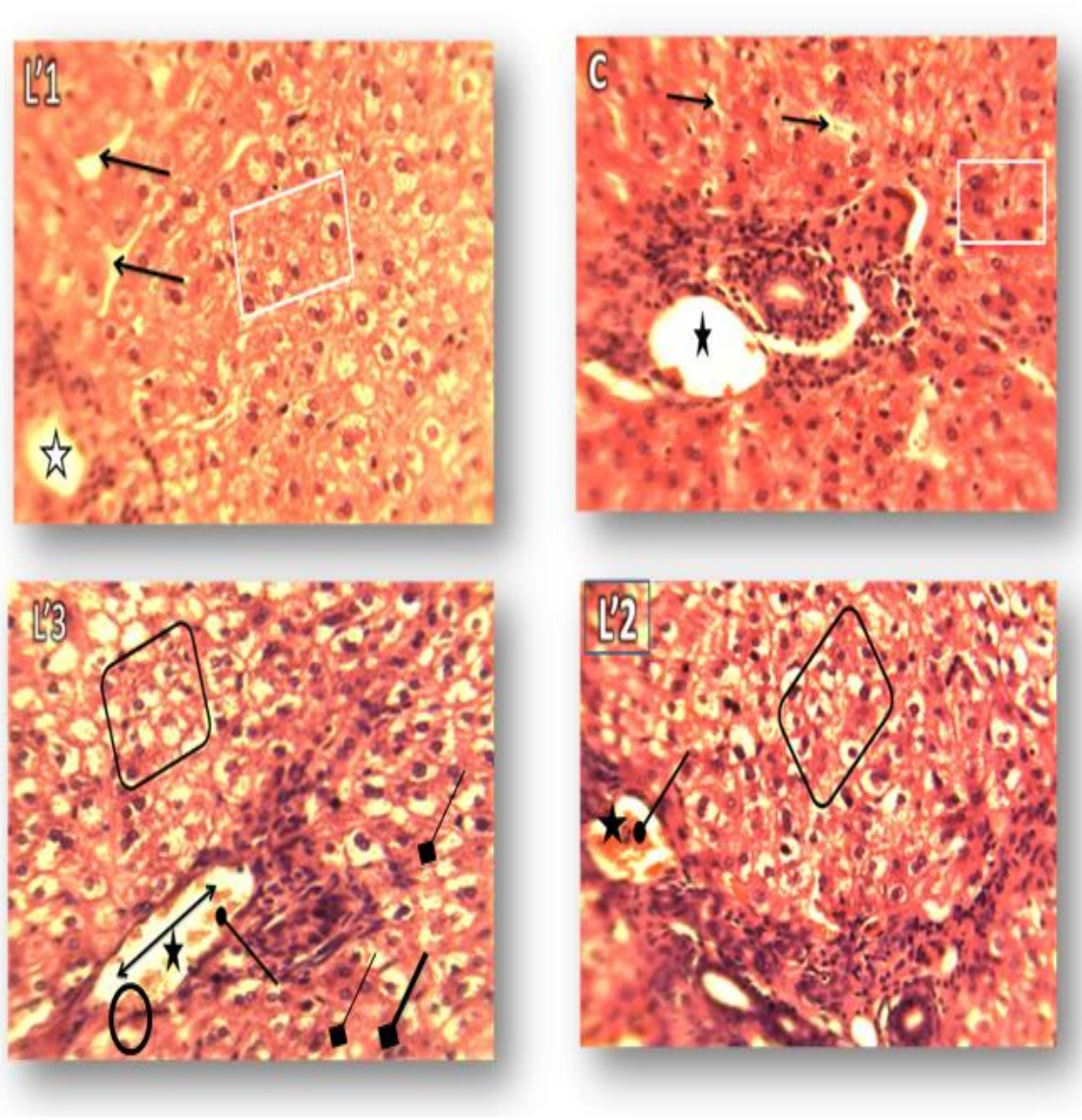


الشكل(37) صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع و الفوج الشاهد(×400)

الخلايا الكبدية — تجمع الدم — تضخم الخلايا الكبدية — تلف الخلايا الكبدية نخر(nécrose)

الوريد البابي — الجيوب الكبدية — الوريد المركزي — خلايا بطانية

توسع قطر الوريد المركزي / الوريد البابي



الشكل(38) صور مجهرية لقطع نسيجية لكبد أرانب معاملة بالاجزيلان عن طريق الشم و الفوج الشاهد(×400)

الخلايا الكبدية — تجمع الدم — تضخم الخلايا الكبدية — تلف الخلايا الكبدية نخر(nécrose)

الوريد البابي — الجيوب الكبدية — الوريد المركزي — خلايا بطانية

توسع قطر الوريد المركزي / الوريد البابي

المناقشة

رابعا: المناقشة

يعتبر كلا من الطوليان و الإجزيلان من أكثر المركبات الكيميائية استعمالا في المجال الصناعي، مما جعلهما أكثر انتشارا في الوسط الخارجي (المحيط) و الوسط الداخلي، إلا أنهما يبرزان العديد من مظاهر السمية التي من شانها أن تهدد تواجد الكائنات الحية، وذلك من خلال التأثير على وظيفة التكاثر.

ولقد أوضحت النتائج المتحصل عليها، انخفاضا معنويا عاليا جدا في تركيز الحيوانات المنوية للأفواج المعاملة بالطوليان و الأفواج المعاملة بالإجزيلان عن طريق الجرع، عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد و يرجع سبب ذلك لتأثير هذين المركبين على وظيفة التنظيم الداخلي (**Aumuller *et al*** **(1992,.** و لتوضيح ميكانيزم التأثير قام **Svensson *et al*** **(1992a)** و **Svensson *et al*** **(1992b)** بدراسة تأثير الطوليان على محور التكاثر: منطقة تحت السرير العصبي _ الغدة النخامية _ الغدد الجنسية لدى عمال تعرضوا لهذا المركب بتركيزين مختلفين 36 ppm، 45 ppm، وذلك بتقدير تركيز المؤشرات الهرمونية فلاحظوا تناقصا معنويا في متوسط هرموني LH،FSH البلازمي و كمية التستوستيرون المصلي. و في تجارب أخرى على الحيوان لوحظ أن لدى طوليان الإجزيلان والبنزين القدرة على إحداث خلل في تركيز الدوبامين، الأدرينالين و النور أدرينالين(**Andersson *et al* . ,1980**) و هذه المستقبلات العصبية ضرورية لتنظيم إفراز الهرموني LH،FSH و هرمونات أخرى (**Andersson *et al* . ,1981b**) فعند الإنسان يؤدي الدوبامين لتثبيط إفراز FSH, LH (**Leblanc,1976**) و عند الحيوان الأدرينالين و النور أدرينالين يحفزان تخليق FSH, LH (**Rubinstein & Sawyer ,1970**) و بما أن FSH يحث خلايا سرتولي على تغذية و تطوير الخلايا الجرثومية، فإن نقصه يؤدي إلى نقص في تركيز الحيوانات المنوية(**Svensson *et al*.,1992a**) كما يرجع هدا الانخفاض في عدد الحيوانات المنوية إلى نقص هرمون التستوستيرون و الذي يعد عاملا أساسيا في عملية تكوين الحيوانات المنوية حسب ماأثبته **Yamada (1993)** حول تأثير الإجزيلان على مستوى الهرمونات الجنسية عند العمال، و **Xiao *et al* (2001)** حول تأثير الطوليان، الإجزيلان ،البنزين على مستوى هرمون التستوستيرون لعمال الطابعات، ولقد توافقت هذه الأعمال مع النتائج المتحصل عليها، حيث بينت النتائج قدرة الطوليان والإجزيلان على تخفيض تركيز هرمون التستوستيرون بصفة معنوية عالية عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع و الأفواج المعاملة عن طريق الشم مقارنة بالفوج الشاهد.

كما بينت النتائج **XIAO (2001)** أن تواجد الإجزيلان، بنزين و طوليان في الدم و السائل المنوي لعمال معرضون لهذه المركبات دليل على اختراقهم للحاجز الدموي الخصوي و تأثيره على أنسجة الخصية بصفة خاصة مما أدى إلى تحلل الخلايا الجرثومية و خلايا أمهات المني **(Svensson *et* *al*.,1992a)** و بما أن الخلايا الجرثومية الأولية تنقسم و تتمايز لتكون الحيوانات المنوية فإن نقصها أو تلفها يؤدي بالضرورة إلى نقص عدد الحيوانات المنوية **(Schardein , 1993)** و قد يعود سبب هذا النقص إلى تحلل و تلف خلايا سرتولي **(Xiao *et al.,2001*)** فهذه الخلايا تعد مصدر التغذية و الدعامة للحيوانات المنوية فتغير مرفولوجيتها يتسبب في منع اتصالها مع الحيوانات المنوية و انغراس هذه الأخيرة على أغشيتها مما يتسبب في نقص كمية تواجدها في لمعة الأنبوب المنوي **(Russell *et* *al*., 1980)** ونقص وزن الخصي للأشخاص المعرضة للإجزيلان **(Yamada ,1993)** كما يتعدى تأثير هذه المركبات إلى الانقسام الخلوي، حيث لوحظ تكاثر سريع في عمليات تكوين الحيوانات المنوية و بالإضافة إلى التأثير على انقسام خلايا أمهات المني و الخلايا المنوية، لكن ميكانيزم التأثير يبقى مجهولا كما يؤثر الطوليان على الانقسام الاختزالي للخلايا المنوية إلى طلائع المني **(Ishigami *et* *al*.,2005)** وفي دراسة نسيجية لقطع من خصي جرذان معاملة بالطوليان، لوحظ أن أغلب خلايا أمهات المني لا تتحول إلى خلايا منوية و ذلك بسبب توقفها في مرحلة الباكيتان **(Ono *et al* .,1999)** Pachytène.

