



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

دراسة إمكانية السمية العصبية للكبريت في الفئران

فراس صلاح حسن الطائي

رسالة ماجستير
الطب البيطري / الأدوية والسموم البيطرية

بإشراف
الأستاذ الدكتورة
بنان خالد عبد الرحمن البكوع

دراسة الإمكانية السمية العصبية للكبريت في الفئران

رسالة تقدّم بها

فراس صلاح حسن الطائي

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

في إختصاص الطب البيطري / الأدوية والسموم البيطرية

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

بإشراف

الأستاذ الدكتورة

بنان خالد عبد الرحمن البكوع

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

قَدْ قَمَّ كَجْ كَ كَذَا كَمَا كَلَّمَ لِحَلِّ لِهَجَّ مَجَّ مَجَّ نَجَّ نَجَّ نَهَجَّ هَجَّ هَمَّ
هَجَّ يَجَّ يَجَّ يَهْتَمُّ بِهْتَمُّ

سورة لقمان

الاياتان: ٢٧-٢٨

إقرار المشرف

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة "دراسة الإمكانية السمية العصبية للكبريت في الفئران" جرى بإشرافي في جامعة الموصل/كلية الطب البيطري، وهي جزء من متطلبات شهادة الماجستير في اختصاص الطب البيطري / الأدوية والسموم البيطرية.

التوقيع :

المشرف: أ.د. بنان خالد عبد الرحمن

التاريخ : / / ٢٠٢٢

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة "دراسة الإمكانية السمية العصبية للكبريت في الفئران" قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

المقوم اللغوي: أ.م. د. عمار إسماعيل أحمد

التاريخ : / / ٢٠٢٢

إقرار رئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والأدوية

بناءً على توصيتي المشرف والمقوم اللغوي، أشرح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم : أ.د. نشأت غالب مصطفى

التاريخ : / / ٢٠٢٢

توصيات إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والأدوية، أشرح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم : أ.د. رعد عبد الغني السنجري

التاريخ : / / ٢٠٢٢

قرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة قد اطلعنا على هذه الرسالة
وناقشنا الطالب فراس صلاح حسن في محتوياتها وفي ماله علاقة بها / ٢٠٢٢/ وأنها جديرة
بنيل شهادة الماجستير في اختصاص الأدوية والسموم البيطرية.

التوقيع
أ.م.د احمد صلاح ناصر
عضو لجنة المناقشة

التوقيع
أ.م.د منى حازم أبراهيم
عضو لجنة المناقشة

التوقيع
أ.د بنان خالد عبد الرحمن
عضو لجنة المناقشة (المشرفة)

التوقيع
أ.د قاسم سكران عباس
رئيس لجنة المناقشة

قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية الطب البيطري بجلسته
المنعقدة في / ٢٠٢٢/ وقرر
منحه شهادة الماجستير في الأدوية والسموم البيطرية وبتقدير

عميد الكلية
أ.د. ظافر محمد عزيز

مقرر مجلس الكلية
أ.د. رعد عبدالغني السنجري

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على خير المرسلين سيدنا محمد وعلى آله وصحبه الطيبين الطاهرين .. الحمد لله الذي تتم بنعمته الصالحات الواسع برحمته الكريم بعطائه الذي منّ عليّ بإتمام هذه الدراسة فالحمد والشكر لك على كرمك ونعمك .

يشرفني أن أتقدم بالشكر الجزيل لمشرفتي في هذه الدراسة الأستاذة الدكتورة بنان خالد عبد الرحمن البكوع لما أبدته لي من نصائح سديدة ولما بذلته معي من جهد ووقت وكأنت حاضرة في كل مشكلة اعترضتني كبيرة كأنت أم صغيرة بسعة صدر وبكل تواضع، فلها خالص الشكر والثناء وجزاها الله عني كل خير . كما يسرني أن اشكر عمادة كلية الطب البيطري ممثلة بالسيد عميد الكلية ومعاون العميد للشؤون العلمية والسيد رئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والأدوية .

وأتقدم بالشكر لأساتذتي لما قدموه لي من تسهيلات في مختبرات الفرع لإكمال الجزء العملي، والشكر الجزيل للقائمين على بيت الحيوان وعلى رأسهم مسؤول بيت الحيوان ومختبر التلقيح الصناعي لما قدموه لي من عون في تربية الحيوانات وذلّوا أمامي الصعاب كلها التي اعترضتني لإنجاز الجزء العملي .

كما لا يسعني إلا أن اتقدم بوافر الشكر والعرفان

كما أشكر أساتذتي الأفاضل في كلية الطب البيطري وأخص منهم أساتذتي وزملائي من منتسبي فرع الفلسفة الكيمياء الحياتية والأدوية والشكر الكبير لعائلتي لما قدموه لي من دعم وتشجيع لإكمال دراستي ولكل من ساندني ولو بدعوة صادقة بظهر الغيب .

الباحث

الخلاصة

أن هدف الدراسة الحالية هو معرفة الإمكانية السمية للكبريت في الفئران في أثناء دراسة التأثيرات السمية السلوكية العصبية فضلاً عن التأثيرات الكيمياء حيوية التي يحدثها الكبريت.

تم تحديد الجرعة المميئة الوسطية للكبريت في الفئران بالاعتماد على طريقة الصعود والنزول، إذ بلغت الجرعة المميئة الوسطية للكبريت ٢٢, ٣٣ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم ، في حين كانت الجرعة المميئة التقريبية للكبريت ٣٦ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم والتي أدت إلى موت الفئران في أثناء ٢٤ ساعة ، أدى إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ ساعات انخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة من قبل الفئران بكلتا الجرعتين على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة ، كما أنخفض معنوياً عدد المربعات المقطوعة داخل الميدان المفتوح بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم على التوالي بعد ٢٤ ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة وعند مقارنة نتائج النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة كأن هناك ارتفاع معنوي في عدد المربعات المقطوعة من قبل الفئران بجرعة ٨ غم /كغم على التوالي في أثناء الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة ، كما احدث الكبريت بجرعة ٨ غم /كغم زيادة معنوية في عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية. أظهرت نتائج اختبار الإنتحاء الأرضي السالب أن إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم سبب انخفاضاً معنوياً في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار بعد ٤ ساعات على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة في حين كانت هناك زيادة معنوية في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار من قبل الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ٨ غم /كغم بعد ٢٤ ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة ، أما في اختبار عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب أظهرت الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ٨ غم/كغم انخفاضاً معنوياً بعد ٢٤ ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة . سببت جرعة ٤ غم/كغم بعد ٤ ساعات من المعاملة انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوكوز في الدم مقارنة بمجموعة السيطرة في حين سببت الجرعتان ٤ و ٨ غم/كغم زيادة معنوية في مستوى كلوكوز الدم على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة بعد ٢٤ ساعة من المعاملة . احدث الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم انخفاضاً معنوياً في فعالية أنزيم ALT بعد ٤ ساعات على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة ، كما سببت جرعتا الكبريت ٤ و ٨ غم /كغم انخفاضاً معنوياً في نشاط أنزيم ALT بعد ٢٤ ساعة على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة . من جهة أخرى أدى إعطاء الكبريت بجرعتيه ٤ و ٨ غم/كغم إلى انخفاض في فعالية أنزيم AST مقارنة بمجموعة السيطرة بعد ٤

ساعات من المعاملة ، وحدثت جرعة ٨ غم/كغم انخفاضاً معنوياً في نشاط الأنزيم مقارنة بمجموعة السيطرة وعند مقارنة تأثير الكبريت في فعالية أنزيم AST بين الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة من معاملة الفئران لوحظ وجود زيادة معنوية في نشاط الأنزيم بجرعة ٨ غم /كغم مقارنة بفعالية الأنزيم بعد ٢٤ ساعة من المعاملة.

بعد ٧ أيام من تجريع الفئران أحدثت جرعة الكبريت ١ غم/كغم انخفاضاً في عدد المربعات المقطوعة بالمقارنة بمجموعة السيطرة ، وبعد ١٤ يوماً من معاملة الفئران سببت جرعة الكبريت ١ و ٢ غم/كغم انخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة من قبل الفئران على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة وعند مقارنة نتائج هذا النشاط الحركي ما بين اليوم ٧ واليوم ١٤ من المعاملة سببت الجرعة ١ و ٢ غم/كغم انخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة على التوالي بعد ٧ أيام مقارنة بعدد المربعات المقطوعة بعد ١٤ يوماً من المعاملة اما نتائج اختبار عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة أحدثت الكبريت انخفاضاً معنوياً مقارنة بمجموعة السيطرة وعند إجراء اختبار الإنتحاء الأرضي السالب أدى إعطاء الكبريت بالجرعتين ١ و ٢ غم /كغم إلى زيادة في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار مقارنة بمجموعة السيطرة بعد ٧ أيام من المعاملة. وعند إجراء اختبار عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب أحدثت جرعة الكبريت ١ و ٢ غم/كغم انخفاضاً معنوياً في عدد المرات على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة بعد ٧ و ١٤ يوماً من معاملة الفئران بالكبريت فضلاً عن وجود الانخفاض المعنوي في عدد المرات عند مقارنة النتائج ما بين الوقتين ٧ و ١٤ يوم من المعاملة.

وعند دراسة اختبار تحدي السباحة في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ١ و ٤ غم/كغم بعد ٧ أيام من المعاملة اظهرت الفئران انخفاضاً معنوياً في وقت اختبار تحدي السباحة على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة ، كما اظهرت الفئران المعاملة بالجرعة الثلاث انخفاضاً معنوياً في وقت إنهاء الاختبار بعد ١٤ يوماً من المعاملة على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة. أدى إعطاء الكبريت بجرعة ٢ غم /كغم من وزن الجسم في اليوم ١٤ من المعاملة إلى انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون مقارنة بمجموعة السيطرة. من جهة أخرى أدى إعطاء الكبريت بالجرعة ١ و ٢ غم /كغم إلى زيادة معنوية في مستوى الكلوتاثيون في الدماغ بعد ١٤ يوماً من المعاملة على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة اما جرعة الكبريت ١ و ٢ غم/كغم فأحدثت انخفاضاً معنوياً على التوالي في مستوى كلوتاثيون الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة وأدى إعطاء الكبريت بالجرعة ١ و ٢ غم /كغم إلى احداث زيادة معنوية في مستوى المالوندايديهايد في بلازما دم الفئران على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة، في حين سببت

جرعة الكبريت ١ و ٤ غم /كغم زيادة معنوية في مستوى المألوندايالديهيد في الكبد على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة. أدى إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم إلى زيادة معنوية في وقت بدء النوم و نقصان معنوي في فترة النوم مقارنة بمجموعة السيطرة . عند تتبع تأثيرات الكبريت السلوكية العصبية والكيمياء حيوية في أثناء ١٤ يوماً بعد المعاملة أدى تجريع الفئران بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم إلى تخفيض معنوي في عدد المربعات المقطوعة داخل الميدان المفتوح بعد ٢٤ ساعة من المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة وأحدث الكبريت انخفاضاً معنوياً أيضاً بعد ١٤ يوم من المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة ، من جهة أخرى سبب الكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم انخفاضاً معنوياً في عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية بعد ٢٤ ساعة من المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة فضلاً عن التخفيض المعنوي لعدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية بعد ١٤ يوماً من المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة ، وسببت جرعة ١٦ غم/كغم انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوتاثيون في دماغ الفئران بعد ٢٤ ساعة من المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة في حين سبب الكبريت بالجرع نفسها زيادة معنوية واضحة في مستوى الكلوتاثيون بعد ١٤ يوماً من المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة وعند قياس فعالية ALT في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم سبب الكبريت زيادة معنوية في نشاط الأنزيم بعد ١٤ يوماً من المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة ، من جهة أخرى سببت جرعة الكبريت ١٦ غم/كغم زيادة معنوية أيضاً في فعالية أنزيم AST في بلازما دم الفئران في الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوم على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة . نستنتج من دراستنا امكانية الكبريت لإحداث التسمم العصبي على مستويات عديدة كالسلوك العصبي وعلى مستوى التحديات الدوائية، فضلاً عن تأثيره في بعض القياسات الأنزيمية في بلازما الدم ومستوى الكلوتاثيون والمألوندايالديهيد في الكبد والدماغ.

ثبت المحتويات

الصفحة	الموضوع
د	ثبت المحتويات
ز	ثبت الجداول
ط	ثبت الأشكال
ط	ثبت الملاحق
ك	ثبت المصطلحات
ل	ثبت المختصرات
٢-١	الفصل الأول : المقدمة
١٦-٣	الفصل الثاني : استعراض المراجع
٣	الكبريت في التاريخ القديم
٣	الكبريت في الطبيعة
٤	مصادر الكبريت
٥	تأثير الكبريت اعتماداً على درجة السمية
٥	تأثير الكبريت في الأنسجة
٦	تأثير الكبريت في عدد من الأمراض
٧	تأثير الكبريت في الزراعة
٧	تأثير الكبريت في البيئة
٨	الخواص الفيزيائية والكيميائية للكبريت
٩	امتصاص الكبريت
١٠	استعمالات الكبريت الطبية والصناعية
١٣	آلية عمل الكبريت
١٤	آلية التسمم العصبي بالكبريت
١٤	علامات التسمم بالكبريت

١٥	علاج حالات التسمم بالكبريت
١٦-١٥	الإجهاد التأكسدي Oxidative Stress
٣١-١٧	الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل
١٧	الحيوانات المختبرية
١٧	الأدوية والمواد الكيماوية المستعملة
١٨	الأجهزة المستعملة
١٨	العدد التشخيصية المستعملة
١٨	تحضير الكبريت
١٩	جمع عينات الدم واستخراج الاعضاء
١٩	جمع عينات الدم
١٩	استخراج الأعضاء وحفظها
١٩	استخراج الدماغ
١٩	استخراج الكبد
٢٠	التجارب
٢٠	التجربة الأولى: تحديد الجرعة المميتة الوسطية (الجم-٥٠) Median lethal dose LD ₅₀ للكبريت في الفئران عن طريق الفم باستعمال طريقة الصعود والنزول (Up and Down method) (Dixon,1980)
٢١	التجربة الثانية: تحديد الجرعة المميتة التقريبية Approximate lethal dose ALD للكبريت بالتجريع عن طريق الفم في الفئران باستعمال طريقة Deichman (Depass,1989)
٢١	التجربة الثالثة: التغيرات السلوكية العصبية والكيمياء حيوية المحدثة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة
٢٦	التجربة الرابعة: تأثير إعطاء الكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في السلوك الحركي والعصبي و مستوى الكلوتاثيون والمالوندايالديهيد في بلازما دم و دماغ وكبد الفئران بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة

٣٠	التجربة الخامسة: التحدي الدوائي بالزايلازين والكيثامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم
٣١	التجربة السادسة: متابعة التغيرات السلوكية العصبية والكيمياء حيوية المحدثة بالكبريت في الفئران
٣١	التحليل الإحصائي
٤٨-٣٢	الفصل الرابع : النتائج
٣٢	التجربة الأولى: تحديد الجرعة المميتة الوسطية (الجم-٥٠) Median lethal (LD50 dose) للكبريت في الفئران عن طريق الفم باستعمال طريقة الصعود والنزول (Up and Down method) (Dixon,1980)
٣٣	التجربة الثانية: تحديد الجرعة المميتة التقريبية Approximate lethal dose ((ALD للكبريت بالتجريع عن طريق الفم في الفئران باستعمال طريقة Deichman (Depass,1989)
٣٣	التجربة الثالثة: التغيرات السلوكية العصبية والكيمياء حيوية المحدثة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة
٣٧	التجربة الرابعة: تأثير إعطاء الكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في السلوك العصبي والحركي و مستوى الكلوتاثيون والمالوندايالديهيد في بلازما دم و دماغ وكبد الفئران بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة
٤٤	التجربة الخامسة: التحدي الدوائي بالزايلازين والكيثامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم
٤٨-٤٥	التجربة السادسة: متابعة التغيرات السلوكية العصبية والكيمياء حيوية المحدثة بالكبريت في الفئران
٥٤-٤٩	الفصل الخامس المناقشة
٥٦-٥٥	الفصل السادس الاستنتاجات و التوصيات

٥٥	الاستنتاجات
٥٦	التوصيات
٦٧-٥٧	المصادر
٥٧	المصادر العربية
٥٨	المصادر الأجنبية
٨٠-٦٩	الملاحق
A-B-C	Abstract

ثبت الجداول

الصفحة	الجدول	ت
٣٢	الجدول (١): الجرعة المميطة الوسطية للكبريت بالتجريب الفموي في الفئران	١
٣٤	الجدول (٢): النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٨ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و٢٤ ساعة من المعاملة	٢
٣٥	الجدول (٣): القياسات السلوكية العصبية في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٨ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و٢٤ ساعة من المعاملة	٣
٣٦	الجدول (٤): مستوى كلوكوز الدم في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٨ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و٢٤ ساعة من المعاملة	٤
٣٧	الجدول (٥): فعالية أنزيمي ناقلة أمين الألتين ALT وناقلة أمين الأسبارتيت AST في الفئران المعاملة بجرعتي الكبريت ٨ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و٢٤ ساعة	٥
٣٨	الجدول (٦): قياسات النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٧ و١٤ يوماً من المعاملة	٦

٤٠	الجدول (٧): تأثير الكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم في القياسات السلوكية العصبية في الفئران بعد ٧ و١٤ يوماً من المعاملة	٧
٤١	الجدول (٨): مستوى الكلوتاثيون في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في يوماً ١٤ من المعاملة	٨
٤٢	الجدول (٩): مستوى الكلوتاثيون في دماغ و كبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة	٩
٤٣	الجدول (١٠): مستوى المالوندايالديهيد في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة	١٠
٤٤	الجدول (١١): مستوى المالوندايالديهيد في دماغ وكبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة	١١
٤٥	الجدول (١٢): زمن النوم المحدث بالزايلازين و الكيتامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و٨ غم/كغم من وزن الجسم	١٢
٤٦	الجدول (١٣): قياسات النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة	١٣
٤٧	الجدول (١٤): مستوى الكلوتاثيون في دماغ الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة	١٤
٤٨	الجدول (١٥): فعالية أنزيم ناقلة أمين الألبانين وناقلة أمين الأسبارتيت في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة	١٥

ثبت الاشكال

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
٨	التركيب الكيميائي للكبريت	١
٢٢	صندوق قياس النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح	٢
٢٣	مقياس الإنتحاء الأرضي السالب Negative geotaxias	٣
٢٣	مقياس إدخال الرأس في الثقوب	٤
٢٤	مراتب اختبار السباحة	٥
٢٤	حوض اختبار السباحة	٦

ثبت الملاحق

الصفحة	عنوان الملحق	رقم الملحق
٦٩	جدول حساب الجرعة المميته الوسطية (الجم-٥٠)	١
٧٠	القياسات السلوكية العصبية في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة	٢
٧١	تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مستوى كلوكوز الدم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة	٣
٧١	تأثير إعطاء الكبريت بجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم في فعالية أنزيم ناقلة أمين الألبين ALT وناقلة أمين الأسبارتيت AST عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة	٤

٧٢	القياسات السلوكية العصبية للفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة	٥
٧٤	مستوى الكلوتاثيون في بلازما دم و دماغ و كبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤١ يوماً من المعاملة	٦
٧٥	مستوى المالوندايالديهيد في بلازما و دماغ و كبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة	٧
٧٦	زمن النوم المحدث بالزايلازين والكيثامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم	٨
٧٧	قياسات النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة	٩
٧٨	مستوى الكلوتاثيون في دماغ الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة	١٠
٧٩	فعالية أنزيم ناقلة أمين الأللين و ناقلة أمين الأسبارتيت في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة	١١
٨٠	المنحنيات القياسية لكل من AST و ALT و GSH	١٢

ثبت المصطلحات

المصطلح بالإنكليزية	المصطلح بالعربية
Oxidative Stress	الإجهاد التأكسدي
Rearing	الوقوف على القوائم الخلفية
Blood brain barrier	الحاجز الدموي الدماغي
Depression	الاكتئاب
Homogenize	مجانسة
Free radicals	الجزور الحرة
Head pocking	إدخال الرأس في الثقوب
Convulsions	الاختلاجات عصبية
Median lethal dose	الجرعة المميتة الوسطية
Muscle fasciculation	التحزم العضلي
Negative geotaxis	الإنتحاء الأرضي السالب
Open- field activity	النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح
Tremor	الرجفة
Straub tail	أنتصاب الذيل

ثبت المختصرات

المختصر	المصطلح
ALT	Alanine aminotransferase enzymes
AST	Aspartate aminotransferase enzymes
MDA	Malondialdehyde
GSH	Glutathione
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate dehydrogen

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

الكبريت Sulfur عنصر من العناصر الكيميائية اللافلزية المهمة، يُرمز له برمز خاص به هو حرف S، ولونه الأصفر وقد يتدرّج في ألوانه إلى البرتقالي أو الرمادي في حال احتوى على مجموعة من الشوائب (Hazen et al., 2008). يوجد في الطبيعة بشكل خام، ويحتوي على كميات قليلة من السيليونيوم، الذي يمتاز بقدرته على الإحلال محلّ ذرّات الكبريت، له دور مهم في استمرار الحياة على سطح الأرض (Ejaz et al., 2022)، يُعدُّ مُكوّنًا أساسيًا للعديد من العناصر التي يحتاجها الإنسان مثل: الأحماض الأمينية والبروتينات، كما أنه مُتعدّد الأشكال فمن الممكن أن يظهر على شكل كبريتات أو كبريتيدات ويتم الحصول عليه من محارق الوقود الأحفوريّ أو في أثناء الانبعاثات الصّادرة من المحيطات اذ يتمُّ الحصول على مثل هذه الانبعاثات نتيجة نشاط الكائنات الحيّة الدقيقة وتحلّلها فضلاً عن ثوران البراكين بشكل دائم ومُستمر (Parashar et al., 2022).

قد يتمُّ تزويد الماء والتربة بمعدن الكبريت عن طريق إفرارات وإخراجات الكائنات الحيّة في أثناء موتها ممّا يجعل البكتيريا تستفيد منه من في أثناء قيامها بأكسدة وتحويل كبريتيد الهيدروجين إلى كبريت واستعماله كوقود ويمكن الحصول على الكبريت من النفط المُستخرج أيضاً (Likus-Ciešlik et al., 2015).

كما يدخل في إنتاج الفلزّات وتكرير النفط وصناعة الأسمدة والمتفجّرات والمبيدات الحشريّة، ويدخل الكبريت أيضاً في إنتاج الشّامبو والمطّاط والبطاريات والمواد الكيميائية التي تستعمل في صناعة الأفلام والتصوير وهو من المُكوّنات الرئيسيّة في صناعة الأدوية، كما يمكن استعماله لشقّ وأنشاء الطُّرق ويتمُّ استعماله أيضاً في عمليّة طلاء الفضة (Mullens and Murillo, 2017) يحصل التسمم بالكبريت في حيوانات المزرعة وخصوصاً المجترات بسبب تركيزه العالي في الغذاء ومياه الابار وبسبب الاستعمال المكثف للأسمدة في الحقول والمزارع (Holland and Avery, 2011).

تعرضت مصانع وحقول الكبريت للاحتراق في محافظة نينوى ولعدة مرات في أثناء الحروب السابقة، مما أدى إلى ارتفاع نسب التلوّث البيئي بالكبريت في العراق بشكل عام وفي محافظة

نينوى ومدينة الموصل بشكل خاص نتيجة إنبعاث الغازات السامة لاحتراق مصانع وحقول الكبريت في المشراق لمدة طويلة في أثناء الحروب التي طالت المدينة في السنوات الماضية، والتهديد لايزال قائماً لحد الآن متمثلاً بحدوث كارثة انسانية وبيئية تهدد الغطاءين النباتي والحيواني لا على المدى القريب فحسب بل البعيد ايضاً، فضلاً عن الأضرار الصحية العامة، وبسبب خطورة هذه الأنبعاثات وقلة الأبحاث العلمية عن هذا الملوث البيئي سيتم تسليط الضوء دراسة امكانية حصول سمية عصبية تحدث تغيرات في الوظائف السلوكية والفسلجية، فضلاً عن الكشف عن تأثير الكبريت في بعض المتغيرات الكيمياء حيوية والتحديات السمية للكبريت في الفئران. وهذا تحقق من في أثناء أنجاز المحاور الآتية:

١. دراسة السمية الحادة المحدثة بالكبريت في الفئران من خلال قياس الجرعة المميتة الوسطية (الجم-٥٠) Median lethal dose (LD₅₀) وقياس الجرعة المميتة التقريبية (ALD) Approximate lethal dose وقياس السمية الحادة (Acute toxicity).
٢. دراسة السمية السلوكية العصبية Neurobehavioral toxicity للكبريت في الفئران من خلال قياس أنماط مختلفة من السلوك الحيواني باستعمال (اختبار النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح والاختبارات السلوكية الأخرى).
٣. دراسة التأثيرات الكيمياء حيوية Biochemical effects لجرع مختلفة من الكبريت في الفئران وعلى عدة مستويات مثل (ALT,AST,Glucose ,GSH,MDA).
٤. دراسة التحدي الدوائي و السمي Pharmacological challenge للكبريت مع بعض الأدوية للكشف عن التأثيرات المخفية للكبريت في وظائف الجهاز العصبي المركزي.
٥. تتبع تأثير الكبريت Follow up Test في السلوك العصبي والتأثير الكيمياء حيوية في الفئران.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Review of Literature

الكبريت في التاريخ القديم:

يعد عنصر الكبريت خامس العناصر الكيميائية من إذ الترتيب في الأرض، أما ترتيبه في القشرة الأرضية فهو السادس عشر ويوجد في غلاف الأرض الصخري والمائي والحيوي، (Hazen *et al.*, 2008) ، ومن الممكن العثور على عنصر الكبريت بشكل حر باللون الأصفر المميز ويسمى زهرة الكبريت *Sulfur flower* على وفق الجمعية الدولية للمعادن ، ويمكن أن نراه بأشكال متعددة مرتبطا مع باقي المعادن في الطبيعة (Chaudhuri, 2022)، ولطالما استعمال الكبريت في الطقوس المصرية ما قبل التاريخ منذ أكثر من ٤٠٠٠ سنة إذ استعماله المصريون كما استعمله اليونانيون والرومان لإشعال نار الحرب في العصور الوسطى (Etemad *et al.*, 2019).

دورة الكبريت في الطبيعة :

يوجد الكبريت في الغلاف الجوي على شكل غبار، كما يوجد في التربة وفي النباتات، وينتج بعد ثوران البراكين وفي الفحم الأحفوري وكناتج لاحتراق الوقود، كما يعمل على تنشيط الأنزيمات والاستفادة منها في للنبات وفي الزراعة (Ejaz *et al.*, 2022)، من جهة أخرى يحتوي الثوم على العديد من مركبات الكبريت مثل الكلوتاثيون بيروسلفيد *Glutathione pyro sulfide* والكلوتاثيون متعدد الكبريتيد والبروتين كبريتيد المرتبط بالبروتين وكبريتيد الهيدروجين H_2S يمكن ارتباطه بمثيل الزئبق ليتحول إلى ثنائي مثيل الزئبق الذي يعد أقل سمية من أحادي الزئبق. (Abiko *et al.*, 2021).

مصادر الكبريت:

مصادر انبعاث الكبريت في الغلاف الجوي

المصدر الرئيس هو ثنائي أكسيد الكبريت SO_2 الناتج عن احتراق الوقود ، العمليات الصناعية ، الوقود الأحفوري، زيت الديزل ، زيت الوقود ، الفحم ، تكرير النفط ، العمليات البتروكيميائية ، التعدين والغاز المنبعث من عوادم السفن ، وعندما تحترق الوقود يتأكسد الكبريت في المركبات العضوية واللاعضوية إلى ثنائي أكسيد الكبريت الذي ينبعث إلى الغلاف الجوي (Lövblad *et al.*, 2004)

تعد المناجم احد اهم مصادر الكبريت في التربة وتتركز بكثافته في اثناء عمليات التعدين،(Likus-Ciešlik *et al.*, 2015). ومن مصادر الكبريت حقول صناعة الدواجن و إنتاج البيض لكون البيض يحتوي على نسبة عالية من الكبريت فيحصل أنبعاث غاز كبريتيد الهيدروجين(Saksrithai and King, 2018). كما يوجد الكبريت كمادة أساسية في صناعة المبيدات الفطرية بشكل مادة أساسية،(Extoxnet, 1996)، ويوجد مرتبطاً مع باقي المعادن مثل البيريت Pyrite والمرقشيت Marcasite (كبريتيد الحديد) والكالكوبيويت (كبريتيد الحديد والنحاس) وزنجفر (كبريتيد الزئبق) والغالينا (كبريتيد الرصاص) والسيفاليريت (كبريتيد الزنك) وغيرها(Bhadiyatar *et al.*, 2022). يتم جمع عنصر الكبريت الخام في أكوام تحتوي على فتحات عمودية و يتم خروج الغازات منها وبعد ذلك يتم إشعال هذه الأكوام مما يؤدي إلى حرق بعض كميات الكبريت ومن ثم يتكون ثنائي أكسيد الكبريت وبعد صهره يؤدي إلى سيلانه على الأرض ثم يتم جمعه في قوالب متخصصة والمدة التي تحتاجها هذه العملية من شهر إلى شهرين حسب حجم وكثافة الأكوام أما فيما يخص الكبريت الموجود في باطن الأرض فيتم صهره (Agrafiotis *et al.*, 2022).