ولقد توافقت هذه الأعمال مع النتائج المتحصل عليها حول تغير الوزن النسبي للخصي الذي انخفض بصفة معنوية عند الأفواج المعاملة بالطوليان و الإجزيلان عن طريق الشم وعن طريق الجرع مقارنة بالفوج الشاهد، وبالنظر لتغير أنسجة الخصي عند الأفواج المعاملة لوحظ نقصا في عدد الحيوانات المنوية في لمعة الأنبوب ،تلف النسيج المكون للأنبوب المنوي مما أدى إلى تغيير شكل و قطر الأنابيب المنوية.

و لقد بينت النتائج المتعلقة بدراسة النشاط الحركي، نقصا معنويا عالي جدا في نسبة حركة وسرعة الحيوانات المنوية للأفواج المعاملة بالمركبين مقارنة بالفوج الشاهد، وقد يرجع سبب ذلك إلى نقص هرمون FSH، مما أدى إلى عدم نضج الأكروزوم وأحدث خللا في جهاز الحركة **(Mullfy *et* *al*.,1994)** بالإضافة إلى أن هذين المركبين يؤثرن على وزن البربخ والذي يعد كمنطقة مسؤولة على نضج الحيوانات المنوية واكتسابها القدرة الحركية، فبالضرورة يتسبب تلفه بنقص النشاط الحركي

(Calvin & Bedford,1971) ولقد انخفض كذلك وزن البربخ في تجاربنا عند الأفواج المعاملة بالطوليان والإجزيلان بكلتى الطريقتين مقارنة بالفوج الشاهد.

كما يؤثر الطوليان على المكونات الطاقوية للسائل البربخي. مما أدى إلى عجز في حركة الحيوانات المنوية **(Ono *et al* ,1996)**، وعلى المستوى الخلوي فالإجزيلان، الطوليان، البنزين يتسببون في تخفيض (LDH−C4) loctate déshydrogénase − C4 لدى العمال، فبما أن هذا الإزوزيم مسؤول على منح الطاقة للخلايا من خلال الميتابوليزم، فنقصه يؤدي إلى نقص الطاقة ومن ثم نقص انشاط الحركي للحيوانات المنوية **(Vanitha *et al*.,1991)**؛ وهذا ما يفسر الزيادة الملاحظة في فركتوز السائل المنوي بسبب عدم استغلاله وتفكيكه من طرف الخلايا المنوية بصفة عامة والحيوان المنوي بصفة خاصة **(Xiao *et al* . ,2001)**.

ومن مظاهر سمية الطوليان، قدرته على أكسدة الدهون **(Mattia *et al*. ,1993)** مما يتسبب في نقص الأنزيمات المسؤولة عن النشاط الحركي وحيوية الحيوانات المنوية**(Jones & Mann ,1973)**. كما أثر الطوليان والإجزيلان على حيوية الحيوانات المنوية بصفة معنوية عند الأفواج المعاملة عن طريق الجرع و عن طريق الشم مقارنة بالشاهد، بسب تأثير هذه المركبات على أنسجة الخصية وبصفة خاصة خلايا سرتولي **(Ono *et al* .,1999)** إضافة إلى قدرتهما على أكسدة دهون أغشية الخلايا مما يؤدى إلى ضعف مقاومة الحيوانات المنوية **(Mattia *et al*. ,1993)**، وتشوهها عند الفئران **(Cai *et al*., 1996)** ولقد توافقت النتائج مع أعمال **Xiao *et al* (2001)**.

كما يتعدى تأثير هذه المركبات إلى وظائف الغدد الملحقة وخاصة البروستاتا كنقص في نشاط حمض الفسفاتاز **(Huang ,1993)** ويؤثر على الخصوبة الذكرية من خلال تأثيره على إنزيمات الجسم الطرفي مما يقلل في فرص تخصيب البويضات **(Taskinen *et al*.,1989)**، وقد تشكل كذلك هذه المركبات خطرا على التطور الجنيني وذلك من خلال إمكانية مرورهم عبر السائل المنوي إلى الأم **(Ono *et al* .,1999)**.

أما النتائج المتعلقة بالمؤشرات البيوكميائية ، فلقد سجلنا ارتفاع معنوي عالي جدا في تركيز (الغلوكوز، الكولسترول، البروتينات الكلية) للأفواج المعاملة بالطوليان (عن طريق الشم و عن طريق الجرع) مقارنة بالفوج الشاهد، إلا أن تركيز الغليسريدات الثلاثية انخفض بصفة معنوية عالية عند

الأفواج المعاملة بالطوليان، مقارنة بالفوج الشاهد و بالمقابل انخفض تركيز الغلوكوز، الكولسترول، الغليسريدات الثلاثية عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان مقارنة بالفوج الشاهد، في حين ارتفع تركيز البروتينات، الكلية عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان(عن طريق الجرع، عن طريق الشم) مقارنة بالفوج الشاهد.

ويرجع ذلك إلى حدوث خلل على مستوى عمليات الأيض، بسبب تضرر نسيج و وظائف الكبد، حيث أثبتت العديد من التجارب قدرة هذان المذيبان على التأثير على نشاط إنزيمات الكبد بصفة عامة و إنزيمات السيتكروم P450 بصفة خاصة مما يؤثر على عمل الكبد ; **(Stumph *et al*.,1985 Poon *et al*.,1994)**

في تجارب تمت في الوسط المهني لعمال في مجال الصباغات التي تستعمل مزيج من متمكبات الإجزيلان لوحظ ارتفاع مستوى إنزيمات الكبد transaminase في مصل الدم **(Morley *et al* ., 1970; Klaucke *et al*.,1982)** كما بين الفحص النسيجي تضرر نسيج الكبد بسبب التعرض للإجزيلان، حيث لوحظ تغير في تموضع الأنوية، تكاثر وزيادة الشبكة الهيولية، تشوه الميتوكوندريا، انخفاض كميات الغليكوجين **(Tatrai & Ungvary ,1979 ; Ungvary , 1989)**.

وفي نفس السياق لاحظنا تغير في تركيز الكولسترول عند الأفواج المعاملة بالطوليان و الإجزيلان وذلك بسبب تلف أنسجة الكبد، وقد يرجع هذا التغير إلى حدوث خلل في الأنزيمات المسؤولة عن تحويل الكولسترول إلى الهورمونات الجنسية الذكرية، مما احدث تناقصا في تركيز التستوستيرون **(Husmann & Mephaul,1991)** حيث يتسبب الطوليان في تكديس الدهون في نسيج الكبد، مما يزيد في نشاط السيتوكروم P450 و b5 لدى الأرانب و بعض الحيوانات المخبرية الأخرى **. (Ungvary *et al* ., 1982)**

إن التغير في المؤشرات البيوكيميائية المدروسة يعرف بالضغط أو التوتر**(Howell *et al* ., 1986)**، ومن مظاهر هذه الحالة الفيزيولوجية التغير في مستوى دوبامين المخ لأرانب المعاملة بـ 1000 ppm من الطوليان بعد 08 ساعات من المعاملة **(Rea *et al*., 1984)**، مما يحدث اضطرابات في الضغط الدموي**(Liber *et al*.,1963 ;Kotoku *et al*.,1977 ;Savolamen *et al*.,1977)** .

وقد كانت النتائج متوافقة مع ما توصل إليه **Takahashi *et al* (1988)** والتي أجريت على ذكور الأرانب معاملة بـ0,5 غ /كغ من الطوليان، فلاحظوا زيادة في الكولسترول بعد 06 ساعات من تناول الجرعة مع زيادة في الأحماض الدهنية و الفوسفولبيدات والغلوكوز، وتوافقت كذلك مع نتائج **Neghab *et al* (2015).**

كما توافقت النتائج المتحصل عليها مع نتائج **Pyykkä (1980)** و نتائج **Poon *et al* (1994)** حول قدرة هذان المركبان في زيادة وزن الكبد، كما لاحظنا عدة تغيرات في نسيج الكبد مما يثبت تلف هذا العضو.