وبعد الانتهاء من الحصول على الكبريت ينصح بتخزينه في مناطق جيدة التهوية مع أخذ الحيطة و الحذر من تكون كبريتيد الهيدروجين في أثناء النقل أو التخزين مع ضرورة الإنتباه إلى وجوب تنفيس مادة الكبريت و تهويتها بعيداً عن أماكن العمل لحماية العمال من الخطر ومنع التدخين في المناطق التي يتم فيها التخزين أو نقل الكبريت ، ذلك لأنه مادة سريعة الاشتعال (Talukdar *et al.*, 2022).

تأثير الكبريت اعتماداً على درجة السمية: (Yunming, 1986)

١- التأثير السمي الحاد: **Acute toxic Effect**

من المعروف أن الكبريت منخفض السمية ولا يشكل خطراً كبيراً على صحة الإنسان و الحيوان، وضع الكبريت في الفئة الرابعة للسمية من قبل وكالة حماية البيئة وهي الفئة الأقل سمية لهذه التأثيرات، وفي حال تم استنشاق الكبريت بكميات كبيرة من الممكن أن يؤدي إلى تهيج وتخريش في الأغشية المخاطية.

٢- التأثير السمي المزمن: **Chronic toxic Effect**

أن التعرض المزمن للكبريت بكميات منخفضة آمن، وتظهر الدراسات الوبائية أن عمال مناجم الكبريت الذين تعرضوا لثنائي أوكسيد الكبريت ولمده طويلة غالباً ما يعانون من اضطراب في العين والجهاز التنفسي و التهاب في الشعب الهوائية (Madigan and Martino, 2006).

تأثير الكبريت في الأنسجة:

أن للكبريت أثراً على الأعضاء الداخلية للكائن الحي (الإنسان والحيوان)، وقد أثبتت دراسة الأثر السمي للكبريت في الأعضاء ولا سيما الكبد والدماغ إذ لوحظ تنخر في دماغ الجرذان وكذلك لوحظت أيضاً اختلافات في مستويات الأنزيمات الكبدية بسبب تأثير كاربونات الكبريت COS في الكبد. (SV et al., 2022).

لوحظ أن التناول المفرط للكبريت يسبب تنخراً في قشرة الدماغ (Gammon et al., 2010)، كما لوحظ بعد فحص قطع من النسيج الرئوي وفحص بعض الحيوانات المتعرضة للكبريت وجوده في ذلك النسيج وفي السوائل المحيطة بالنسيج إذ يعمل على تخريش النسيج الرئوي (Milovanovic et al., 2019).

تعمل نظائر الكبريت في كلوكوز- د (Glucose d) على إفراز الأنسولين ونقل كلوكوز- د وأكسدته في جُزيرات لأنجر هانز في البنكرياس في الفئران التي تم فحصها مجهرياً و المصابة بسكر الدم إذ أدى استبدال الكبريت بجزيئة الأوكسجين في البنية الحلقية لكلوكوز- د إلى تثبيط -٥ ثايو- د كلوكوز (Thio-glucose-٥) و من ثم يؤدي إلى فقدان القدرة على إفراز الأنسولين لكونه العامل المثبط لإفراز الأنسولين، علماً أن كلوكوز- د يلعب دوراً مهماً في التعرف على السكر بوصفه عاملاً يساعد في إفراز الأنسولين (Hellman et al., 1973).

أثبتت دراسة أخرى تأثير عنصر الكبريت في الكبد وذلك بعد إجراء بعض الفحوصات على الحيوانات المخبرية بإجراء فحوصات كيميائية حيوية مثل قياس مستوى (الكلوكوز ، الدهون ، خضاب الدم وأنزيمات الكبد وغيرها) ، ولوحظ أن للكبريت تأثيراً واضحاً في الكبد بعد وجود تمدد حبيبي وتفاعلات شديدة الحساسية وبعد مرور مدة من الزمن لوحظ تنخر في كبد الفئران (Roy Choudhury *et al.*, 2015).

تأثير الكبريت في عدد من الأمراض :

تؤثر مركبات الكبريت في بعض الأمراض كداء السكري وامراض الكبد والسمنة تعمل على تقليل السمية الحادة بواسطة السايوكروم (Cytochrome (Sp450-2E1 (Gopinathan *et al.*, 2022)، ولقد وجد أن مركب كبريتيد الهيدروجين له دور في الخلايا العصبية لعلاج بعض الحالات المرضية مثل الخرف (الزهايمر) Alzheimer ومرض الرعاش Parkinsones ومرض هنتاغتونز (Huntingtones) (Yu *et al.*, 2020) (Mohammed and Mansour, 2021)

لوحظ أيضاً أن التغيير الجيني للقولون في الجرذان بعد التعرض للكبريت لمدة ثلاثة أيام يسبب حروقاً كبيرة (Zheng *et al.*, 2021) ، وللكبريت تأثير في الجهاز التنفسي للإنسان والحيوان على حد سواء عند استنشاقه إذ يؤدي إلى الاختناق وفي الحالات الشديدة قد تصل إلى حاله أشبه بالربو Asthma من شدة الاختناق وعند ملامسته العيون يعمل على تهيج العين واحمرارها وإسالة الدموع وكذلك احتقان الحلق (Soni *et al.*, 2020)، ويعمل أيضاً يعمل على زيادة معدلات الربو عند الإنسان على وفق تقارير المستشفيات المختصة في علاج حالات الربو (Zheng *et al.*, 2021).

يتعرض الإنسان والحيوان للمواد الخطرة كخردل الكبريت في أثناء الحروب الكيميائية والذي يصعب تشخيصه أنياً إلا بعد فحوصات الفلوروسنت لإيجاده في أنسجة الجسم (Meng *et al.*, 2019)، ولخردل الكبريت تأثيراً ساماً، عند ملامسته لجلد الإنسان والحيوان إذ لوحظ وجود بثور في جلد الحيوان والإنسان (Kulkarni *et al.*, 2006) ، فضلاً إلى تأثيره الحاد على الرئة إذ يعمل على احتشاء الرئة وتليفها (Soni *et al.*, 2020) ، وأثبتت دراسة أخرى في الفئران تأثير خردل الكبريت بجرع محددة في أثناء ٣ ايام على الفئران إذ تسبب بحدوث التهاب في الجنبه الرئوية مع زيادة في افراز السوائل البروتينية في القصبات الهوائية وتضييقها ومن ثم تخريش النسيج الرئوي (Dahal *et al.*, 2020) ، يؤثر الكبريت مع عنصر الفلور F في نسيج الدماغ في فئران التجارب إذ أثبتت دراسة حدوث تغير جيني في النسيج الدماغي

للفئران وكذلك تغير في الخلايا العصبية إذ ظهر عليها الإنكماش (Wang *et al.*, 2018) كما وجد أن لخردل الكبريت تأثيراً في نخاع العظم والأنسجة اللمفاوية إذ يقلل من الخلايا اللمفاوية ومن ثم يعمل على خفض المناعة (Beske *et al.*, 2022) ، يؤدي نقص مركب الكبريت إلى نقص في بروتين مهم في الجسم يخلق في المايتوكونديريا وهو الفارتكسين Alfartaksin الذي بدوره يعمل على إحداث بعض الأمراض كمرض ترنح فيدريش Friedriches ataxia (Huichalaf *et al.*, 2022).

تأثير الكبريت في الزراعة:

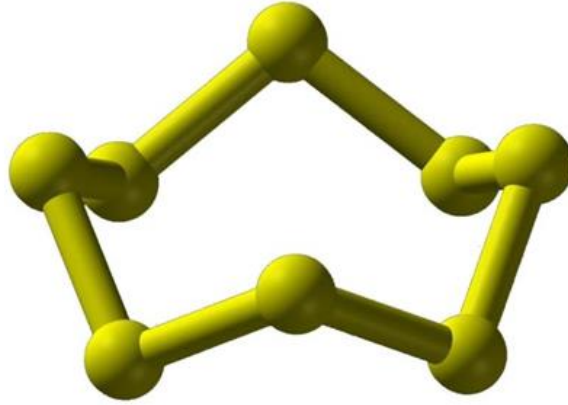
بينت دراسة أن تسميد الأراضي بثلاثة عناصرهم كل من الكبريت S و النحاس Cu و الموليبدينيوم Mo وفي حقول تربية الماعز أن الكبريت كأن العنصر الأقل سمية والأصلح رعيها (Kong *et al.*, 2021) ، وله دور في التربة إذ اجريت دراسة تجريبية على الأراضي المعدة لزراعة الفول السوداني والتي تم تسميدها بعنصر الكبريت فقد لوحظ ارتفاع في إنتاج الفول السوداني بنسبة ١٠٪ (Jadhav *et al.*, 2022) .

تأثير الكبريت في البيئة:

يترسب الكبريت في المناطق القريبة من الآبار في عمليات التعدين، إذ يتراكم ويسبب خطراً أو ضرراً على الكائنات الحية (Likus-Ciešlik *et al.*, 2015) . يعد عنصر الكبريت أحد المعادن الملوثة للبيئة كالهواء والماء والتربة (Zeng *et al.*, 2020) ، أشارت الدراسات لمدة زمنية امتدت لـ ٢٠ عاماً إلى تراكم الكبريت في تربة المناجم ولمدة زمنية تعد طويلة تقريباً وبعد ترك المنجم تم فحص التربة وتبين تراكم عنصر الكبريت فيها وجعلها تربة ملوثة بالكبريت ،لذا تظهر حالات التسمم في النبات والحيوان عند استهلاك تلك النباتات الملوثة بالكبريت وقد تكون العلامات السمية حادة أو مزمنة (Sołek-Podwika *et al.*, 2016) . أظهرت دراسة أخرى وجود التأثير السمي للكبريت في صناعة بيض الدجاج في المناطق المكتظة بإنتاج الدواجن إذ تنبعث غازات الكبريت في الهواء وتلوثه، وعند هطول المطر ينزل الكبريت بشكل جذور حمضية تترسب في التربة فتتلوث النباتات ويحصل تسمم الحيوان عند تناول تلك الأعشاب الملوثة (Saksrithai and King, 2018) ، هناك أبحاث مهمة أسهمت في تشكيل النظريات القديمة لاستهلاك الكبريت بكميات كبيرة على اعتباره عنصراً آمناً وليس له سمية وقد أثبتت دراسات عديده خطورة الإفراط في استعماله لآثره السمي في الكائنات الحية بشكل عام (Toohey and Cooper, 2014) .

الخواص الفيزيائية والكيميائية للكبريت: الخواص الفيزيائية

الكبريت ليس له طعم ولا رائحة ويكون بهيئة مركب أصفر اللون وهو عنصر رديء التوصيل الكهربائي وغير قابل للذوبان في الماء ويعد عنصراً لا فلزياً وله القابلية على التفاعل مع كثير من العناصر الفلزية واللافلزية (Toohey and Cooper, 2014) ، ينصهر الكبريت في درجة حرارة ١٥١,٢١ درجة مئوية، وعند تفاعل الكبريت مع عوامل الأكسدة يصبح مادة متفجرة مثل (الفركلورات و البيروكسيدات و البرمنكنات و الكلورات و النترات و الكلورين و البرومين و الفلورين)(Ausma et al., 2021).



الشكل (١) يوضح التركيب الكيميائي للكبريت (Lide., 2005)

يوجد الكبريت بعدة أشكال في الطبيعة والتحول بين هذه الأشكال يعتمد على درجة الحرارة و أن الشكل الأكثر استقراراً هو الشكل الحلقي الثماني للكبريت في الظروف القياسية و يكون ذا لون أصفر سهل التفتت يغلي بدرجة ٤٤٤,٦ درجة مئوية ، ويتسامى ايضاً عند تسخين الكبريت إلى درجة حرارة ١١٩ درجة مئوية ويكون سائلاً قليلاً للزوجة ذا لون أصفر و عند رفع درجة الحرارة تتفتت البوليمرات وتصبح طويلة السلسلة ويصبح لونه أحمر عند درجة حرارة ٢٠٠ درجة مئوية (Earnshaw and Greenwood, 1997)

الخواص الكيميائية

يتفاعل عنصر الكبريت مع كثير من العناصر الموجودة في الطبقة الفلزية واللافلزية ومثال ذلك تفاعل الزئبق مع الكبريت بدرجة حرارة الغرفة ليكون كبريتيد الزئبق (HgS)، يحترق الكبريت في الهواء بدرجة حرارة تزيد على ٢٥٠ درجة مئوية بلهب أزرق مع تشكيل غاز ثنائي أكسيد الكبريت ذي الرائحة الخانقة والمهيجة يشكل الكبريت مع الهيدروجين مركب كبريتيد الهيدروجين H₂S وهو غاز قابل للاشتعال عديم اللون له رائحة تشبه رائحة البيض الفاسد (Ubuka *et al.*, 2001)، وللكبريت أكاسيد مثل ثنائي أكسيد الكبريت (Wiberg *et al.*, 2001) ويعد ثنائي كلوريد الكبريت SCl₂ وثنائي كلوريد ثنائي الكبريت S₂Cl₂ كواشف عضوية مهمة في المختبرات الكيميائية وكذلك الحال مع كلوريد الثيونيل SOCl₂ وكلوريد الفسفوريك POCl₃ المستعملة في الصناعات العضوية (Vestring *et al.*, 2007).

امتصاص الكبريت:

يمتص الكبريت عن طريق الجلد وذكرت مصادر عديدة أن خردل الكبريت Sulfur mustard يمتص عن طريق الجلد بصورة سريعة ومؤذية إذ تظهر تأثيراته في الجلد كثور صغيرة أو عقيدات Gautam nodules (Kulkarni *et al.*, 2006). أن أبرز مصادر الكبريت في الجسم هما الحامضان الامينيان الميثونين والسستين اللذان يستهلكان ويمتصان بصورة غير كاملة عن طريق الأمعاء وقد يتوافر مركب مثيل سلفونيل الميثان Methyl sulfonyl methane كمكمل غذائي بأن يكون امتصاصه بشكل أكبر عن طريق الأمعاء الدقيقة، وتتراكم جزيئات الكبريت في الأنسجة المختارة عند اعطائها لمدة ٨ أيام في ذكور الفئران الصغيرة (Chilcott *et al.*, 2001)، يمتص الكبريت و خردل الكبريت Sulfur mustard بشكل كبير عن طريق العيون و الجلد والجهاز التنفسي وليس له ترياق مناسب ويكون ساماً في الجرع العالية (Goswami *et al.*, 2018).

يتحول ثنائي أكسيد الكبريت SO₂ السام إلى عنصر غير سام مثل الكبريت النقي الذي يطرح في الاسواق ويستفاد منه في الصناعات التكنولوجية وفي الزراعة وغيرها وذلك عن طريق اختزال ثنائي أكسيد الكبريت وتحويله إلى كبريت نقي (Ng *et al.*, 2022)، يدخل الكبريت في صناعة حامض الكبريتيك H₂SO₄ يعد ناقلاً للطاقة ولتوليد الطاقة الحرارية (García-Labiano *et al.*, 2016)، كما يحصل امتصاص للكبريت عن طريق أذن الخنزير

التي يعد أنموذجاً مشابهاً لجلد الإنسان إذ أظهرت دراسة أن مدة امتصاص الكبريت عن طريق اذن الخنزير تمثلت بالكمية (١٥٧±٦٦ ميكرو / ساعة) (Corvino et al., 2021).