ولقد سجلنا انخفاضا في تركيز معامل إزالة السمية الغلوتاتيون GSH على مستوى نسيج الكبد و الخصي عند الأفواج المعاملة بالطوليان و عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان مقارنة بالفوج الشاهد. ويعود سبب ذلك إلى قدرة الهيدروكربونات العطرية (الطوليان، الإجزيلان، البنزين) على التأثير على محتوى المصل الكبدي (**Huddak & Ungvanry ,1978**) وزيادة على ذلك فان نواتج ميتابوليزم الطوليان و الإجزيلان تتعرض إلى تفاعلات إزالة التسمم في وجود GSH مما يؤدي إلى استهلاكه و نقصة في الكبد و الأعضاء (**Sies *et al* . , 1983**).

ولقد توافقت النتائج مع ما استخلص من تجارب **Vandoorn *et al* (1980)** من خلال تجاربهم على مجموعة من الفئران المعاملة بالطوليان بتركيز26 %لمدة 03 ساعات، في حين ان تجارب **Tas *et al* (2011)** أثبتت العكس حيث سجلت النتائج ارتفاع GSH، GST بسبب ارتفاع مولد الضد أي الهيدروكربونات العطرية.

ولقد سجلنا ارتفاع تركيز اليوريا، الكرياتينين، الألبومين لبلازما دم الأرانب المعاملة بالطوليان و الإجزيلان (عن طريق الشم و الجرع) مقارنة بالفوج الشاهد، في حين أن تجارب **Neghab *et al* (2015)** قد بينت أن الطوليان يتسبب في ارتفاع تركيز اليوريا و الكرياتينين في البلازما و يخفض من تركيز الألبومين و البروتينات الكلية في الدم. التغيرات المتعلقة بالمؤشرات السابق ذكرها تدل على حدوث اضطربات في وظيفة الكلى، فالإجزيلان يتكدس في النسيج الدهني المحيط بالكلى (; **Morley *et al*., 1970 Engström & Bjurström, 1978**)، ويؤثر على نشاطها الأنزيمي و يغير من وزنها النسبي(**Wolfe, 1988; Elovaara *et al*.,*1989***) ، حيث كشف الفحص النسيجي قدرة هذا

المركب على التغيير من البنية النسيجية للكلى مما يتسبب في تعطيل وظائفها والإصابة بالفشل الكلوي المزمن (**Condle *et al*., 1988**)، كما بينت الدراسات أن الأشخاص المدمنين على تعاطي الهيدروكربونات العطرية وخاصة الطوليان يصابون باضمحلال النفرونات الكلوية **(Kamijima *et al*., 1994; Kamijo *et al*., 1998)**، مما يتسبب في نقص وزن الكلى **(Gospe & Zhou, 2000)** كما قد تتسبب هذه المذيبات في إحداث أورام في نسيج الكلى **(Hard *et al*., 2012)** مما يزيد من حجم هذا العضو **(Condie *et al*., 1988 ; Lehman & Hein ,2006; Niaz *et al* .,2015)**

وبالنظر إلى تغير المؤشرات الدموية لقد سجل انخفاض في عدد الكريات الدموية الحمراء، نسبة الخلايا اللمفاوية، عدد الصفائح الدموية تركيز الهيموغلوبين، نسبة الهيماتوكريت عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد أما عدد الكريات الدموية البيضاء و نسبة الخلايا المحببة فلقد ارتفع عند جميع الأفواج المعاملة، في حين انخفضت نسبة الخلايا وحيدة النواة عند الأرانب المعاملة بالطوليان و ارتفعت نسبتها عند الأفواج المعاملة بالإجزيلان مقارنة بالفوج الشاهد، هذا التغير في المؤشرات الدموية يثبت التأثير السام لهذه المركبات الكيميائية على الجهاز الدوري و المناعي .

فالتغير في كمية الهيموغلوبين، نسبة الهيماتوكريت و عدد الكريات الدموية الحمراء عند الأفواج المعاملة بالطوليان و الإجزيلان مقارنة بالفوج الشاهد يتسبب في حدوث الأنيميا **(Lord,1993)** وقد يعود سبب الانخفاض إلى تأثير الطوليان و الإجزيلان على المحتوى النووي لخلايا نخاع العظام، مما أثر على عملية تخليق الخلايا الدموية **(IARC ,1999)**، و لقد بينت تجارب **Gibson& Hardisty (1983)** أن المتعرضين للطوليان بتركيز أكبر من 300 ppm يحدث لهم نقصان في نسبة الهيماتوكريت وكمية الهيموغلوبين بصفة معنوية، مما يتسبب في مرضهم بالأنيميا.

وقد يعود سبب هذا الخلل في قدرة الإجزيلان على تخفيض كمية السائل المتواجد في الطبقة الوسطى بين طبقتي الفوسفوليبيدات لغشاء الكريات الدموية الحمراء للفئران **(Wrońska *et al* . ,1991)**.

كما سجل انخفاض نسبة الخلايا اللمفاوية و ارتفاع في عدد الخلايا البيضاء والخلايا المحببة و وحيدة النواة، و يرجع سبب ذلك إلى ما توصل إليه **Hsien *et al* (1991)** في قدرة الطوليان على تخفيض وزن الغدة الصعترية و التغيير من بنيتها النسيجية، وقدرة هذا المركب على إحداث رد فعل مناعي و إنتاج مولدات الضد و الانترلوكين-2 عند الفئران ، ولقد سجل **Condie *et al* (1988)**

نفس النتائج عند معاملة فئران بـ2000 ملغ/كلغ/اليوم من الإجزيلان، في حين كانت تجارب **Burns *et al*(1994)** مناقضة للنتائج السابقة حيث بين عدم قدرة تأثير الطوليان على الغدد الثيموسية لفئران معاملة بـ 600 ملغ/كلغ من الطوليان لمدة 14 يوما، مما تسبب في عدم تغير في عدد الخلايا اللمفاوية T، مع عدم الملاحظة تغير الخلايا الحمراء في حين هذا التركيز يتسبب في نقص عدد الخلايا المتعادلة بنسبة 30 %و يزيد من نشاط الخلايا القاتلة.

كما أكد **Svensson *et al* (a1992)** على أن الطوليان لا يحدث تغيرا في المؤشرات الدموية للحيوانات المعاملة بـ 98 ppm من الطوليان. أما دراسة **Luster *et al* (1992)** فلقد أوضحت أنه (الطوليان) ينقص من نشاط الجهاز المناعي للخلايا اللمفاوية، البالعات الكبيرة، الخلايا اللمفاوية B،T كما ينقص من عدد الأجسام المضادة و هذا يعود حسب **Burns *et al*(1994)** إلى حدوث خلل في عملية تخليق الخلايا الدموية بسبب تأثير الطوليان على خلايا نخاع العظام.

كما توجد تجارب تثبت ارتباط إصابة عمال بشركة المطاط التي تستعمل الإجزيلان في منتجاتها و مرض سرطان الدم اللمفاوي **(Arp *et al* ., 1983)** ، وقد يشكل هذا المركب خطرا كبير على الأطفال الذين سبق و أن تعرض إباؤهم له (الإجزيلان) حيث تزيد فرصة إصابتهم بمرض الأنيميا و سرطان الدم ولو كانت الأم تملك مؤشرات دموية سليمة (**Lowengart *et al* . , 1987**) .

إن التعرض لفترة طويلة من الإجزيلان تتسبب في انخفاض الهيموغلوبين، انخفاض في عدد الكريات الدموية الحمراء و البيضاء؛ وحيدة النواة و المحببة **(Hipolito ,1980)**. كما يخفض الإجزيلان بتركيز ppm100 عدد كريات الدم الحمراء بنسبة 18,5%و تركيز الهيموغلوبين، ويزيد من نسبة كريات الدم البيضاء بنسبة 35% عند الفئران **(Korsak *et al*.,1994)**. ولقد كانت تجارب **Wang *et al*(2016)** حول تأثير مزيج من المركبات العضوية (الطوليان، البنزين، الإجزيلان و الفورمالدهيد) متماثلة و موافقة لأغلب النتائج المتحصل عليها .

آفاق البحث

إن المركبات الكيميائية المستعملة حاليا في المجال الصناعي ، محل دراسة مكثفة ومتجددة من طرف الخبراء و العلماء، وذلك لمحاولة تسطير أهم الآثار السلبية لها على البيئة والمحيط بصفة عامة و الإنسان بصفة خاصة سعيا منهم لتحديد قيمها المثلة للاستعمال الآمن أو لتحذير الجهات المختصة لاتخاذ التدابير الممكنة لاستبدالها أو للتخلي عنا، هذا شأن البنزين الذي و بالرغم من أهميته الكبيرة صناعيا إلا انه يشكل خطورة بالغة على الإنسان والحيوان واستبداله بالإجزيلان و / أو الطوليان كان أمرا صائبا إلا أننا في هذا البحث تحصلنا على جملة من النتائج التي تؤكد خطورتهما على بعض مؤشرات التكاثر ووظائف الكبد وبعض المؤشرات الدموية ، ولتعميق الهدف و المغزى المرجو من هذا العمل نسعى مستقبلا لبعض الأفاق و التطلعات التي من شانها أن تدعم و تثري هذا العمل كـ:

- دراسة مدى تأثيرهما على كل المؤشرات البيولوجية و الخلوية على السائل المنوي و النظام الهرموني للجهاز التناسلي.
- دراسة إمكانية تأثر ADN الحيوانات المنوية و دراسة البنية النسيجية للخصي و الغدد الملحقة باستعمال المجهر الالكتروني.
- تقدير كمية الطوليان والإجزيلان و نواتج ايضهما في السائل المنوي و نسيج الخصية و بعض الأعضاء الأخرى كالكبد.
- تقدير بعض المؤشرات البيوكيميائية للغدد الملحقة .
- دراسة تأثيرهما على التطور الجنيني على مدى اجيال.
- دراسة مدى تأثير هذان المركبان على بعض الوظائف الأخرى كالجهاز العصبي، الجهاز الدوري، الجهاز الهضمي ، الجهاز التنفسي و الجهاز الاطراحي البولي.
- البحث في الطبيعة عن عشب طبي يمكنه أن ينقص من التأثيرات السامة لهذان المركبان، كوسيلة وقاية للعمال و الأشخاص العرضى لهما.

المراجع

المراجع

Ameno K, Fuke C, Ameno S, Kiriu T, Sogo K, Ijiri I. A fatal case of oral ingestion of toluene. *Forensic Sci. Int*, 1989; 41: 255-260.

Ameno K, Kiriu T, Fuke C., Ameno S, Shinohara T, Ijiri, I. Regional brain distribution of toluene in rats and in a human autopsy. *Arch. Toxicol*, 1992; 66 : 153-156.

Andersson K , Fuxe K , Toftgard R , Nilsen OG , Eneroth P , Gustafsson JA. Toluene induced eminence catecholamine nerveterminal systems of the male rat and its effects on anterior pituitary hormone secretion . *toxical let* , 1980 5 : 393 – 398.

Andersson K, Fuxe K, Nilsen OG, Toftgård R, Eneroth P, Gustafsson JA. Production of discrete changes in dopamine and noradrenaline levels and turnover in various parts of the rat brain following exposure to xylene, ortho-, meta-, andpara-xylene, and ethylbenzene. *Toxicol Appl Pharmacol* ,1981a**;**60:535-548.

Andersson K , Fuxe K , Eneroth P , Nuberg F , Ross P. Rat prolactine andhypothalamic catecholamine nerve Terminal Systems. Evidence for rapid and discrete increases in dopamine and nor adrenaline Turnover in the hypophysic Tomized male rat. *Eur J pharmacol* , 1981b; 76: 261-265.

Arnold GL, Kirby RS, Langendoerfer S, Wilkins - Haug L. Toluene embryopathy: clinical delineation and developmental follow-up. *Pediatrics*, 1994; 93 : 216-220.

Arp EW Jr, Wolf PH , Checkoway H. Lymphocytic leukemia and exposures to benzene and other solvents in the rubber industry. *J. Occup. Med*, 1983; 25 : 598-602.

Arthur LJ, Curnock DA. Xylene-induced epilepsy following innocent glue sniffing. *Br Med J Clin Res Ed* ,1982; 284(6331): 1787.

Askergren A. Studies on kidney function in subjects exposed to organic solvents: III. Excretion of cells in the urine. *Acta Med Scand* ,1981;210:103-106.

Askergren A. Organic solvents and kidney function. In: Englund A, Ringen K, Mehlman MY, eds. Advances in modern environmental toxicology: Occupational

health hazards of solvents. *2nd ed. Princeton Scientific Publishers Inc*, 1982;157-172.

Astrand I, Engström J ,Ovrum P. Exposure to xylene and ethylbenzene: I.Uptake, distribution and elimination in man. Scand. J. Work Environ. Health, 1978; 4: 185-194.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for xylene (update). *Chamblee, GA*,1995; p. 270.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry Toxicological profile for toluene, US Department of Health and Human Services: Atlanta, US.International Programme on Chemical Safety (IPCS). Toluene. Environmental Health Criteria 52, 1986. WHO: Geneva,2000.

ATSDR. Benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX) final interaction profile. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Géorgie, 2005.

ATSDR. Toxicological profile for xylene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Géorgie,2007.

Aumuller G, Schuleze C , Vieblan C . intermédiaire Filaments in sertoli cells. *Microse Res Tech*, 1992; 20: 50-70.

Baelum J,Andersen IB, Lundqvist GR, Molhave L, Pedersen OF, Vaeth M, Wyon DP. Response of solvent-exposed printers and unexposed controls to six-hour toluene exposure. *Scand J Work Environ Health,* 1985;11:271-280.

Baelum J, Molhave L ,Honore Hansen S. Hepatic metabolism of toluene after gastrointestinal uptake in humans. *Scand J work Environ Health* ,1993; 19: 55-62.

Barlow SM, Sullivan FM. Reproductive hazards of industrial chemicals: An evaluation of animal and human data. *London: Academic Press*, 1982;1-42.

Benignus VA. Health effects of toluene: *A review. Neurotoxicology* ,1981 ;2:567-588.

Bergman, K Application and results of whole-body autoradiography in distribution studies of organic solvents. *CRC Crit. Rev. Toxicol*, 1983; 12(1), 59-118.

Biuret, N, Henry RJ, Cannon DC, Winklmen JW. Clinical chemistry, principals and techniques. *Harper and Row*. *2nd Ed.* 1974.

Blair A, Hartge P, Stewart PA, McAdams M, Lubin J. Mortality and cancer incidence of aircraft maintenance workers exposed to trichloroethylene and other organic solvents and chemicals: extended follow up. *Occup. Environ. Med*, 1998; 55 : 161-171

Bos RP, Brouns RME, Van Doorn R. Non-mutagenicity of toluene, *o*-, *m*- and *p*-xylene, o-methylbenzylalcohol and o-methylbenzylsulfate in the Ames assay. *Mutat. Re*, 1981;88 :273-279.

Bradford NM. A rapid and sensitive method for the quatitation of microgram. Quantites on proteins Utilising the Principe of protein–dye-binding. *Anal Biochem*,, 1976**;***72:248-254.*

Bray HG, Humphris BG , Thorpe WV. Metabolism of derivatives of toluene. 3. *o*-, *m*- and p-xylenes. *Biochem. J*, 1949; 45 : 241-244.

Brice K. A., Derwent R. G. Emission inventory for hydrocarbons in the United Kingdom. *Atmos Environ*,1978*;* **12**, 2045-2054.

Budavari S,O'Neil M J, Smith A,Heckelman P E, KinnearyJ F . The Merck Index. An Encyclopedia of chemicals Durgs and Biological . *Whitehouse Station, NJ Merck & Co*,1996; 1722-1723.

Burns LA, Bradley SG, White KL Jr, McCay JA, Fuchs BA, Stern M, Brown RD, Musgrove DL, Holsapple MP, Luster MI. Immunotoxicity of mono-nitrotoluenes in female B6C3F1 mice. I. Para-nitrotoluene. *Drug Chem Toxicol*, 1994;17:317-358.

Cai YZ, Xiao GB, Wang TY, Fu ZM . Effects of benzene, toluene, xylene on male sexual hormone. *Chin J Pub Health* ,1996;15, 198–9.

Calvin HI , Bedford J M. Formation of disulphide bonds in the nucleus and accessory structures of mammalian spermatozoa during maturation in the epididymis. *J Reprod Fertil Suppl*,1971;13 , 65-75.

Carlsson A. Exposure to toluene: uptake, distribution and elimination in man. *Scand J Work Environ Health* ,1982; 8:43-55.

Carpenter CP, Kinkead ER, Geary DL, Sullivan LJ, King JM. Petroleum hydrocarbon toxicity studies. V. Animal and human response to vapors of mixed xylenes. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1975;33**,** 3, 543-558.

Carpenter AV, Flanders WD, Frome EL, Tankersley WG, Fry SA. Chemical exposures and central nervous system cancers: a case-control study among workers at two nuclear facilities. *Am. J. Ind. Med,* 1988;13 : 351-362.

Condie LW, Hill JR, Borzelleca JF. Oral toxicology studies with xylene isomers and mixed xylenes. *Drug Chem. Toxicol*, 1988;1 : 329-354.

Costantini AS, Benvenuti A, VineisP, Kriebel D, Tumino R, Ramazzotti V, Rodella S, Stagnaro, E, Crosignani P, Amadori D, Mirabelli D, Sommani L, Belletti I, Troschel L, Romeo L, Miceli G, Tozzi GA, Mendico I, Maltoni St, Miligi L. Risk of leukemia and multiple myeloma associated with exposure to benzene and other organic solvents: evidence from the Italian multicenter case-control study. *Am. J. Ind. Med*, 2008; 51 : 803-811.

Da-Silva VA , Malheiros LR , Figueiredo LH , Sá-Rego MM , Paumgartten FJ. Neurobehavioral development of rats exposed to toluene through maternal milk. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research,* 1991; 24(12):1239-1243 .

Day BJ, DeNicola DB, Marcus CB, Carlson GP. Effect of *p*-xylene on the bioactivation of bromobenzene in rat lung and liver. *Fundam Appl Toxicol*,1992; 19:50-56.