استعمالات الكبريت الطبية والصناعية:

يستعمل عنصر الكبريت في العديد من المجالات الطبية ولاسيما في مجال الطب البيطري لعلاج الكثير من الحالات المرضية في هذا القطاع للسيطرة على العث في الطيور Mites in birds الذي يعد أحد أنواع الطفيليات الجلدية التي تكون مؤذية للحيوان ويكون العلاج بغبار الكبريت النقي إذ يوضع على جلد الطير ليتماثل للشفاء (Zhang et al., 2004; Mullens and Murillo, 2017) ، يدخل الكبريت في صناعة الكثير من أنواع الأدوية المستعملة في الإنسان والطيور وكذلك يستعمل عنصر الكبريت بوصفه مبيداً حشرياً للطفيليات التي تنمو على المحاصيل الزراعية (Mohamed and El-Gamal, 2010).

أثبتت الدراسات أن للمبيدات الحشرية في الحقول تأثيرات في المحاصيل ، ووجد أن للكبريت تأثيراً فعالاً في إبادة الأعشاب الضارة كما أن ترسباته تحتوي على بقايا بترولية تستعمل أيضاً لعلاج حالات مرضية معينة (Seralini et al., 2021)، ارتبطت إصابة الرئة الناتجة عن التعرض بتثبيط الأنزيم البروتيني والأصابة التأكسدية و الاستجابة الالتهابية التي بلغت ذروتها في نخر النسيج، إذ تم تقييم مثبطات الأنزيم البروتيني أبروتينين وإيلوماستال Aprotinin, Ilomastal ومضادات الاكسدة ترولاكس Trulaks من إذ الفعالية في تخفيض اصابة الرئة التي سببها الكبريت إذ إخذت مجموعة من الجرذان المعرضة لبخار الكبريت وعوملت بمادة الأبروتينين في الوريد بجرعة ٤,٤ ملغم/كغم، ومن ثم عوملت بمادة التروولاكس وتمت مراقبة وظائف الرئة وتشريح الجرذان لمعاينة القصبات الهوائية إذ لوحظ قلة في الترسبات داخل القصبة من الخلايا الالتهابية والأفرزات ومن ثمّ عدم موت الجرذان إذ أثبتت المعالجة دورها الفاعل في علاج حالات التسمم العصبي/الرئوي وانخفاض نسبة النفوق في الحيوانات، بعدما كانت حالات النفوق بالحيوانات عالية جداً. (Anderson et al., 2009).

بينت دراسة دور الكبريت ومكوناته مثل السلفونيل Sulfunel- والسلفوناميد Sulfonamide في صناعة الأدوية كمضادات الميكروبات Anti-Microbial ومضادات السرطان Anti-cancer ومضادات الليشمانيا Anti leishmania ومضادات التشنج (Anti convulsant) (Zhao et al., 2019) يؤثر الكبريت في تسمين افراخ الدجاج إذ تبينت أهمية الأحماض الكبريتية الكلية و الفترة الضوئية وتفاعلها مع النمو إذ تعمل على زيادة

معنوية في وزن دجاج اللحوم (Abou-Kassem *et al.*, 2022) يدخل كبريتيد الهيدروجين H_2S في صناعة العقاقير والأدوية لكونه يمتلك تأثيراً مضاداً للأكسدة ويعمل بشكل مباشر على الكلى والأوعية الدموية لإزالة الجذور الحرة (Scammahorn *et al.*, 2021)، وفي السابق تم التعرف على ثنائي أكسيد الكبريت SO_2 كونه ملوث للهواء ولكنه يمتلك في الوقت الحالي فوائد في الثدييات بصفته ناقل جيد للغازات لذا فإن ثنائي أكسيد الكبريت يشارك في تنظيم البيئة ووظيفة الأوعية الدموية و القلب و الرئة و الجهاز الهضمي والعصبي وله القابلية على التحكم في ضغط الدم وتوسيع الأوعية الدموية وبذلك يقوم بخفض وتنظيم ضغط الدم (Huang *et al.*, 2022)، أثبتت دراسة أن غاز ثنائي أكسيد الكبريت SO_2 له دور في تعزيز ذاكرة الفئران المرجعة مسبقاً إذ كان له دور في تعزيز الخلايا العصبية، ومن ثم تعزيز الذاكرة (Li *et al.*, 2022)، أثبتت دراسة في الفئران باستعمال ثنائي أكسيد الكبريت SO_2 وكبريتيد الهيدروجين H_2S معا تخفيض ضغط الدم إذ جرت تجارب على الفئران وعملت قسطرة عبر الشريان السباتي وفحصت الحيوانات بعد ساعه من استعمال العنصرين معا إذ اظهرت القسطرة ارتخاء الأوعية الدموية وانخفاض في معدل ضغط الدم (Sun *et al.*, 2022).

ويدخل عنصر الكبريت في صناعة الأسمدة لكونه عنصراً مغذياً للنبات إذ يمتص من النبات ويتحول بوساطة البكتيريا إلى مشتقات منحلة كأيونات الكبريتات لتغذية النبات مثل الفسفور والنيتروجين (Blake-Kalff *et al.*, 2000)، بينت دراسة أهمية الكبريت في جسم الإنسان و الحيوان إذ يوجد في الطبيعة بشكل واسع ويعد عنصراً مهماً للنمو إذ يوجد في حليب الام أيضاً وله دور كبير في علاج المفاصل و التشنجات العضلية ومرض العوز المناعي الايدز وفشل القلب وداء السكري، فضلاً عن دوره الكبير في توفير الطاقة لعضلات الجسم في أثناء التمارين الرياضية (Parcell *et al.*, 2002)، يستعمل الكبريت في تقليل سمية عنصر الكروم Cr لاحتوائه على مضادات الاكسدة مثل الكلوتاثيون (Holland and Avery, 2011).

أثبتت دراسة أن بعض اسباب فقر الدم في الفئران هو لافتقارها إلى ثنائي ٣ نيوكليوتايد الذي يعد المنظم الرئيس لامتصاص الكبريت و من ثم يقلل من صنع الميثيونين الذي يعد العامل الرئيس لإنتاج الأوكسجين وبعدها يعمل على عكس حالة فقر الدم ونقص الحديد (Iron deficiency anemia)، ومن ثم يؤدي إلى فقر الدم (Hale *et al.*, 2020). للكبريت دور في نقل جزيئة الحديد داخل الخلايا إلى البروتينات المرتبطة بالحامض النووي DNA (Gupta and outten, 2020)، وأوضحت الدراسة أن كبريتيد الحديد له دور رئيس في صناعة DNA ودور مثالي في التمثيل الغذائي وأن نقصه يؤدي إلى إحداث أمراض خطيرة

مثل الأمراض الحيوية العنقودية (Cluster biogenesis) والتي تؤثر سلباً في حياة الإنسان و الحيوان (Hale et al., 2020).

يستعمل عنصر الكبريت كعامل غذائي مهم بإضافته إلى عليقه المجترات إذ تؤدي دورا كبيرا في إنتاج مركب الايثانول Ethanol الذي يساعد البكتيريا النافعة في كرش المجترات (Morine et al., 2014)، يعد عنصر الكبريت عنصراً أساسياً يستعمل في العديد من الجزيئات الحيوية ولكنه قد يكون ساماً بتركيز عالية بسبب البيئة المختزلة للكرش فإن المجترات التي تكون أكثر عرضة للتسمم يجب فيها مراعاة جميع أشكال الكبريت المتناولة من قبل الحيوان (ماء و علف و اضافات علفية) وفي التقييم العام للتسمم إذ يصل إلى حاد و تحت الحاد ومزمن (Hall, 2018).

يملك الكبريت أنواعاً حيوية نشطة مثل كبريتيد الهيدروجين H₂S وثنائي أوكسيد الكبريت SO₂ وثنائي كبريتيد الكربون CS₂ التي لها مسارات فسلجية في علاج بعض الأمراض كتوسع الأوعية الدموية و الالتهابات واستقلاب الطاقة وغيرها (Yu and wang, 2020). من أشكال الكبريت السلفان sulfane الذي يمتلك ذرة ثنائية التكافؤ وهو ناتج عن العمليات الفسلجية والحيوية ويعد المادة الأساس لكبريتيد الهيدروجين H₂S ويسهل تحضيره وخرنه للاستفادة منه في تحضير البوليمرات المهمة في الوظائف الفسلجية (Iciek et al., 2019).

يستعمل عنصر الكبريت في الاستهلاك الذاتي لبعض أنواع الجينات في الخميرة من عائلة (Shimasaki et al., 2020) (*Schizosaccharomyces*)، كما يستعمل عنصر الكبريت بإضافته للمواد الغذائية (المعلبات) إذ يعمل مضاداً للأكسدة لإطالة عمر المواد الغذائية و يعمل على كبح وتقليل الجذور الحرة بمساعدة الحامضيين الامينيين الميثيونين و السستين (Kim et al., 2020; Shen et al., 2018)، كما يستعمل في عملية الامتصاص الضوئي لأن للكبريت قابلية على الامتصاص العالي للجزيئات لتحفيز الكهرباء (Zhao et al., 2019) أثبتت دراسة تأثير الكبريت في تقليل كمية نفايات الزرنيخ إذ يعمل بوساطة الحرارة بدرجة (٢٠٠-١٤٠) مئوية على تثبيط الزرنيخ للتقليل من سميته (Kong et al., 2021)، للكبريت قابلية على التوصيل الكهربائي عند خلطه بالكرافين و مركبات الكربون النانوية ويستعمل لشحن بطارية الليثيوم (Wang et al., 2011)، ويجب الاهتمام باستعمال الكبريت الذي سيكثر احتياجه في المستقبل القريب في مجالات جديدة في الأسواق العالمية لتسهيل تحقيق التوازن بين العرض والطلب وذلك بسبب الحاجة إلى التطور لتلبية احتياجات الطاقة المتزايدة كفرصة لتطوير تقنيات أكثر استدامة، فضلاً عن كونه عنصراً مهماً في إنتاج الأسمدة مع

وجود تأثير مباشر في الإمدادات الغذائية لسكان العالم ونموها وينبغي الانتباه إلى حصول نقص كبريت في المستقبل ما بعد سنة (٢٠٣٠) وذلك نتيجة للنمو السريع في مجال الطاقة المتجددة و الغاز الأحفوري لذلك يجب التركيز على استرداد الكبريت و الإفادة منه بوصفه عاملاً أساسياً في العديد من التقنيات (Wagenfeld *et al.*, 2019).

ومن اشكال الكبريت الصناعية

١- الشكل المعيني: مادة بلورية الشكل لونها أصفر ويحتوي هذا الشكل على ٨ ذرات مما يؤدي إلى تطابق و التصاق جزيئات الكبريت مع بعضها بدقة و إحكام (Cherdthong *et al.*, 2018).

٢- الشكل البلاستيكي أو غير المتبلور: شكل ناعم ولزج ولين وله القدرة على التمدد كالمطاط ، يتحول هذا الشكل إلى الشكل المعيني في درجة حرارة الغرفة (Cherdthong *et al.*, 2018).

آلية عمل الكبريت:

قد يكون سبب الاذى الدماغى بسبب تأثير المباشر المحتمل لمستقبلات الكبريت (Pean *et al.*, 1995)، ولحد الآن لم يتم إثبات الالية الدقيقة التي يؤدي بها الكبريتيد إلى تليين الدماغ في المجترات (PEM (Polio-encephalomalacia in ruminants) (Prašnikar and Likožar, 2022) يمنع الكبريتيد التنفس الخلوي بطريقة مشابهة للسينايد، عن طريق منع نشاط الساييتوكروم سي أو كسديز (cytochrome-coxidose) في سلسلة نقل الالكترتون ومن المتوقع أن الكبريتيد المنتج في الكرش الممتص في الدم يمكن أن يمنع استقلاب الطاقة في الخلايا العصبية وهذا ما يسبب نخرًا عصبياً بشكل مباشر أو يؤدي إلى نخر عن طريق التدخل في تدفق الدم الدماغى وخلق نقص تغذوي Ischemia، الاحتمال الآخر يرتبط مباشرة بالنمط الأنموذجي للنخر ويسبب تشنج الأوعية الدماغية، ومن الآثار الممرضة المحتملة الأخرى للكبريتيد هو تولد الجذور الحرة، إذ لا تعرف كيفية امتصاص الكبريتيد عبر الاغشية المبطنة للجهاز الهضمي Gastrointestinal mucosa والامتصاص عن طريق البطانة الداخلية للجهاز التنفسي pulmonary mucosa بعد استنشاق غاز كبريتيد الهيدروجين H₂S (Gauci *et al.*, 2004).

آلية التسمم العصبي بالكبريت:

يسبب تعرض خلايا الفأ-٢- العصبية و Pc12 لتراكيز قليلة (مايكرو مولارتي) من الكبريت زيادة عنصر الأوكسجين التفاعلي وانخفاض في تخليق ATP بإذ ينخفض التخليق الحيوي في المايوتوكونديريا لدماع الفئران من أكسدة الكلوتاميت Glutamet بوساطة الكبريتات كما عملت على زيادة تنفس الناقل العصبي الكلوتاميت من جهد غشاء المايوتوكونديريا ولكن الناتج من أكسدة الماليت ((Malate السكسينيت ولم يؤثر في (Succinate) وتم تثبيط زيادة معدل أنتاج ((NADPH من (NADP) الخارجي والكلوتاميت الخارجي المضاف إلى مستخلصات المايوتوكونديريا في دماغ الجرذان والفئران بوساطة الكبريت، وفشلت المايوتوكونديريا المحقونة مسبقاً مع الكبريتات في تقليل معدل أنتاج NAD وتم تثبيط الكلوتاميت الديهيدروجين glutamate dehydrogen GDH من مستخلص المايوتوكونديريا في دماغ الفئران (Zhang et al., 2004).

علامات التسمم بالكبريت:

يسبب التسمم بالكبريت ظهور علامات تشمل الترنح Ataxia، الإسهال Diarrhea، علامات عصبية وخمول و صداع Headach، تهيج Irritation، قلة في الإدراك وفي الحالات الحادة يؤدي إلى الموت (Beke and Hironaka, 1991) (Death)، إن نسبة الكبريت الموصى بها في العليقة هي ١٥،٠٪ من إجمالي المادة الجافة، وأن الحد الاقصى الموصى به هو ٤،٠٪. وأن كمية الكبريت الموجود في الماء قد تكون خطيرة عند مستوى ٥٠٠ جزء في المليون (Bulgin et al., 1996)، أما على مستوى الجهاز الهضمي هناك تأثير في الكرش في المجترات إذ يؤدي إلى التأثير في الغشاء المخاطي للكرش ويتلون الغشاء بلون رمادي غامق أو أسود نتيجة لاتحاده مع الحديد الأسود وكبريتات النحاس، وتظهر آفات على مستوى الجهاز العصبي تشمل تلين و تورم وتسطح التلافيف القشرية للدماغ وتلون الشريط القشري باللون الأحمر الشاحب (Baraj et al., 2022).

علاج حالات التسمم بالكبريت:

ويعد إبعاد الحيوانات عن مصادر الكبريت أهم تدابير السيطرة على حالات التسمم به، إذ أن حالات التسمم تحت الحاد بالكبريت يمكن أن تتعافى دون علاج، لذا يتعين إجراء فحص بأخذ عينات من دم الحيوانات بشكل دوري للحصول على فكرة رقيقة عن المدخول الغذائي للكبريت في جسم الحيوان.

يمكن علاج حالات التسمم بالكبريت بالمركبات العلاجية الآتية:

مضاد للالتهابات غير الدهني COX- Cyclo oxygen as، مضادات مناعية IL-
Interleukin، مضادا التهابية غير ستيرويدية NSAID-Nonsteroid-anti-inflammatory drug (Rose et al., 2018).

الإجهاد التأكسدي Oxidative Stress

دور الإجهاد التأكسدي في التغيرات الظاهرة على مستوى الجهاز العصبي المركزي:

الإجهاد التأكسدي هو زيادة كمية الجذور الحرة Free radicals في خلايا جسم الكائنات الحية نتيجة التعرض لمواد مؤكسدة كبروكسيد الهيدروجين H₂O₂ بسبب حدوث خلل في دفاعات الخلية الحيوية المضادة للأكسدة وأهمها الكلوتاثيون (GSH) الذي من Malondialdehyde والمالوندايديهايد (MDA) في أثناء قياس في بلازما الدم وفي أنسجة الجسم يتم الاستدلال على حدوث الإجهاد التأكسدي، مع أحداث خلل في مستوى الأنزيمات المضادة للتأكسد كالكاتاليز Catalase والكلوتاثيون بروكسيدز Glutathione Peroxidase والسوبر أوكسيد ديسميوتيز Superoxidase Dismutase، إذ تساعد هذه الأنزيمات في كشف حالات حدوث الجهد التأكسدي وتشخيصها

(عبد الرحمن، ١٩٩٥) (Dalle-Donne et al., 2006)

ويعمل الإجهاد التأكسدي على إحداث خلل وعدم توازن بين العمليات الكيميائية حيوية المنتجة لمواد تحوي الأوكسجين الفعال Reactive Oxygen Species ROS، وبين عمليات التخلص من الأوكسجين الفعال وهي ما يعرف بسلسلة مضادات الأكسدة (Sayre et al., 2008)(Achuba et al., 2005).

الجهاز العصبي المركزي من أهم الأجهزة في الجسم لكونه يختلف عن بقية الأجهزة بأنه معرض بشكل أكبر لحدوث إجهاد تأكسدي فيه وهذا راجع إلى احتياجه العالي والمستمر

للأوكسجين ولاحتوائه على كمية عالية من الدهون المتعددة غير المشبعة ولكون إجزائه الخلوية كبيرة الحجم (الدهون والكاربوهيدرات والبروتينات والأحماض النووية معرضة بشدة للتأكسد) (Achuba *et al.*, 2005; Sayre *et al.*, 2008).

القياسات الكيمياء حيوية التي تتأثر بحدوث الإجهاد التأكسدي

أهم العلامات الكيمياء حيوية على وجود جهد تأكسدي هي مستوى الكلوتاثيون والمالوندايالديهيد. يتكون الكلوتاثيون من ثلاث سلاسل ببتيدية مرتبطة بالكبريت تتوزع في جسم الكائن الحي ويلعب دورا في وظيفة الخلية الأيضية، إذ يعمل على إزالة سمية الجذور الحرة الناتجة عن العمليات الأيضية، إذ ينخفض تركيزه في حالة وجود جهد تأكسدي داخل جسم الكائن الحي (Pastore *et al.*, 2003)

كما يرتفع مستوى المالوندايالديهيد في حال وجود جهد تأكسدي وذلك بسبب تحكم أغشية الخلايا المحتوية على الدهون غير المشبعة وهو ناتج عملية بيروكسيد الدهون (Achuba *et al.*, 2005).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

الحيوانات المختبرية:

في هذه الدراسة، استعملنا ما يقارب ١٥٠ فأراً (ذكور وإناث) مختبرية، بيضاء اللون سويسرية الاصل تمت تربيتها في مختبرات كلية الطب البيطري في جامعة الموصل، تراوحت أوزان هذه الفئران ما بين ٢٥-٣٨ غم وقد تم مراعاة كون أوزان الفئران متقاربة ضمن التجربة الواحدة. تربت الفئران في ظروف مختبرية تميزت بدورة ضوئية توزعت على ١٠ ساعات ضوء و ١٤ ساعة ظلام وكانت درجة حرارة بيت الحيوانات الذي تمت فيه التربية $22 \pm$ درجة مئوية وتربت الفئران في أقفاص بلاستيكية خاصة معدة لهذا الغرض مزودة بالماء والعلف بكميات وفيرة وبشكل متواصل طوال اليوم، وتم توفير العلف المختبري من المعامل المحلية لإنتاج العلف الحيواني في مدينة الموصل.

الأدوية والمواد الكيماوية المستخدمة:

١. الكبريت النقي Sulfur صنع شركة (Merchand Darmstadt) ألمانيا.
٢. ثلاثي كلور حامض الخليك ٩٩٪ Trichloroacetic acid صنع شركة (Sigma - AldRich) أمريكا .
٣. فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم ٩٩,٥٪ Disodium hydrogen phosphate (Na₂Hpo₄) صنع شركة (BDH Chemicals Ltd) بريطانيا .
٤. التوين ٨٠ Tween صنع شركة (Analyt) إنكلترا.
٥. دي تي أن بي ٩٨% (5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid) or (DTNB) صنع شركة (Fluka Chemical AG Buchs-SC) سويسرا .
٦. ثلاثي سترات الصوديوم Tri Sodium Citrate صنع شركة (Fluka Chemical AG Buchs-SC) سويسرا.
٧. هيبارين الصوديوم (Heparin Sodium) (٢٥٠٠٠ وحدة دولية / مل) صنع شركة (B/Braun Melsungen AG) ، ألمانيا.

٨. الكلوتاثيون L-Glutathione صنع شركة (Fluka Chemical AG Buchs-SC) سويسرا.
٩. الزايلازين ٢٪ Xylazine صنع شركة (Inter chemie) هولندا.
١٠. الكيتامين ١٠٪ Ketamiin صنع شركة (Dutch Farm) هولندا.
١١. الايثر ٩٨٪ Ether صنع شركة (Thomas Baker Limited) إنكلترا.
١٢. المحلول الملحي الفسلجي Physiological normal saline إنتاج معمل محاليل الزرق الوريدي، الموصل، العراق.

الأجهزة المستعملة:

١. الحمام المائي Water bath صنع شركة Memmert، ألمانيا.
٢. جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer صنع شركة Cecil، إنكلترا.
٣. جهاز الطرد المركزي Centrifuge، صنع شركة Centurion Ltd، إنكلترا.
٤. الميزان الإلكتروني الحساس صنع شركة A and D Company Ltd اليابان.
٥. جهاز الجانسة الكهربائي (Omni Bead Ruptor 24 Homogenizer) أمريكا.

العدد التشخيصية المستعملة:

١. عدة قياس الكلوكوز Glucose assay kit ، إنتاج شركة Bicon ، ألمانيا.
٢. عدة قياس فعالية أنزيم ناقلة أمين الألبان ALT إنتاج شركة Biolabo فرنسا.
٣. عدة قياس فعالية أنزيم ناقلة أمين الأسبارتيت AST إنتاج شركة Biolabo فرنسا.
٤. عدة قياس المالونديالديهيد Malondialdehyd assae kit ، إنتاج شركة Elabscience أمريكا.

تحضير الكبريت:

تم مزج أوزان جرع الكبريت بالماء المقطر والتوين ٨٠ بحجم ١٠ مليلتر/كغم من وزن الجسم لتسهيل عملية تجريعه للفئران لكونه مسحوق مادة صعب الذوبان والامتزاج حيث ان مادة التوين ٨٠ تساعد في عملية ذوبان وامتزاج الكبريت مع الماء المقطر حيث يتكون مزيج غرواني قابل للتجريب ويسهل ابتلاعه من قبل الفئران. (Okino et al., 2013;Pan et al., 2014)

جمع عينات الدم واستخراج الأعضاء:

جمع عينات الدم

جُمع الدم بعد تخدير الفئران بالايثر Ether وسُحب عن طريق الضفيرة الوريدية للعين باستعمال الأنابيب الشعرية Capillary tubes (مصطفى، ٢٠١٨) وبعدها نقلت عينات الدم إلى أنابيب مختبرية زجاجية جافة ومعقمة مع مراعاة عملية غمر الأنابيب في مجروش الثلج لحين نقلها إلى جهاز الطرد المركزي لفصل البلازما بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ دقيقة ولمدة ١٥ دقيقة ثم، تم فصل البلازما في عبوات نظيفة ومعقمة حفظت اما بالتجميد بدرجة حرارة -١٨ مئوية أو أستعملت مباشرة في القياسات المذكورة لاحقاً.

استخراج الاعضاء وحفظها:

استخراج الدماغ

تم فتح جمجمة الفئران بعد تخديرها وقتلها واستعمل المشرط والملقط والمقص لغرض استخراج الدماغ بأكمله ثم وضعت الأدمغة في أكياس بلاستيكية نظيفة أو لفت بورق المنيوم ثم تم حفظها بالتجميد عند درجة حرارة - ١٨ درجة مئوية لحين إجراء التجارب والقياسات الخاصة بها.

استخراج الكبد

تم فتح البطن واستخراج الكبد ووضعها منفصلاً في أكياس بلاستيكية نظيفة تم لفها بورق المنيوم وتم حفظ العينات بالتجميد بدرجة حرارة - ١٨ درجة مئوية لحين إجراء القياسات الخاصة بها.

تمت عملية سحن ومجانسة كل من الدماغ و الكبد باستعمال جهاز الجانسة الكهربائية ولمدة ٢/١ دقيقة عند سرعة ٤٠٠ دورة/ دقيقة لأنسجة الدماغ والكبد وكانت أنبوبة جهاز الجانسة مغمورة في الثلج في أثناء عملية المجانسة وتم فصل الراشح وحفظ في أنابيب مختبرية زجاجية جافة ومعقمة و تم تجميدها لحين استعمالها في القياسات الخاصة بكل عضو.

التجارب

التجربة الأولى:

تحديد الجرعة المميتة الوسطية (الجم-٥٠) LD_{50} Median lethal dose للكبريت في الفئران عن طريق الفم باستعمال طريقة الصعود والنزول (Up and Down method) (Dixon,1980)

أجريت تجارب أولية عديدة على الفئران من اجل التوصل إلى جرعة مناسبة بدأنا باستعمالها في تجاربنا اللاحقة على الكبريت إذ تم استعمال ٥ فئران (ذكور وإناث) وبأوزان تراوحت ما بين ٢٧ - ٣٦ غم ، تم اختيار جرعة ٣٢ غم / كغم من وزن الجسم من الكبريت كجرعة أولى في اليوم الأول (وبسبب قلة سمية عنصر الكبريت وصعوبة إذابته ومزجه في ١٠ مل من الماء المقطر و التوين ٨٠ ، قمنا بتقسيم الجرعة على اربعة أقسام بتجريع الفار ٨ غم / كغم من وزن الجسم كل ساعة، وتم تكرار تجريع الفئران بالجرع نفسها لأربع مرات متتالية) لتحديد الجرعة المميتة الوسطية للكبريت بطريقة الصعود والنزول إذ كانت نسبة الصعود والنزول في إثناء ٢٤ ساعة في الفئران بنسبة ١٢,٥٪ من الجرعة الأولى، ثم جرعت الفئران بجرع مختلفة من الكبريت صعوداً ونزولاً للوصول إلى الجم-٥٠ ساعة واحدة وبعد أنتهاء التجريع تم تسجيل علامات التسمم التي ظهرت على الفئران مباشرة، ثم قرئت النتيجة لكل حيوان على حدة بعد مرور ٢٤ ساعة والتي تمثلت بالحياة أو موت الفأر. ثم حسب الجم-٥٠ بالاعتماد على جدول دكسون الوارد في الملحق (١) باستعمال المعادلة الآتية:

O : بقاء الفار حياً في أثناء ٢٤ ساعة.

X : موت الفار في أثناء ٢٤ ساعة.

$$LD_{50} = xf + kd$$

xf : تمثل آخر جرعة مستعملة.

k : القيمة الجدولية.

d : مقدار النقصان أو الزيادة في الجرعة المعطاة

التجربة الثانية:

تحديد الجرعة المميتة التقريبية (ALD) للكبريت بالتجريب عن طريق الفم في الفئران باستعمال طريقة **Deichman (Depass,1989)**

جرعت ٥ فئران (ذكور وإناث) بالكبريت ، تراوحت أوزانها ما بين (٢٧-٣٨) غم بجرعة (١٦) غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم وهذه الجرعة تمثل ما يقارب (٥٠٪) من الجرعة المميتة الوسطية للكبريت وتمت مراقبة الفئران في أثناء ساعتين بعد التجريب وتسجيل أية علامة من علامات التسمم التي ظهرت على الفئران و بعد ٢٤ ساعة تمت قراءة النتائج المتمثلة ببقاء الفأر على قيد الحياة أو موته، وعند بقاء الفأر على قيد الحياة تم تجريب فأر آخر بالجرعة المميتة السابقة مضروبة بالرقم ١,٥ وبتابع الأسلوب نفسه عدة مرات تم الوصول إلى الجرعة المميتة التقريبية للكبريت التي يحدث عندها موت الفأر.

التجربة الثالثة :

التغيرات السلوكية العصبية والكيميا حيوية المحدثه بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

أستعمل في هذه التجربة ٣٠ فار (ذكور وإناث) تراوحت أوزانها ما بين ٢٥-٣٢ غم، قسمت الفئران على ثلاث مجاميع بواقع ٥ فئران لكل مجموعة وجرعت كالاتي:

- المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة) جرعت بالماء المقطر و التوين ٨٠ عن طريق الفم.
- المجموعة الثانية: جرعت بالكبريت ٤ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.
- المجموعة الثالثة: جرعت بالكبريت ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.