DeMarini DM, Lawrence BK, Brooks, HG, Houk VS. Compatibility of organic solvents with the Microscreen prophage-induction assay: solvent–mutagen interactions. *Mutat. Res*, 1991; 263 : 107-113.

Desoille H, Scherrer J, Truihaut R. Solvants. Précis de médecine de travail. *6ème Edition, Paris MASSON*,1992 ; 946 – 951.

Donald JM, Hooper K , Hopenhayn-Rich C. Reproductive and developmental toxicity of toluene: a review. *Environ Health Perspect,* 1991; 94: 237–44.

Dumas S, Parent ME, Siemiatycki J, Brisson J. Rectal cancer and occupational risk factors: a hypothesis-generating, exposure-based case-control study. *Int. J. Cancer*, 2000 ;87 : 874-879.

Dutkiewicz T, Tyras H. Skin absorption of toluene, styrene and xylene by man *Br. J. Ind. Med*, 1968; 25 : 243.

Cheverria D, Fine L, Langolf G Schork, A, Sampaio C . Acute neurobehavioral effects of toluene. *Br J Ind Med*, 1989;46:483-495.

Elovaara E. Dose-related effects of m-xylene inhalation on the xenobiotic metabolism of the rat. *Xenobiotica*, 1982;12**(** 6): 345-352.

Elovaara E, Engström K, Häyri L, Hase T, Aitio A. Metabolism of antipyrine and *m*-xylene in rats after prolonged pretreatment with xylene alone or xylene with ethanol phenobarbital, or 3-methylcholanthrene. *Xenobiotica*, 1989; 19(9): 945-960.,

Engelke M, Tahti H, Vaalavirta L. Perturbation of artificial and biological membranes by organic compounds of aliphatic, alicyclic, and aromatic structure. *Toxicol In Vitro*, 1996; 10:111-115.

Engström K, Husman K, Riihimäki V. Percutaneous absorption of m-xylene in man. *Int Arch Occup Environ Health*, 1977.39**(** 3) 181-189.

Engstrom k, **Husman K, Pfäffli P, Riihimäki V.** Evaluation of occupational exposure to xylene by blood, *Scandinavia Journal of Work Environement and Health*, 1978;114-121.

Engström J, Bjurström R .Exposure to xylene and ethylbenzene. II. Concentration in subcutaneous adipose tissue. *Scand. J. Work Environ. Health*, 1978;4: 195-203.

Ernstgard L, Gullstrand E, Lof A, Johanson G. Are women more sensitive than men to 2-propanol and mxylene vapours. *Occup Environ Med* ,2002;59(1):759-767.

Evanthia DK, Jean-Pierre B, Linda C. G, Russ H, Gail S. Prins, Ana M. Soto, R. Thomas Z, Andrea CG. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev*, 2009; 30(4): 293–342

Filley CM, Heaton RK, Rosenberg NL. White matter dementia in chronic toluene abuse. *Neurology* ,1990 ;40:532-534.

Florin I, Rutberg L, Curvall M, Enzell CR. Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames' test. *Toxicology*, 1980; 15 : 219-232

Franchini I, Cavatorta A, Falzoi M, Falzoi M, Lucertini S, Mutti A. Early indicators of renal damage in workers exposed to organic solvents. *Int Arch Occup Environ Health*, 1983; 52:1-9.

Furnas DW, Hine CH. Neurotoxicity of some selected hydrocarbons. *Arch Ind Health* 1958; 18:9-15.

Gabe G. Techniques histologques et histochimique . *Masson-C,Paris,* 1968 ; P1113.

Gamberale F, Annwall G, Hultengren M. Exposure to xylene and ethylbenzene: III. Effects on central nervous functions. *Scand J Work Environ Health*, 1978;4:204-211.

Geller AM, Hudnell HK. Critical issues in the use and analysis of the Lanthony desaturate color vision test. *Neurotoxicol Terato,l* 1997;19:455-465.

Gerner-Smidt P, Friedrich U. The mutagenic effect of benzene, toluene and xylene studied by the SCE technique. *Mutat. Res*, 1978;58 : 313-316.

Gérin M, Siemiatycki J, Désy M, Krewski D. Associations between several sites of cancer and occupational exposure to benzene, toluene, xylene, and styrene: results of a case-control study in Montreal. *Am. J. Ind. Med*, 1998;34 : 144-156.

Gérin M, Bégin D. Manuel d'hygiène du travail - Du diagnostic à la maîtrise des facteurs de risque *Substitution*., 2004 ; 553-569.

Ghantous H, Danielsson BRG. Placental transfer and distribution of toluene, xylene and benzene and their metabolites during gestation in mice. *Biol. Res. Pregnancy Perinatol*, 1986;7 : 98-105

Gibson JE, Hardisty JF. Chronic toxicity and oncogenicity bioassay of inhaled toluene in Fischer-344 rats. *Fundam Appl Toxicol,* 1983 **;**3(4):315-9.

Goldberg MS, Parent ME, Siemiatycki J, Desy M, Nadon L, Richardson L, Lakhani R, Latreille B, Valois MF. A case-control study of the relationship between the risk of

colon cancer in men and exposures to occupational agents. *Am. J. Ind. Med*, 2001;39 : 531-546.

Goldie I. Can xylene (xylol) provoke convulsive seizures. *Ind Med Surg*, 1996; 29:33-35.

Gospe SM, Jr, Calaban M.J. Cen-tral nervous system distribution of inhaled toluene. *Fundam. Appl. Toxicol*, 1988; 11:540-545 .

Gospe SM, Jr, Zhou SS. Prenatal exposure to toluene results in abnormal neurogenesis and migration in rat somatosensory cortex. *Pediatr. Res*, 2000; 47 : 362-368.

Hake CL, Stewart R D, Wu A. p-xylene: Development of a biological standard for the industrial worker. National institute for Occupational Safety and Health, Cincinati, OH, by the Medical College of Wisconsin. *Milwaukee*, 1981; PB82-152844

Hancock EG. Toluene, the xylenes and their industrial derivatives. *Elsevier* , 1982; 551

Hard GC, Betz LJ, Seely JC. Association of advanced chronic progressive nephropathy (CPN) with renal tubule tumors and precursor hyperplasia in control F344 rats from two-year carcinogenicity studies. *Toxicol. Pathol*, 2012; 40(3) : 473-481**.**

Hipolito RN. Xylene poisoning in laboratory workers: Case reports and discussion. *Lab Med*, 1980; 11:593-595.

Horiguchi, S, Inoue K. Effects of toluene on the wheel-turning activity and peripheral blood findings in mice--An approach to the maximum allowable concentration of toluene. *J. Toxicol. Sci*, 1977; 2: 363-372.

Hormes JT, Filley CM, Rosenberg NL. Neurologic sequelae of chronic solvent vapor abuse. *Neurology* ,1986; 36:698-702.

Howell SR, Christian JE, Isom CE. The hepatotoxic potential of combined toluene-chronic ethanol exposure. *Arch. Toxicol.* 1986. 59:45-50.

Hsieh GC, Sharma RP, Parker RD. Immunotoxicological evaluation of toluene exposure via drinking water in mice. *Environ Res*, 1989; 49:93-103.

Hsieh GC, Sharma RP, Parker RDR. Hypothalamic–pituitary–adrenocortical axis activity and immune function after oral exposure to benzene and toluene. *Immunopharmacology*, 1991; 21 : 23-31.

Huang Y. Experimental diagnostic handbook of andrology. *2nd ed, Southeast University Publishing Company, Nangjing, China*, 1993; 63–122.

Hudák A, Ungváry G. Embryotoxic effects of benzene and its methyl derivatives: toluene, xylene . *Toxicology*, 1978; 11 : 55-63.

Hunnewell J,Miller NR. Bilateral internuclear ophthalmoplegia related to chronic toluene abuse. *J Neuroophthalmol*, 1998; 18:277-280.

Husmann DS, Mephaul MJ. Time specific androgen blockage with fluramide in hibits testicular deseent in the rat. Endocrinol, 1991; 129:1409-1416.

IARC (International agency for research on cancer**).** monographs on the evolution of the carcinogenic risk of chemicals to humans Lyon. 1989; 47: 125-156.

IARC (International Agency for Research on Cancer**)**. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. Lyon, France,1999;71: 829-864

INERIS. Toluène. Fiche de donne es toxicologiques et environnementales des substances chimique. Verneuil en Halatte, 2005 ;50 .

INERIS. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, o-, m-, p-Xylènes et leurs mélanges, 2006.

INRS (institut national de recherche scientifique) .toluène fiche toxicologique N°74.2001

INRS (Institut national de la recherche scientifique).Toluène : fiche toxicologique. Québec, 2008 ; p. 1-10.

INRS. Les solvants. fiche toxicologique. Québec, 2009

INRS. xylène fiche Déméter (Document pour l'évaluation médicale des produit toxique vis-à-vis de la reproduction .*N°DEM007 Québec*, 2010 ; *p. 1-6*

INRS. toluene fiche Déméter (Document pour l'évaluation médicale des produit toxique vis-àvis de la reproduction .*N°DEM007 Québec*, 2016

IPCS (International Programme on Chemical Safety) Environmental Health Cri-teria 52. Toluene. Geneva: *World Health Or- ganization*,1985; 146p.