أ. تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم

في السلوك العصبي و الحركي في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

بعد مرور ٤ و ٢٤ ساعة من وقت تجريب الفئران كما موضح أعلاه اخذت القياسات السلوكية العصبية والحركية لكل فأر كل على حدة في غرفة هادئة بعيدة عن الضوضاء واجريت القياسات على النحو الآتي:

١- قياس النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح **Open-field activity**
(Moser et al.,1988; Molinengo et al.,1989)

شمل هذا الاختبار حساب عدد المربعات المقطوعة Squares crossed وعدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية Rearing في أثناء ٣ دقائق ، وتم الاختبار باستعمال صندوق خشبي مصنع محلياً بالأبعاد (٣٥×٣٥×٢٥سم) ، قاعدته مقسمة على ٢٥ مربع متساوية القياس ، طول ضلع كل مربع ٧سم ، وضع الفأر المراد قياس نشاطه الحركي وسط الصندوق وتم حساب عدد المربعات التي يقطعها الفأر بأرجله الأربع وعدد مرات الوقوف على قوائمه الخلفية ، (الشكل (٢) أ، ب)



أ-المربعات المقطوعة Squares crossed ب-الوقوف على القوائم الخلفية Rearing
الشكل (٤): صندوق قياس النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح

٢- اختبار الإنتحاء الأرضي السالب **Negative geotaxis** :

يبين هذا الاختبار التوازن العصبي العضلي والوظيفة الدهليزية function Vestibular في الفئران، ويتم إجراء اختبار الإنتحاء الأرضي السالب باستعمال سطح خشبي خشن مائل بزاوية بدرجة ٤٥ درجة (Mohammad and St. Omer.,1986)، إذ وضع رأس الفأر إلى أسفل اللوح الخشبي بشكل طولي ثم حسب الوقت اللازم لاستدارة الفأر بكامل جسمه بدرجة ١٨٠ درجة باتجاه اعلى السطح المائل ويعطى لكل فأر ٦٠ ثانية كحد اقصى لاستدارته بشكل كامل . (الشكل (٣) أ، ب).



(ب)



(أ)

الشكل (٣): مقياس الإنتحاء الأرضي السالب Negative geotaxis

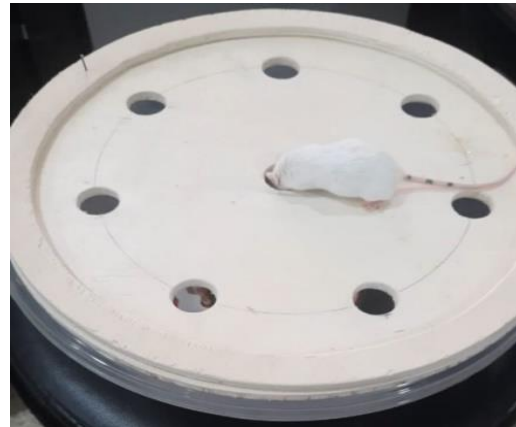
٣- اختبار عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب **Head poking**:

(Reiter and Macphail.,1979; Soni and Parle., 2017)

يبين هذا الاختبار مدى فضول الفأر المعامل وحركته، أجرى هذا الاختبار باستعمال سطح بلاستيكي دائري قطره ٣٠ سم ذي حافة صغيرة بارتفاع ١٠ سم يحتوي على ٨ ثقوب دائرية قطر كل ثقب ٢ سم ، يبدأ القياس بوضع الفأر في وسط السطح الدائري المثقب ثم حُسب عدد المرات التي يدخل فيها الفأر رأسه في الثقوب لمدة ٣ دقائق. (الشكل (٤) أ، ب)



(ب)

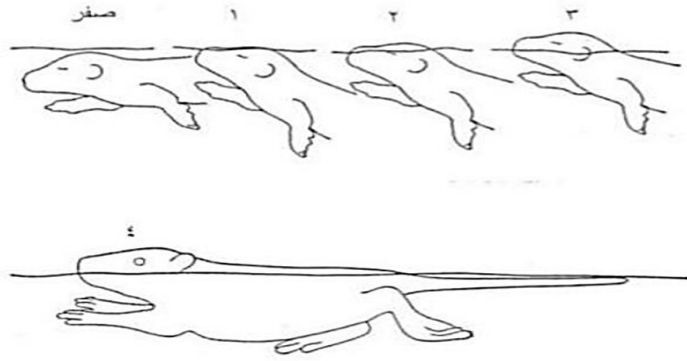


(أ)

الشكل (٤) : مقياس إدخال الرأس في الثقوب (البكوع، ٢٠٠٢)

٤- اختبار السباحة (Schapiro et al.,1970) : Swimming test

يبين هذا الاختبار مدى استجابة الفأر المعامل لحالات الإجهاد التي تحتاج إلى تنظيم وتوازن بين الجهاز العصبي المركزي والاستجابة العصبية العضلية ، يتم الاختبار بوضع كل فأر على حدة في حوض زجاجي فيه ماء بارتفاع ٣٠سم ودرجة حرارة الماء ما بين ٢٩-٣٠ درجة مئوية وضع الفأر فيه لمدة ٥-١٠ ثوان وتمت مراقبة الفأر أثناء سباحته، ومن ثم سُجلت مراتب مختلفة للسباحة حسب درجة تأثير الفأر المعامل وتمثل المراتب ما يأتي: الشكل(٥).



الشكل (٥): مراتب اختبار السباحة (Mohammed, 1984)

صفر: الأنف تحت الماء .

- ١ . الأنف مع مستوى سطح الماء أو فوقه .
- ٢ . الأنف وقمة الرأس مع أو أعلى من مستوى الماء مع بقاء الأذنين تحت الماء .
- ٣ . كما في ٢ ماعدا أن الماء يصل إلى منتصف مستوى الأذن .
- ٤ . كما في ٣ ماعدا أن الماء يصل إلى قاعدة الأذن .



(ب)



(أ)

الشكل(٦): حوض اختبار السباحة

ب - تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مستوى كلوكوز الدم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة
كأن الغرض من هذا الجزء من التجربة معرفة تأثيرات الكبريت بجرع مختلفة على مستوى كلوكوز الدم في الفئران.

بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة خدرت الفئران وجمعت عينات الدم لقياس مستوى الكلوكوز في بلازما دم الفئران بالاستعانة بعدة قياس الكلوكوز (Kit)، باستعمال جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي ٥٤٦ نانوميتر، تم حساب تركيز الكلوكوز في الدم باستعمال المعادلة الآتية:

$$\text{تركيز الكلوكوز (ملغم/١٠٠ مل)} = \frac{\text{قيمة الامتصاص الضوئي للعينة (المجهولة)}}{\text{قيمة الامتصاص الضوئي للعينة القياسية}} \times \text{تركيز العينة القياسية (١٠٠ ملغم /مل)}$$

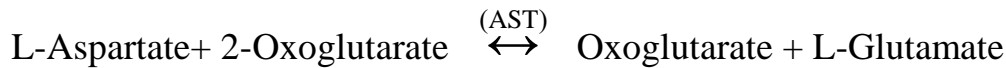
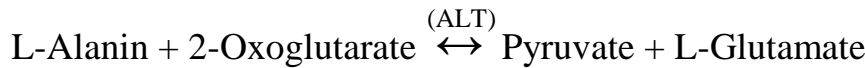
ج- تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في فعالية أنزيم ناقلة أمين الألنين ALT وناقلة أمين الأسبارتيت AST في بلازما دم الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

كأن الغرض من هذا الجزء من التجربة معرفة تأثيرات الكبريت بجرع مختلفة في فعالية ناقلة أمين الألنين وناقلة أمين الأسبارتيت في الفئران .

بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة خدرت الفئران وجمعت عينات الدم لقياس فعالية ناقلة أمين الألنين وناقلة أمين الأسبارتيت في البلازما باستعمال عدتي القياس الخاصتين بهما ALT و AST .

قياس فعالية أنزيم ناقلة أمين الألنين ALT في بلازما دم الفئران

قيست فعالية أنزيم ناقلة أمين الألنين عند طول موجي ٣٤٠ نانوميتر بالاعتماد على التفاعلات الآتية:



وقيس التغير في الامتصاص اللوني كل دقيقة لمدة ٣ دقائق وحساب نشاط الأنزيم

باستعمال المعادلة الآتية: (Tietz,2012)

فعالية أنزيم ALT وAST = التغير في درجة الامتصاص / دقيقة $\times 1746$ ، ويعبر عن النتيجة بوحدة دولية / لتر من البلازما .

التجربة الرابعة:

تأثير إعطاء الكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في السلوك الحركي والعصبي و مستوى الكلوتاثيون والمالوندايالديهيد في بلازما دم و دماغ وكبد الفئران بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة (Redfern *et al.*, 2013)

صممت هذه التجربة لبيان تأثير الكبريت طويل الأمد في نشاط الفئران الحركي داخل الميدان المفتوح وبعض القياسات السلوكية العصبية، فضلاً عن تأثيره في مستوى الكلوتاثيون الذي يعد خط الدفاع الأول ضد الأذى التأكسدي المحدث بالكبريت فضلاً عن قياس مستوى المالوندايالديهيد في بلازما الدم و دماغ و كبد الفئران للاستدراك على حالة الإجهاد التأكسدي المحدث بعنصر الكبريت.

قسم ٢٨ فأر على اربع مجاميع كل مجموعة احتوت ٧ فئران (ذكور و إناث) تراوحت أوزانها ما بين (٢٥-٣٨) غم وعوملت على النحو الآتي:

- المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة) جرعت بالماء المقطر + التوين ٨٠ عن طريق الفم.
- المجموعة الثانية: جرعت بالكبريت ١ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.
- المجموعة الثالثة: جرعت بالكبريت ٢ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.
- المجموعة الرابعة: جرعت بالكبريت ٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.

أ- تأثير إعطاء الكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في السلوك العصبي والحركي في الفئران بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة

عوملت الفئران بالمعاملة الأولى لمدة ٦ ايام متتالية وفي اليوم السابع سجلت قياسات الاختبارات السلوكية العصبية والحركية وهي على النحو الآتي:

١. النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح (عدد المربعات المقطوعة وعدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية / ٣ دقائق).
٢. اختبار الإنتحاء الأرضي السالب.
٣. اختبار عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب.

٤. اختبار قدرة التحمل وقياس الإرهاق (تحدي السباحة) Swimming endurance
في هذا الاختبار يتم التعرف على قدرة تحمل الفأر إذ يتم وضع الفأر في حوض
السباحة وحساب الوقت من بدء وضعه في الحوض لحين ظهور علامات الإجهاد والتوقف عن
السباحة ، بعدها تم إكمال التجريع إلى اليوم ١٣ وفي اليوم ١٤ تم تسجيل نتائج الاختبارات
السلوكية العصبية والحركية مرة ثانية و المذكورة أعلاه ، وبعد ذلك تم تخدير الفئران بمادة
الأثير لسحب الدم وفصلت البلازما وتم استخراج الكبد والدماغ ووضعت في التجميد لحين
قياس مستوى الكلوتاثيون والمالوندايديهايد فيها (Fushiki et al., 1995).

ب- قياس مستوى الكلوتاثيون في بلازما دم ودماع وكبد الفئران المعاملة بالكبريت
تم قياس مستوى الكلوتاثيون في بلازما الدم باستعمال طريقة المان المحورة
(James et al., 1982).

وهي كما يأتي:

المحاليل المستعملة

١. محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور TCA (٦٪) .
٢. محلول دارى فوسفات الصوديوم (٣٪) مولاري Na₂Hpo₄ .
٣. محلول دارى ثلاثي سترات الصوديوم (١٠٪) Trisodium citrate buffer .
٤. كاشف DTNB (٠,٠٤٪) ٥,٥- ثنائي ثايوبس (٢- نايترو حامض البنزويك)
5,5- Dithiobis nitro benzoic acid في محلول دارى ثلاثي سترات الصوديوم
المحضر آنفاً يحضر أنياً في اليوم نفسه القياس مع مراعاة حفظ جميع المحاليل في الثلاجة
بدرجة ٤ درجة مئوية.

طريقة العمل:

يعتمد مبدأ التفاعل على تفاعل DTNB (كاشف المان) مع الكلوتاثيون الموجود في
العينة ، والذي يكون معقداً لونياً ذا لون أصفر- ذهبي ، إذ تعتمد شدة هذا اللون على تركيز
الكلوتاثيون وتقاس شدة هذا اللون باستعمال جهاز المطياف الضوئي.

تم قياس تركيز الكلوتاثيون في كل من بلازما دم و دماغ وكبد الفئران بطريقة المان
المحورة من قبل (James et al, 1982)، اذ يسحن أو يجانس الدماغ والكبد في محلول حامض
الخليك ثلاثي الكلور TCA بمقدار (٥مل/٠,٥غم) كبد و (٢,٥ مل/ ٠,٥غم) دماغ بجهاز
الجانسة الكهربائية عند سرعة ٤٠٠ دورة بالدقيقة لمدة ٣٠ ثانية ثم نقلت العينات إلى أنابيب

اختبار مغمورة في الثلج المجروش لتوضع بعد ذلك في جهاز الطرد المركزي لمدة ١٥ دقيقة بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ دقيقة ثم اخذ الراشح Supernatant من كل عينة لاستعماله لاحقا في تقدير مستوى الكلوتاثيون.

تقدير مستوى الكلوتاثيون:

يتم في كل أنبوبة وضع ٠,٥ مليلتر من الجزء الراشح لكل عينة، من جهة أخرى يوضع في أنبوبة الكفاء blank ٠,٥ مليلتر من الماء المقطر ويضاف عليها ٢ مليلتر من محلول دارى فوسفات الصوديوم المجهز أعلاه ثم رجت الأنابيب بشكل جيد وأضيف إلى كل منها ٠,٥ مليلتر من محلول كاشف DTNB ورجت جيدا ثم تركت لمدة ٥ دقائق بدرجة حرارة الغرفة، بعدها تم قياس امتصاصية العينات مقابل قراءة امتصاصية الكفاء باستعمال جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي ٤١٢ نانوميتر.

لحساب التركيز النهائي للكلوتاثيون في الدماغ والكبد تم تحضير تراكيز قياسية Standard مختلفة من الكلوتاثيون (٠,٠٠٣١٢، ٠,٠٠٦٢٥، ٠,٠١٢٥، ٠,٠٢٥، ٠,٠٥، ٠,١، ٠,٢، ٠,٥ ملغم/٠,٥ مل) وتم قراءة امتصاصية هذه المحاليل بعد معاملتها كما ذكر سابقا (يتم وضع تراكيز معلومة من الكلوتاثيون بدل العينة وبحجم ٠,٥ مليلتر)، يحسب تركيز الكلوتاثيون في العينات المعاملة باستعمال المنحني القياسي لهذه التراكيز، كما تم استعمال معادلة الأنحاء الخطي البسيط Simple Liner Regression للتركيز القياسي لايجاد تركيز الكلوتاثيون المجهول في العينة، تكون النتيجة النهائية بالمايكرومول/غم من نسيج الدماغ والكبد و كما يأتي:

$$y = a + bx$$

إذ أن:

$y =$ تمثل امتصاصية العينة عند طول موجي (٤١٢ نانوميتر).

$a =$ تمثل نقطة تقاطع المحور الرأسي للتركيز القياسي Intercept.

$b =$ تمثل ميل خط الأنحدار للتركيز القياسي Slope.

$x =$ تمثل تركيز الكلوتاثيون المجهول في العينة.