IPCS (International Programme on Chemical Safety). Toluene. *Environmental Health Criteria WHO: Geneva* ,1996;52.

Ishigami A, Tokunaga I, Kubo SI, Gotohda T. Immunohistochemical study of rat spermatogenesis after toluene-inhalation. *Legal Medicine*, 2005;7:42

Jeyendran RS, vander ven HH, perez- pelaz M, Gabob G, Zameveld LJD.. Development of an assay assess the functional integrity of human sperm membrane and its relation shipto the other semen characteristics. *J. hep. Fert*, 1984; 70: 219-228**.**

Joëlle C-T, Yves C, Florian G, Frédérique C, Olivier K. la recherche sur la reproduction animale et humaine .*GDR 3606 repro* . 2015 ; 4, 26.

JOCE. "Commission Directive 98/98 EC, 25th time Council directive 67/548EEC." *Official Journal of the European Communities. Brussels Belgium*, 1998

JOCE. Commission directive 2004/73/EC, 29th time council directive 67/548 EEC. *Official journal of European Communities*, 2004.

Jones R, Mann T. Lipid peroxidation in spermatozoa. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1973; 31;184(1074):103-7.

Jovanovic JM, Jovanovic MM, Spasic MJ, **Lukić SR**. Peripheral nerve conduction study in workers exposed to a mixture of organic solvents in paint and lacquer industry. *Croat Med J*, 2004; 45(6):769-774.

Kamijima M, Nakazawa Y, Yamakawa M, Shibata E, Hisanaga N, Ono Y, Toida M, Takeuchi Y. Metabolic acidosis and renal tubular injury due to pure toluene inhalation. *Arch. Environ. Health*, 1994 ;49 : 410-413.

Kamijo Y, Soma K, Hasegawa I, Ohwada T. Fatal bilateral adrenal hemorrhage following acute toluene poisoning: a case report. *J. Toxicol. Clin. Toxicol*, 1998; 36 : 365-368.

Kaplan LA. Glucose. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company, 1984a ; 1032- 1036.

Kaplan LA. Urea. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company , 1984b ; 1257-60.

KIRK-Othmer Encyclopaedia of chemical technology. *sonochemistry*. 1997*; 24: 350-389.*

Klaucke DN, Johansen M, Vogt RL. An outbreak of xylene intoxication in a hospital. Am J Ind Med. 1982; 3:173-8.

Korsak Z, Wisniewska-Knypl J, Swiercz R. Toxic effects of subchronic combined exposure to butyl alcohol and m-xylene in rats. *Int J Occup Med Environ Health*, 1994;7(2):155-166.

Kotoku S, Takahashi S, Suenaga K. Effects of ethanol on plasma free fatty acid in rabbits. *Jpn. J. Stud. Alcohol,* 1977; 12:80-90.

Kumarathasan P, Oyson R, Chu I. Application of an automated HS-GC method in partition coefficient determination for xylenes and ethylbenzene in rat tissues. *Chemosphere*, 1998; 37(1) : 159-178.

Kyrklund T, Kjellstrand P, Haglid K. Brain lipid changes in rats exposed to xyelene and toluene. *Toxicology* ,1987;45:123-133.

Lauwerys RR . Toxicologie industrie et intoxications professionnelle,2^{Ed} *Masson Paris*, 1982 ; 188-192

Lauwerys RR. Toxicologie industrie et intoxications professionnelle, *2Ed Masson Paris*, 1999 ; 188-192.

Leblanc H , Lachelin G , Abu .Fadil S , Yen S. Effects of dopamine infusion on pituitary hormone secretion in humans. *J chin Endocrinol Metab*, 1976; 43: 668.

Lehman EJ, Hein MJ. Mortality of workers employed in shoe manufacturing: an update. *Am. J. Ind. Med,* 2006; 49 : 535-546.

Lewis RJ, Jr. Hawley's Condensed Chemical Dictionary, *12th Ed., Van Nostrand Reinhold New York*, 1993; 1235

Lieber CS, John D P, Mendelson J, Decarli LM. Fatty liver, hyperlipemia and hyperuricemia produced by prolonged alcohol consumption, despite adequate dietary intake. *Trans. Assoc. Am. Physicians*, 1963;76:289-300.

Lide D. Handbook of chemistry and physics: Toluene. *Boca Raton, CRC Press*, 1998;78thEd.

Litwack G. Biochemistry of hormones: steroid hormones, text book of biochemistry with clinical correlation. *Ed. Wiley & Sons*,1992**;** 901-925.

Löf A, Wigaeus Hjelm E, Colmsjö A, Lundmark BO, Norström A, Sato A. Toxicokinetics of toluene and urinary excretion of hippuric acid after human exposure to 2H8-toluene. *Br. J. Ind. Med*, 1993; 50 : 55-59.

Lord A, Guide des épreuves diagnostiques . *décarie Maloine pars*, 1993 **;**1,528

Low LK, Meeks JR. & Mackerer CR . Health effects of the alkylbenzenes. II. Xylenes. *Toxicol. ind. Health*, 1989;5, 85–105.

Lowengart RA, Peters JM, Cicioni C, Buckley J, Bernstein L, Martin SP, Edward R. Childhood leukemia and parents occupational and home exposures. *J Nat Cancer Inst*, 1987; 79:39-46.

Lundberg I, Hogstedt C, Linden C, Nise G . Organic solvents and related compounds. In: Rosenstock L, Cullen M (eds) Textbook of clinical occupational and environmental medicine, 2nd *edn. Elsevier-Saunders Press, Philadelphia*,2005;991

Luster MI, Portier C, Pait DG, White KL Jr, Gennings C, Munson AE, Rosenthal GJ. Risk assessment in immunotoxicology I. Sensitivity and predictability of immune tests. *Fundam Appl Toxicol*, 1992; 18(2):200-10

Mahieu JC , Boust C. Dégraissage des métaux. Choix des techniques et des produits, *Fiche pratique de sécurité. Ed*, 2007 ; *48*. 4.

Maltoni C, Ciliberti A, Pinto C, Soffritti M, Belpoggi F, Menarini L. Results of long-term experimental carcinogenicity studies of the effects of gasoline, correlated fuels, and major gasoline aromatics on rats. *Ann N. Y Acad Sci*, 1997;837 : 15-52.

Marks, T.A., Ledoux, T.A, Moore, J.A. Teratogenicity of a commercial xylene mixture in the mouse. *J. Toxicol. Environ. Health*, 1982;9 : 97-106.

Martoja R, Martoja PM. Initiation aux techniques de l'histologie animale. *Edition Masson Paris*, 1967 ;345.

Mattia CJ , Ali SF , Bondy SC. Toluene – induced oxidative stress in several Brain regions and other organs – Mol. *Chem. Neurophathol*.,1993;18: 13-328.

Miligi L, Costantini AS, Benvenuti A, Kriebel D, Bolejack V, Tumino R, Ramazzotti V, Rodella S, Stagnaro E, Crosignani P, Amadori D, Mirabelli D, Sommani L, Belletti I, Troschel, L, Romeo L, Miceli G, Tozzi GA, Mendico I, Vineis, P. Occupational exposure to solvents and the risk of lymphomas. *Epidemiology*, 2006; 17: 552-561.

Mirkova E. et al prenatal toxicity of xylene. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology*, 2003;415-429

Morley R, Eccleston DW, Douglas CP. Xylene poisoning: A report on one fatal case and two cases of recovery after prolonged unconsciousness. *Br Med J* ,1970; 3:442-443.

Morvai V, Ungvary G, Herrmann HJ, Kühne C. Effects of quantitative undernourishment, ethanol and xylene on coronary microvessels of rats. *Acta Morphol Hung*, 1987; NON 78. 35:199-206.

Mullfy KE , Vaziam SJ, Cameron DF. Effect of follicles stmulaning hormone on the junction related sertoli cell cytoskeleton and dialy sperm production in testosterone treated hypophysectomised rats. *Biol .Reprod*, 1994; 51: 158-166.

Murata M, Tsujikawa M, Kawanishi S. Oxidative DNA damage by minor metabolites of toluene may lead to carcinogenesis and reproductive dysfunction. *Biochem. Biophys. Res. Commu,* 1999; 261**:** 478-483.

Murray RL. Creatinine. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation . St Louis. Toronto. Princeton : The C.V. Mosby Company, 1984 ; 1261-6.

Narvaez J, Song CD. Letter to the editor. Cancer 22(5):495(NHANES) participants. Int. J. Occup. *Environ. Health*, 2003; 15 : 385-391

Neghab M, Hosseinzadeh K, Hassanzadeh J. Early Liver and Kidney Dysfunction Associated with Occupational Exposure to Sub-Threshold Limit Value Levels of Benzene, Toluene, and Xylenes in Unleaded Petrol. Safety and Health at Work ,2015; 6 – 312,316

Niaz K, Bahadar H, Maqbool F, Abdollahi M. a review of environmental and occupational exposure to xylene and its health concerns. *EXCLI Journal*, 2015;14:1167-1186

Norström A, Andersson B, Levin JO, Näslund P, Wallèn M, Löf A. Biological monitoring of *o*xylene after experimental exposure in man: determination of urinary excretion products. *Chemosphere*, 1989; 18 : 1513- 1523

NPIS. National Poisons Information Service Toluene. *TOXBASE*®.,2010.

NTP. National Toxicology Program technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of xylenes (mixed) (60% *m*-xylene, 14% *p*-xylene, 9% *o*-xylene, and 17% ethylbenzene) (CAS No. 133020-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies), Public Health Service, *National. NTP TR 327. NIH Publication* , 1986; .87-2583.

NTP. Toxicology and carcinogenesis studies of toluene (CAS No. 108-88-3) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). National Institutes of Health, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Research Triangle Park, North Carolina *National Toxicology Program Technical Report Series*,1990 ;. 371.

NTP. Chemical Health and Safety Data. Online. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, *Research Triangle Park, NC*,2001**.**

Ng TP, Ong SG, Lama, WK, Jones MG, Cheung CK, Ong CN . Urinary levels of proteins and metabolites in workers exposed to toluene. *Int Arch Occup Environ Health*, 1990; 62 : 43-46.

Nylen P, Ebendal T, Eriksdotter-Nilsson M. Testicular atrophy and loss of nerve growth factor-immunoreactive germ cell line in rats exposed to n-hexane and a protective effect of simultaneous exposure to toluene or xylene. *Arch Toxicol* ,1989;63: 296-307.

Ogata M, Yamasaki Y, MeguroT, Sugihara R , Shimada Y. Quantitation of urinary *o*-xylene metabolites in rats and human beings by high-performance liquid chromatography. Ind. Health, 1979; 17 : 123-125.

Ogata M, Yamazaki Y, Sugihara R, Shimada Y, Meguro T. Quantitation of urinary *o*-xylene metabolites of rats and human beings by high performance liquid chromatography. *Int Arch Occup Environ Health*, 1980; 46, 2, 127-139.

Olsson H, Brandt L. Occupational exposure to organic solvents and Hodgkin's disease in man. A casereferentstudy. *Scand. J. Work Environ. Health*,1980; 6 : 302-305.

OMS. (Organisation mondiale de la santé). Toluene toxicity Genève, 1985.

OMS. Manuel de laboratoire de l'OMS analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec les mucus cervical INSERM, 1993.

OMS (Organisation mondiale de la santé). Xylenes in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinkingwater Quality., Genève, 2003; 10.

Ono A K, Sekita K, Ogawa Y ,Hirose A. Reproductive and developmental toxicity studies of toluene: II. Effects of inhalation exposure on fertilein rats .*j Environ patholtoxicol oncol* . 1996; 15 (1): 9- 20

Ono A , Kawashima K , Sekita K , Hirose A , Ogawa Y , Soto M , Noito K , Yasuhara K et al. Toluene inhalation induced epididmal Sperm dysfunction in rats. *Toxicology*, 1999;. 193-205

Padilla SS, Lyerly DP.. Effects of *p*-xylene inhalation on axonal transport in the rat retinal ganglion cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1989; 101:390-398.

Patel JM, Harper C, Drew RT. The biotransformation of *p*-xylene to a toxic aldehyde. *Drug Metab Dispos* , 1978; 6:368-374.

Patel R, Benjamin J Jr. Renal disease associated with toluene inhalation. *Clin. Toxicol*, 1986; 24:213-233.

Paterson SC, Sarvesvaran R. Plastic bag death: a toluene fatality. *Med. Sci. Law*, 1983; 23: 64-66.

Pellizzari ED, Hartwell T.D, Harris BS, Waddell RD, Whitaker DA, Erickson MD. Purgeable organic compounds in mother's milk. Bull. Environ. *Contam. Toxicol*, 1982; 28 : 322-328.

Pellizzari, ED, Wallace LA, Gordon SM. Elimination kinetics of volatile organics in humans using breath measurements. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol*, 1992 ; 2 : 341-355.

Perrin R, Scharff JP. Chimie industrielle . *Dunod,* 1999.

Pitarque M, Vaglenov A, Nosko M, Pavlova S, Petkova V, Hirvonen A, Creus A, Norppa H, Marcos R. Sister chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of shoe factory workers exposed to solvents. *Environ Health Perspect*,2002; 110(4): 399-404.

Plenge-Bönig A, Karmaus W. Exposure to toluene in the printing industry is associated with subfecundity in women but not in men. *Occup Environ Med*, 1999 ou 1991; 56:443-448

Poon, R, Chu I, bjamason S. Inhalation toxicity study of methanol, toluene, and methanol/toluene mixtures in rats: effects of 28-day exposure. *Toxicology and Industrial Health*, 1994; 10(3): 231-45.

Proust B, Mihout B, Caillard IF. Troubles neurologiques et psychiatriques induits par les solvants. *Encycl. Méd. Chir., intoxications-pathologie du travail*, 1989 ; 165364 :410, 10.

Pryor GT, Rebert CS, Howd RA. Hearing loss in rats caused by inhalation of mixed xylene and styrene. *J Appl Toxicol*, 1987 ; 7:55-61.

Pyykkö K, Tähti, H, Vapaatalo, H. Toluene concentrations in various tissues of rats after inhalation and oral administration. *Arch. Toxicol*, 1977 ; 38 : 169-176.

Rea TM, Nash JF, Zabik JE. Effects of toluene inhalation on brain biogenic amines in the rat. *Toxicology*, 1984; 31 : 143-150.

Reutman SR, LeMasters GK, Knecht EA, Shukla R, Lockey JE, Burroughs GE, Kesner JS. Evidence of reproductive endocrine effects in women with occupational fuel and solvent exposures. *Environ Health Perspect*, 2002;110:805-11.

Richer CL, Chakrabarti L, Senecal-Quevillon M, Duhr LA, Zhang XX, Tardif T. Cytogenetic effects of low-level exposure to toluene, xylene, and their mixture on human blood lymphocytes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1993; 64 : 581-585.

Roberts FP, Lucas EG, Marsden CD, Trauer T. Near-pure xylene causing reversible neuropsychiatric disturbance .*Lanc et* , 1988; 2(8605):273.

Robert LG, Barter RA, Bui QQ, Cagan S, Koschier FG , Schreinere CA. Developmental toxicity and reproductive toxicity evaluation of toluene vapor in the rat. *reprod toxicity*, 2003 ;17(6):649-58.

Ron MA. Volatile substance abuse: a review of possible long term neurological, intellectual and psychiatric squeal. *Br J Psychiatry*, 1986; 148:235-246.

Rosenberg NL, Kleinschmidt-Demasters BK, Davis KA, Dreisbach JN, Hormes JT, Filley CM. Toluene abuse causes diffuse central nervous system white matter changes. *Ann Neurol*, 1988a ; 23:611-614.

Rosenberg NL, Spitz MC, Filley CM, Davis KA, Schaumburg HH. Central nervous system effects of chronic toluene abuse-clinical, brainstem evoked response and magnetic resonance imaging studies. *Neurotoxicol Teratol*, 1988b; 10:489-495

Rubinstein L, Sawyer CH. Role of catecholamines in stimulating the release of pituitary ovulatoly hormone(s) in the rat. *Endocrinology*, 1970; 86:988-995.

Russell LD, Malon JP, Megurdy DS. Effect of the microtubule disrupting ogerts. Colchiane and vinblastine. On semini ferrous tubule structure in the rat. *Tissne and cell*. 1981;13: 349-367.

Sallmén M, Neto M, Mayan ON. Reduced fertility among shoe manufacturing workers. *Occup Environ Med*, 2008; 65 : 518-524.

Sandmeyer EE. Aromatic hydrocarbons. In: Clayton GD, Clayton FE, eds. Patty's industrial hygiene and toxicology , *John Wiley & Sons*, 1981; 2:3253-3431.

Sara M, Igarashi S, Miyazaki T, Nakano S, Matsuoka I. Equilibrium disorders with diffuse brain atrophy in long term toluene sniffing. *Arch Otorhinolaryngol*,1978; 221:162-169.

Savolainen MJ, Jauhonen, V P, Hassinen IE. Effects of clofibrate on ethanol induced modification in liver and adipose tissue metabolism: Role of hepatic redox state and hormonal mechanism. *Biochem. Pharmacol,* 1977; 26:425-431.

Savolainen H, Vainio H, Helojoki M, Elovaara E. Biochemical and toxicological effects of short-term, intermittent xylene inhalation exposure and combined ethanol intake. *Arch Toxicol,* 1978; 41:195-205.

Sax-NTax N, Lewis RJ. Dangerous properties of industrial materials, *6e ED Van Nostrand Reinhold New York CO,* 1989; 2739-2749.

Schardein J . Hormones and hormone antagonists. *In chemically Induced birth Defects 2nd chap Dekker. Newyork,* 1993; 9: 241-339.

Sedivec V, Flek J. Exposure test for xylenes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health,* 1976; 37 : 219-232.