تم حساب نسبة الأنحدار في تركيز الكلوتاثيون بسبب تأثير الكبريت على وفق المعادلة

الآتية:

معدل تركيز كلوتاثيون مجموعة السيطرة - معدل تركيز كلوتاثيون المجموعة المعاملة

$$= \frac{\text{معدل تركيز كلوتاثيون مجموعة السيطرة}}{\text{معدل تركيز كلوتاثيون المجموعة المعاملة}} \times 100\%$$

معدل تركيز كلوتاثيون مجموعة السيطرة

تم تقدير تركيز الكلوتاثيون في عينات بلازما الدم في اليوم ١٤ من المعاملة بالخطوات نفسها المذكورة سابقاً في قياس تركيز الكلوتاثيون في نسيج الدماغ والكبد (ما عدا خلو الطريقة من مجانسة الدماغ و الكبد مع محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور).

ج- قياس مستوى المالوندايالديهيد في بلازما دم ودماغ وكبد الفئران المعاملة بالكبريت تم تقدير مستوى وتركيز المالوندايالديهيد في عينات البلازما ودماغ وكبد الفئران في اليوم ١٤ من المعاملة باستعمال عدة قياس المالوندايالديهيد بعد تحضيرها كما جاء في أعلاه

طريقة قياس مستوى المالوندايالديهيد: (Ohkawa et al., 1979)

تم القياس باستعمال عدة القياس الخاصة (MDA kit) بالطريقة اللونية باستعمال جهاز المطياف الضوئي لقياس الامتصاصية عند الطول الموجي ٥٣٢ نانوميتر. باستعمال المعادلة الآتية لحساب مستوى المالوندايالديهيد في بلازما الدم:

$$\text{مستوى المالوندايالديهيد (نانومول/ملغم بروتين)} = \frac{\text{الكثافة الضوئية في العينة} \cdot \text{الكثافة الضوئية في مجموعة السيطرة}}{\text{الكثافة الضوئية للمحلول القياسي} \cdot \text{الكثافة الضوئية للكفاء}} \times \text{التركيز}$$

القياسي في ١٠ نانومول/ملليتر × معامل تخفيف العينة قبل الفحص

باستعمال المعادلة الآتية لحساب مستوى المالوندايالديهيد في نسيج الدماغ و الكبد:

$$\text{مستوى المالوندايالديهيد (نانومول/ملغم بروتين)} = \frac{\text{الكثافة الضوئية في العينة} \cdot \text{الكثافة الضوئية في مجموعة السيطرة}}{\text{الكثافة الضوئية للمحلول القياسي} \cdot \text{الكثافة الضوئية للتركيز}} \times \text{التركيز}$$

القياسي في ١٠ نانومول/ملليتر × معامل تخفيف العينة قبل الفحص ÷ تركيز البروتين في العينة ملغم بروتين/ملليتر

معادلة حساب نسبة الارتفاع في مستوى المالوندايالديهيد:

$$= \frac{\text{معدل تركيز المالوندايالديهيد في المجموعة المعاملة} - \text{معدل تركيز المالوندايالديهيد في مجموعة السيطرة}}{\text{معدل تركيز المالوندايالديهيد في مجموعة السيطرة}} \times 100\%$$

معدل تركيز المالوندايالديهيد في مجموعة السيطرة

التجربة الخامسة:

التحدي الدوائي بالزايلازين والكيثامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم

من أجل الكشف عن التأثيرات الكامنة والمخفية للكبريت على وظائف الجهاز العصبي المركزي ولإظهار أي خلل قد يحصل في توازن الجهاز العصبي المركزي في الفئران قمنا باستعمال خليط الزايلازين والكيثامين بوصفه مخدراً عاماً في الفئران (Short and Bufalari, 1999; Massey and Richerson, 2017) ، تم استعمال ٣٠ فأراً (ذكور وإناث) قسمت الفئران على ثلاث مجاميع عشوائية، احتوت كل مجموعة على ١٠ فئران تراوحت أوزانهم ما بين (٢٥-٣٣) غم عوملت على النحو الآتي:
المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة) جرعت بالماء المقطر + التوين ٨٠ عن طريق الفم.

بعد ٣٠ دقيقة تم حقن الزايلازين ٥ ملغم/كغم من وزن الجسم + الكيثامين ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم في الخلب.

المجموعة الثانية: جرعت بالكبريت ٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.

بعد ٣٠ دقيقة تم حقن الزايلازين ٥ ملغم/كغم من وزن الجسم + الكيثامين ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم في الخلب.

المجموعة الثالثة: جرعت بالكبريت ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم.

بعد ٣٠ دقيقة تم حقن الزايلازين ٥ ملغم/كغم من وزن الجسم + الكيثامين ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم في الخلب.

وبعد الإنتهاء من المعاملات جميعها تمت مراقبة الفئران وسجل وقت بدء التخدير (التمثل بفقدان منعكس تصحيح وضع الجسم Loss of righting reflex) وطول مدة التخدير.

التجربة السادسة:

متابعة التغيرات السلوكية العصبية والكيمياء حيوية المحدثّة بالكبريت في الفئران

(Feldman, 1999)

من أجل التعرف على تأثيرات السموم العصبية يستعمل اختبار التتبع Follow up-Testing أو متابعة التأثيرات والتغيرات السلوكية والكيمياء حيوية لكشف طول أمد هذه التغيرات و حدوث التعافي في الفئران بعد مرور ١٤ يوماً من المعاملة. قسم ٣٢ فاراً (ذكور وإناث) عشوائياً إلى مجموعتين بواقع ١٦ فار لكل مجموعة تراوحت أوزانها ما بين (٢٨-٣٤) عوملت على النحو الآتي:

المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة) جرعت بالماء المقطر + التوين ٨٠ عن طريق الفم. المجموعة الثانية : جرعت بالكبريت ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم .

تم تكرار معاملة الفئران بجرعة ٨ غم/كغم من وزن الجسم لمرتين بين جرعة وأخرى ساعة (لتصبح الجرعة الكلية التي أخذها الفار ١٦ غم /كغم من وزن الجسم) وبعد مرور ٢٤ ساعة تم إجراء الفحوصات على نصف عدد الفئران (٨ فئران)، وتم تسجيل العلامات السلوكية العصبية من في أثناء إجراء اختبار النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح (حساب عدد المربعات المقطوعة / ٣ دقائق وحساب عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية / ٣ دقائق)، بعد ذلك تم تخدير الفئران وسحب الدم من الضفيرة العينية وفصلت البلازما و حفظت بالتجميد بدرجة -١٨ درجة مئوية لحين إجراء قياسات (ALT وAST) عليها باستعمال عدد القياس الخاصة بها، كما تم استخراج الدماغ ووضعه في التجميد لحين سحنه (سُنح الدماغ بجهاز الجانسة الكهربائي ثم فصل النسيج الدماغي بجهاز الطرد المركزي للحصول على المحلول الرائق من العينة) لقياس مستوى الكلوتاثيون في نسيج الدماغ، وبعد مرور ١٤ يوماً من معاملة الفئران تم قياس الاختبارات السلوكية العصبية السابقة الذكر أعلاه مرة ثانية للعدد المتبقي من الفئران (٨ فئران) لكل مجموعة ثم تم تخدير الفئران وسحب الدم من ضفيرتها العينية ووضع في أنابيب في جهاز الطرد المركزي للحصول على البلازما التي تم حفظها بالتجميد بدرجة -١٨ درجة مئوية لحين إجراء الفحوصات السابقة الذكر عليها، كما تم استخراج الدماغ ووضعه في التجميد لحين سحنه (سُنح الدماغ بجهاز الجانسة الكهربائي ثم فصل النسيج الدماغي بجهاز الطرد المركزي للحصول على المحلول الرائق من العينة) لقياس الكلوتاثيون في نسيج الدماغ كما ذكر سابقاً.

التحليل الاحصائي:

حللت النتائج المعلمية parametric إحصائياً باستعمال اختبار التباين One way analysis of variance و Two way analysis of variance ثم أخضعت النتائج لاختبار الفرق المعنوي الأدنى Least significant difference test اعتماداً على برنامج التحليل الإحصائي Sigma plot، وكان مستوى الاختلاف المعنوي للاختبارات كافة عند مستوى احتمال (أ) أقل من ٠,٠٥ .

الفصل الرابع

النتائج

Result

التجربة الأولى:

تحديد الجرعة المميتة الوسطية (الجم-٥٠) Median lethal dose (LD₅₀) للكبريت في الفئران عن طريق الفم باستعمال طريقة الصعود والنزول (Up and Down method) (Dixon,1980)

حددت الجرعة المميتة الوسطية (الجم-٥٠) للكبريت في الفئران عن طريق التجريع بالفم باستعمال طريقة الصعود والنزول وبعد إعطاء جرعة مختلفة من الكبريت، كانت الجرعة المميتة الوسطية (٣٣,٢٢ غم/كغم) من وزن الجسم عن طريق الفم، مع ظهور علامات التسمم على الفئران المعاملة بالكبريت والتي تمثلت بالاكتئاب Depression، صعوبة البلع Gaspng، أنتصاب الشعر Piloerection، صعوبة التنفس Dyspnea والرجفة Tremor وأظهرت بعض الحيوانات منعكس التمطي Righthing reflex فضلاً عن التحزم العضلي Muscle fasciculation وأنتصاب الذيل Straub tail والاختلاجات العصبية Convulsions واخيرا الموت Death في الجرعة العالية السمية . الجدول (١) والملحق (١).

الجدول (١): الجرعة المميتة الوسطية للكبريت بالتجريع الفموي في الفئران.

القياسات	النتيجة
الجرعة المميتة الوسطية للكبريت	٣٣,٢٢ غم /كغم من وزن الجسم
مدى الجرعة	١٦-٤٨ = ٣٢ غم/كغم من وزن الجسم
أول جرعة	٣٢ غم / كغم من وزن الجسم
آخر جرعة	٣٢ غم/كغم من وزن الجسم
مقدار الصعود والنزول بالجرعة	٤ غم/كغم من وزن الجسم
مقدار القيمة الجدولية	٠,٣٠٥-
عدد الفئران	X O O X O (٥)
علامات التسمم	اكتئاب ، صعوبة البلع ، أنتصاب الذيل ، أنتصاب الشعر ، الرجفة ، صعوبة التنفس ، التحزم العضلي ، الاختلاجات العصبية والموت .

التجربة الثانية :

تحديد الجرعة المميتة التقريبية (ALD) للكبريت بالتجريب عن طريق الفم في الفئران باستعمال طريقة (Depass,1989)Deichman

تم إيجاد الجرعة المميتة التقريبية للكبريت في الفئران باستعمال طريقة دجمان ، إذ كانت أقل جرعة أدت إلى ظهور علامات التسمم الحاد (اكتئاب وصعوبة البلع وأنتصاب الذيلو أنتصاب الشعروالرجفة، وصعوبة التنفسوالتحزم العضلي والاختلاجات العصبية) وموت الحيوان في أثناء ٢٤ ساعة هي (٣٦غم/كغم) من وزن الجسم عن طريق الفم.

التجربة الثالثة:

التغيرات السلوكية العصبية والكيميا حيوية المحدثه بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

أ- تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في السلوك العصبي و الحركي في الفئران

أدى إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم إلى إحداث تغيرات سلوكية حركية في الفئران بعد ٤ ساعات من المعاملة اذ عملت هذه الجرعة على تقليل النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح الذي شمل انخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة من قبل الفئران في أثناء ٣ دقائق بكلتا الجرعتين (٦,٣±٧٩,٢) (٤,٩±٦٨,٦) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (١,٥±١١١,٨) ، كما أنخفض معنوياً عدد المربعات المقطوعة داخل الميدان المفتوح بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من الجسم (٥,٧±٨١) (٦,٦±١٠١,٨) على التوالي بعد ٢٤ ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة (٣,٩±١٢٦,٦) الجدول (٢) والملحق (٢، أ)، وعند مقارنة نتائج النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة كأن هناك ارتفاع معنوي في عدد المربعات المقطوعة من قبل الفئران بجرعة ٨ غم /كغم من وزن الجسم (٤,٩±٦٨,٦) (٦,٦±١٠١,٨) على التوالي في أثناء الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة ، كما احدث الكبريت بجرعة ٤ غم انخفاضاً معنوياً (٣,٦±٢٠,٤) مقارنة بمجموعة السيطرة (٢,٨±٢٦) ، كما احدث الكبريت بجرعة ٨ غم /كغم من وزن الجسم زيادة معنوية في عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية (٢,١٦±١٦) (٢,٥±٢٤) على التوالي ، الجدول (٢) والملحق (٢، أ و ب)

الجدول (٢): النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة.

النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح/عدد المربعات المقطوعة/د٣		
المعاملة	٤ ساعة	٢٤ ساعة
السيطرة	١,٥±١١١,٨	٣,٩±١٢٦,٦
الكبريت ٤ غم/كغم	* ٦,٣±٧٩,٢	* ٥,٧±٨١
الكبريت ٨ غم/كغم	* ٤,٩±٦٨,٦	* ٦,٦±١٠١,٨

النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح/عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية/د٣		
المعاملة	٤ ساعة	٢٤ ساعة
السيطرة	١,٩±٢٢,٤	٢,٨±٢٦
الكبريت ٤ غم/كغم	١,٧±١٩,٦	* ٣,٦±٢٠,٤
الكبريت ٨ غم/كغم	* ٢,١٦±١٦	٢,٥±٢٤

(* القيمة تختلف معنوياً مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥ ،
 (أ) القيمة تختلف معنوياً بين مجموعة ٤ غم و ٨ غم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥ ،
 (ب) القيمة تختلف معنوياً بين ٤ و ٢٤ ساعة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

أظهرت نتائج اختبار الانتحاء الأرضي السالب أن إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم سبب انخفاضاً معنوياً في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار بعد ٤ ساعات (٠,٧٣±٨,٢) (٢,٥±١٢) ثانية على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة (٤,٨±٢٦) ، في حين كانت هناك زيادة معنوية في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار من قبل الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ٨ غم /كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة (٤±١٣) مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٨±٧,٤) ، وعند مقارنة نتائج الاختبار ما بين الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة لم تظهر اية فروقات معنوية في وقت إنهاء الاختبار. الجدول (٣) الملحق (٢، ج)

أما في اختبار عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب فكان هناك انخفاضاً بسيطاً في كلتا الجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم بعد ٤ ساعات مقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين أظهرت الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ٤ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً (٣,٧±٢٧,٤) مقارنة بمجموعة السيطرة (٣,٣±٣٧) ، في حين أظهرت الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ٨ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً بعد ٢٤ ساعة (١,٧±٢٤,٢) مقارنة بمجموعة السيطرة (٣,٣±٣٧) ، وظهرت زيادة بسيطة في عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب في الفئران المعاملة بكلتا الجرعتين بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة بالكبريت. الجدول (٣) الملحق (٢، د).