Seidenberg JM, Anderson DG, Becker RA. Validation of an *in vivo* developmental toxicity screen in the mouse. *Teratog. Carcinog. Mutag,* 1986; 6 : 361-374.

Seppalainen AM, Laine A, Salmi T, Riihimäki V, Verkkala E. Changes induced by short-term xylene exposure in human evoked potentials. *Int Arch Environ Health* ,1989; 61:443-449.

Sies H, Brigelius R, Akarboom TPM. Intrahepatic glutathione status. In: Larsson A (coordinateur). Functions of glutathione: biochemical, physiological, toxicological and chemical aspects. *New York: Raven Press*, 1983; 51-65.

Shimizu H, Suzuki Y, Takemura N. The results of microbial mutation test for forty-three industrial chemicals. *Jpn. J. Ind. Health,* 1985; 27 : 400-419.

Smith BR, Plummer JL, Wolf CR, Philpot RM, Bend JR. *p*-Xylene metabolism by rabbit lung and liver and its relationship to the selective destruction of pulmonary cytochrome P-450. *J Pharmacol Exp Ther*, 1982; 223:736 -742.

Stumph MJ, Weir FW, Noall MW. Comparison of blood and brain toluene concentrations and circulating triglyceride levels resulting from acute and repeated exposures in rats. *Am Ind Hyg Assoc J,*1985 ; 46(5):244-50.

Sugihara R, Ogata M. Quantitation of urinary m- and p-methylhippuric acids as indices of m- and p-xylene exposure. *Int Arch Occup Environ Health,* 1978; 41, 281-286.

Sullivan MJ. Ototoxicity of toluene in rats. *Diss. Abstr. Int,* 1986; 47:1017-B.

Suzuki T, Kashimura S, Umetsu K. Thinner abuse and aspermia. *Med Sci Law,* 1983; 23:199-202.

Svensson BG, Nise G, Englander V, Attewell R, SkerfvingS, Moller T.Deaths and tumours among rotogravure printers exposed to toluene. *Br. J. Ind. Med,* 1990 ; 47 : 372-379.

Svensson BG, Nise G ,Erfurth EM, Nilsson A, Skerfving S.Hormone status in occupational exposure. *An. J. Ind. Med,*1992**a**; ***22****:99-107.*

Svensson BG, Nise G, Erfurth EM, Olsson H. Neuroendocrine effects in printing workers exposed to toluene. *Br. J.Ind. Med,* 1992**b**; ***49****: 402-408.*

Takahashi SI, Koichi T , Chikatoshi M , Hiroshi S, Yuko F. Increased plasma free fatty acid and triglyceride levels after single administration of toluene in rabbits, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1988; 25:1, 87-95

Tap Ö, Solmaz S, Polat S, Mete UÖ, Özbilgin MK, Kaya M. The effect of toluene on the rat ovary: an ultrastructural study. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol,* 1996; 28 : 553-558.

Tas U, Ogeturk M, Meydan S, Kus I, Kuloglu T, Ilhan N, Kose E, Sarsilmaz M. Hepatotoxic activity of toluene inhalation and protective role of melatonin Toxicol Ind Health, 2011; 27(5):465-73

Taskinen H , Anthila A , Lindhabon ML, Sallmén M, Hemminki K. Spontaneous abortions and congenital malformations among the wives of men occupationally exposed the organic solvents. *Scand J work Environ Health,* 1989; 15:345-352.

Taskinen H, Kyyronen P, Hemminki K, Hoikkala M, Lajunen K, Lindbohm ML. Laboratory work and pregnancy outcome. *J. Occup. Med,* 1994; 36 : 311-319.

Tatrai E, Ungváry G. Changes induced by o-xylene inhalations in the rat liver. *Acta Med Acad Sci Hung*,1979; 37:211-6.

Till C, Koren G, Rovet JF. Prenatal exposure to organic solvents and child neurobehavioral performance. *Neurotoxicol Teratol*, 2001; 23(3): 235-2

Triebig G, Barocka A, Erbguth F, Erbguth F, Höll R, Lang C, Lehrl S, Rechlin T, Weidenhammer W, Weltle D. Neurotoxicity of solvent mixtures in spray painters. II. Neurologic, psychological, and neuroradiologic findings. *Int Arch Occup Environ Health*, 1992a; 64:361-372.

Triebig G, Schaller KH, Weltle D. Neurotoxicity of solvent mixtures in spray painters. I. Study, design, workplace exposure, and questionnaire. *Int Arch Occup Environ Health*, 1992b; 64(5):353-359.

Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Ann Clin Biochem*, 1969; 6: 24-7.

Turkall RM, Skowronski GA, Kadry AR, Abdel-Rahman MS. Sex differences in the bioavailability of soil-adsorbed *meta*-xylene in orally exposed rats. *Toxicol. Lett*, 1992**;** 63 : 57-67.

Uchida Y, Nakatsuka H, Ukai H, Watanabe T, Liu YT, Huang MY, Wang YL, Zhu FZ, Yin H, Ikeda, M. Symptoms and signs in workers exposed predominantly to xylenes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1993; 64 : 597-605.

Ungvary G, Cseh J, Manyai S, Molnar A, Szeberenyi S, Tatrai E. Enzyme induction by o-xylene inhalation. *Acta Med Acad Sci Hung*, 1980; 37**,** 1: 115-120.

Ungvárg G, Tátrai E, Szeberéngi S, Rodics K, Lorincz M, Barcza G. Effect of toluene exposure on the liver under different experimental conditions. *Exp. Mol. Pathol*, 1982; 36:347-360.

Ungváry G. The possible contribution of industrial chemicals (organic solvents) to the incidence of congenital defects caused by teratogenic drugs and consumer goods– an experimental study. *Prog. Clin. Biol. Res*, 1985; 163 B, 295-300.

Ungváry G. Solvent effects on reproduction: experimental toxicity. *Prog. Clin. Biol. Res*, 1986; 220 : 169-177.

Ungváry G. The effect of xylene exposure on the liver. *Acta Morphol Hung*, 1989;38:245-58.

USEPA (U.S. Environmental Protection Agency).Research and Development. Drinking Water Criteria Document for Toluene. Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office. USEPA N^{o}. ECAO-CIN-408. Cincin-nati, OH: USEPA. 1987.

Van Doorn R, Bos RP, Brouns RM, Leijdekkers CM, Henderson PT. Effect of toluene and xylenes on liver glutathione and their urinary excretion as mercapturic acids in the rat. *Arch. Toxicol*, 1980; 43(4) : 293-304.

Vanitha Kumari G , Govindarahulu P. Semin al plasma enzymes in relation to fertility in human males. *J Reprod Biol Comp Endocrinal*, 1991; 1 , 127.

Verschueren K. Handbook of environmental data on organic chemicals. *3rd ed. Toronto : Van Nostrand Reinhold,*, 1996.

Vignes JL, André G, Kapala F. Données industrielles, économiques, géographiques sur les principaux produits chimiques, métaux et matériaux, benzène toluène xylène, *Société française de chimie, 7ème édition,* 1998 ; 1996-2005

Von Burg R. Toxicology update: toluene. *J Appl Toxicol*, 1993; 13(6): 441–6.8.

Wang F , Liu F , Liu H , Chen, Si X , Ma X Effects of immunological and hematological parameter in mice exposed to mixture of volatile organic compounds *Inhal Toxicol.* 2016; 28(4):164-9**.**

Weckbeker G, Cory JC. Ribonuleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse Leukemia L 1210 cells in vitro. *Cancer. Letter,* 1988; 40**:** 257-264.

Wen, CP, Tsai SP, Weiss NS. Long-term mortality study of oil refinery workers. IV. Exposure to the lubricating-dewaxing process. *J. Natl. Cancer Inst,* 1985;74 : 11-18.

Wolf GW. Subchronic toxicity study in rats with *m*-xylene. Rapport préparé par Hazleton Laboratories America, Inc. Commandité par Dynamac Corporation, Rockville, Maryland (Projet no 2399-108). Cité dans : ATSDR(2007). 1988

Wrońska NT, Rosin J, Bartosz G. Interaction of ethanol and xylene in their effects on erythrocytes and other haematological parameters in the rat. *J Appl Toxicol*, 1991; 11:289-92.

Xiao GB, Pan CB, Cai YZ, Lin H, Fu ZM. Effect of benzene, toluene, xylene on the semen quality and the function of accessory gonad of exposed workers. *Ind Health*,2001;39:206-10.

Xu X, Freeman NC, Dailey AB, Ilacqua VA, Kearney GD, Talbott EO. Association between exposure to alkylbenzenes and cardiovascular disease among National Health and Nutrition Examination Survey(,NHANES) participants. *Int J Occup Environ Health.* 2009; 15(4):385-91.

Yamada K. Influence of lacquer thinner and some organic solvents on reproductive and accessory reproductive organs in the male rat. *Biol Pharm Bull*, 1993; 16, 425–7

Young D , Pestaner L. Test enzymatique colorimétrique. *Clin. Chem*, 1975;21-25.

Young J, De Lai L. Population declines of predatory birds coincident with the introduction of Klerat Rodenticide in North Queensland. *Australian Bird Watcher*, 1997; 17 : 160-7.