وعند إجراء اختبار مراتب السباحة على الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم لم يلاحظ اي تغيير يذكر في النتائج بعد ٤ و ٢٤ ساعة مقارنة مع مجموعة السيطرة الجدول (٣) الملحق (٢، ٥)

الجدول(٣): القياسات السلوكية العصبية في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

اختبار الإلتحاء الأرضي السالب (ثانية)		
المعاملة	٤ ساعة	٢٤ ساعة
السيطرة	٤,٨±٢٦	٠,٨±٧,٤
الكبريت ٤ غم/كغم	* ٠,٧٣±٨,٢	١,٠٩±٨
الكبريت ٨ غم/كغم	* ٢,٥±١٢	٤±١٣*
عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب		
المعاملة	٤ ساعة	٢٤ ساعة
السيطرة	٢,٨±٢٦	٣,٣±٣٧
الكبريت ٤ غم/كغم	٤,٦±٢٣	*٣,٧±٢٧,٤
الكبريت ٨ غم/كغم	٣,٥±٢١,٦	* ١,٧±٢٤,٢
اختبار مراتب السباحة		
المعاملة	٤ ساعة	٢٤ ساعة
السيطرة	٠,٢±٣,٨	٠±٤
الكبريت ٤ غم/كغم	٠,٢±٣,٨	٠±٤
الكبريت ٨ غم/كغم	٠,٢±٣,٦	٠,٢±٣,٨

(* القيمة تختلف معنويًا مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية او يساوي ٠,٠٥

(أ) القيمة تختلف معنويًا بين مجموعة ٤ غم و ٨ غم عند مستوى احتمالية أقل او يساوي ٠,٠٥

ب - تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مستوى كلوكوز الدم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

على مستوى كلوكوز الدم في الفئران المعاملة بالكبريت سببت جرعة ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ ساعات من المعاملة انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوكوز في الدم (٥,٢±٥٨,٥) مقارنة بمجموعة السيطرة (٤,٨±١٠٨,٢)، في حين سببت الجرعتان ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم زيادة معنوية في مستوى كلوكوز الدم (٣,٨±١١٤,٧) و(٣,٤±١١٦,٨) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٢,١±٩٧,٦) بعد ٢٤ ساعة من المعاملة . الجدول (٤) الملحق (٣).

الجدول (٤): مستوى كلوكوز الدم في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

مستوى كلوكوز الدم (ملغم/١٠٠ مل)		المعاملة
بعد ٢٤ ساعة	بعد ٤ ساعة	
٢,١±٩٧,٦	٤,٨±١٠٨,٢	السيطرة
*٣,٨±١١٤,٧	* ٥,٢±٥٨,٥	الكبريت ٤ غم/كغم
*٣,٤ ±١١٦,٨	أ ٤,٤-±١٠٣,٨	الكبريت ٨ غم/كغم

(*) القيمة تختلف معنويًا مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥ (أ) القيمة تختلف معنويًا ما بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

ج- تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم في فعالية أنزيم ناقلة أمين الأئين ALT وناقلة أمين الأسبارتيت AST عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة

أحدث الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنويًا في فعالية أنزيم ناقلة أمين الأئين بعد ٤ ساعات (٤,٦٥±٣,٢) (٩,٥٨±٢,٠١) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٥,٦٩±٤,٧٥) ، كما سببت جرعتا الكبريت ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنويًا في نشاط أنزيم ALT بعد ٢٤ ساعة (٦,٥٩±٣,٨) (٤,٠٥±٤,٦٢) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٨,٧٧±١,١) ، ولم يظهر أي تغيير يذكر في نشاط الأنزيم عند مقارنة نشاطه بين الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة . الجدول (٥) الملحق (٤).

من جهة أخرى أدى إعطاء الكبريت بجرعته ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم إلى انخفاض في فعالية أنزيم ناقلة أمين الأسبارتيت مقارنة بمجموعة السيطرة بعد ٤ ساعات من المعاملة ، وأحدثت جرعة ٨ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنويًا واضحاً في نشاط الأنزيم (٥٨±٣,٣) مقارنة بمجموعة السيطرة (٨,١٠٠±٣,٤) ، كما أظهرت الفئران المعاملة بالجرعتين أنفسهما انخفاضاً بسيطاً في نشاط أنزيم AST مقارنة بمجموعة السيطرة بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بالكبريت، وعند مقارنة تأثير الكبريت في فعالية أنزيم ناقلة أمين الأسبارتيت بين الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة من معاملة الفئران لوحظ وجود زيادة معنوية في نشاط الأنزيم بجرعة ٨ غم/كغم من وزن الجسم (٥٨±٣,٣) مقارنة بفعالية الأنزيم بعد ٢٤ ساعة من المعاملة (٦,٩±٤,٩) الجدول (٥) الملحق (٤).

الجدول (٥): يوضح فعالية أنزيمي ناقلة أمين الألائين ALT وناقلة أمين الأسبارتيت AST في الفئران المعاملة بجرعتي الكبريت ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و ٢٤ ساعة.

فعالية الناقلة أمين الألائين وناقلة أمين الأسبارتيت				
فعالية أنزيم (AST) وحدة دولية/لتر		فعالية أنزيم (ALT) وحدة دولية/لتر		المعاملة
٢٤ ساعة	٤ ساعة	٢٤ ساعة	٤ ساعة	
٢,٣±١٤٧,٢	٣,٤±١٠٠,٨	١,١±٧٧,٨	٤,٧٥±٦٩,٥	السيطرة
٣,٥±١٣٢,٥	٣,١±٨٩	* ٣,٨±٥٩,٦	* ٣,٢±٦٥,٤	الكبريت ٤ غم/كغم
٤,٩±١٢٣,٦ ب	٣,٣±٥٨*	* ٤,٠٥±٦٣,٤	* ٢,٠١±٥٨,٩	الكبريت ٨ غم/كغم

(*) القيمة تختلف معنوياً مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥ ،
 (أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٤ و ٨ غم /كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥ ،
 (ب) القيمة تختلف معنوياً ما بين الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥ ،
 التجربة الرابعة:

تأثير إعطاء الكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في السلوك العصبي والحركي و مستوى الكلوتاثيون والمالوندايالديهايد في بلازما دم و دماغ وكبد الفئران بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة.

أ- تأثير إعطاء الكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في السلوك العصبي والحركي في الفئران بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة

بعد ٧ أيام من تجريع الفئران أحدثت جرعة الكبريت ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً في عدد المربعات المقطوعة في أثناء ٣ دقائق وأظهرت جرعة ١ غم /كغم من وزن الجسم التأثير المعنوي المخفض لعدد المربعات (٣,٨٠±٤٢,٣) بالمقارنة بمجموعة السيطرة (٩,٧٩±٣,٠٤٣) ، وبعد ١٤ يوماً من معاملة الفئران سببت جرعتا الكبريت (١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة من قبل الفئران في أثناء ٣ دقائق (٤,١٥±١,٣٩) (٠,٤٨±٣,٠) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (١,٣٤±٥١). الجدول (٦) الملحق (٥، أ)

وعند مقارنة نتائج هذا النشاط الحركي ما بين اليوم ٧ واليوم ١٤ من المعاملة سببت الجرعة ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة في أثناء

٣ دقائق (٢,٨٠ ± ٤٢,٣) (٣,٤٨ ± ٧٠,٩) (٣,٤٥ ± ٦٥) على التوالي بعد ٧ ايام مقارنة بعدد المربعات المقطوعة بعد ١٤ يوماً من المعاملة (١,٣٩ ± ١٥,٤) (٠,٤٨ ± ٣٠) (٢,٦٤ ± ٤٤,٥) على التوالي. الجدول (٦) الملحق (٥، أ) اما نتائج اختبار عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية بعد ٧ ايام من المعاملة أحدثت الجرعة الثلاث انخفاضاً معنوياً (١,٢٥ ± ١٣,٤) (١,٩٢ ± ١٢,٩) (١,٩٨ ± ١٤) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٦٣٤ ± ٢٣,١) ، وكذلك انخفاض معنوي بين الجرعتين ١ و ٢ غم /كغم من وزن الجسم (٠,٤٢ ± ٣,٣) و (٠,٤٢ ± ٦,٦) وكذلك انخفاض معنوي بين الجرعتين ١ و ٤ غم /كغم من وزن الجسم (٠,٤٢ ± ٣,٣) و (٠,٤٨ ± ٧) ، كما أظهرت الفئران المعاملة بالجرع نفسها انخفاضاً معنوياً ايضاً بعد ١٤ يوماً في عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية (٠,٤٢ ± ٣,٣) (٠,٤٨ ± ٦,٦) (٠,٤٨ ± ٧) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٩٤ ± ٢٠,٤). الجدول (٦) الملحق (٥، ب)

الجدول (٦): قياسات النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح للفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٧ و ١٤ يوم من المعاملة

النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح/عدد المربعات المقطوعة/٣		
المعاملة	٧ ايام	١٤ يوم
السيطرة	٣,٠٤٣ ± ٧٩,٩	١,٣٤ ± ٥١
الكبريت ١ غم	* ٢,٨٠ ± ٤٢,٣	١,٣٩ ± ١٥,٤ * د
الكبريت ٢ غم	أ ٣,٤٨ ± ٧٠,٩	٠,٤٨ ± ٣٠ * د
الكبريت ٤ غم	ب ٣,٤٥ ± ٧	٢,٦٤ ± ٤٤,٥ ب ج د
النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح/عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية/٣		
المعاملة	٧ ايام	١٤ يوم
السيطرة	٠,٦٣٤ ± ٢٣,١	٠,٩٤ ± ٢٠,٤
الكبريت ١ غم	* ١,٢٥ ± ١٣,٤	* ٠,٤٢ ± ٣,٣
الكبريت ٢ غم	* ١,٩٢ ± ١٢,٩	* ٠,٤٨ ± ٦,٦
الكبريت ٤ غم	* ١,٩٨ ± ١٤	* ٠,٤٨ ± ٧ ب

- (*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة مستوى احتمالية أقل او يساوي ٠,٠٥
- (أ) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل او يساوي ٠,٠٥
- (ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل او يساوي ٠,٠٥

(ج) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل او يساوي ٠,٠٥ .

(د) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٧ يوم و ١٤ يوم عند مستوى احتمالية أقل او يساوي ٠,٠٥ .

وعند إجراء اختبار الإنتحاء الأرضي السالب أدى إعطاء الكبريت بالجرعتين ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم إلى زيادة معنوية في الوقت الازم لإنهاء الاختبار (١,٣٥±١٠,٧) و (١,٤١±١٠,٤) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٥±٥,٩) بعد ٧ ايام من المعاملة، في حين سببت جرعة ٤ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً بسيطاً في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار مقارنة بمجموعة السيطرة. اما نتائج هذا الاختبار بعد ١٤ يوماً من معاملة الفئران بالكبريت فأظهرت نتائج متفاوتة إذ سببت جرعة ١ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار (٠,٣٠±٧) وانخفاضاً بسيطاً في الفئران المعاملة بجرعة ٤ غم/كغم من وزن الجسم (٠,٥٥ ±٩,٨) مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٦٧±١٠,١) في حين عملت جرعة الكبريت ٢ غم/كغم من وزن الجسم على زيادة معنوية في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار (٢,٢٩±١٦,٦) مقارنة بمجموعة السيطرة الجدول (٧) الملحق (٥، ج).

وعند إجراء اختبار عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب احدثت جرعة الكبريت ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً في عدد المرات (٢,٤٤±٢٠,٣) و (٢,٠٥±١٨,٤) (٢,٠٥±١٩,٥) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٢,٠٥±٣٦,٥) بعد ٧ ايام من معاملة الفئران بالكبريت، كذلك الحال في الاختبار نفسه بعد ١٤ يوماً إذ أنخفض عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب في الفئران المعاملة بالجرع ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم إلى (٠,٨٦±١١,٣) (٠,٥٢±٧,٧) (٠,٤٥±٧,٣) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (١,١٩±٢١,٧)، فضلاً عن وجود الانخفاض المعنوي في عدد المرات عند مقارنة النتائج ما بين الوقتين ٧ و ١٤ يوم من المعاملة. الجدول (٧) الملحق (٥، د) .

وعند دراسة اختبار تحدي السباحة في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ١ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٧ ايام من المعاملة اظهرت الفئران انخفاضاً معنوياً في وقت اختبار تحدي السباحة (٢,٨٧±٣٠,٣) (٢,٥١±٤٣,٨) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٢,٥٦±٨٣,٩)، كما اظهرت الفئران المعاملة بالجرع الثلاث انخفاضاً معنوياً في وقت إنهاء الاختبار بعد ١٤ يوماً من المعاملة (٢,٠٣±٢١,٣) (١,٥٨±٦٠,١) (١,٤٣±٣٨,٣) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (١,٧٨±٩٥,٣)

وعند مقارنة نتائج اختبار قدرة التعب وتحدي السباحة في الفئران المعاملة بالكبريت ما بين الوقتين ٧ و١٤ يوماً كان هناك اختلاف معنوي ما بين الجرعتين ١ و٢ غم/كغم من وزن الجسم الجدول (٧) الملحق (٥،هـ).

الجدول (٧): تأثير الكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم في القياسات السلوكية العصبية في الفئران بعد ٧ و ١٤ يوماً من المعاملة.

اختبار الإلتحاء الأرضي السالب (ثانية)		
المعاملة	٧ ايام	١٤ يوماً
السيطرة	٠,٥±٥,٨٦	٠,٦٧±١٠,١
الكبريت ١ غم	* ١,٣٥±١٠,٧	٠,٣٠±٧*
الكبريت ٢ غم	* ١,٤١±١٠	٢,٢٩±١٦,٦*
الكبريت ٤ غم	٠,٤٠±٤,٣ ب ج	٠,٥٥±٩,٨ ج د
عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب / ٣ د		
المعاملة	٧ ايام	١٤ يوماً
السيطرة	٢,٠٥±٣٦,٥	١,١٩±٢١,٧
الكبريت ١ غم	* ٢,٤٤±٢٠,٣	٠,٨٦±١١,٣*
الكبريت ٢ غم	* ٢,٠٥±١٨,٤	٠,٥٢±٧,٧*
الكبريت ٤ غم	* ٠,٨٨±١٩,٥	٠,٤٥±٧,٣*
اختبار تحدي السباحة (دقيقة)		
المعاملة	٧ ايام	١٤ يوماً
السيطرة	٢,٥٦±٨٣,٩	١,٧٨±٩٥,٣
الكبريت ١ غم	* ٢,٨٧±٣٠,٣	٢,٠٣±٢١,٣*
الكبريت ٢ غم	٤,١٣±٧٠,٣ أ	١,٥٨±٦٠,١*
الكبريت ٤ غم	١,٥١±٤٣,٨ ب ج	١,٤٣±٣٨,٣ ب ج

- (*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥
- (أ) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أو يساوي من ٠,٠٥
- (ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥
- (ج) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥
- (د) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٧ ايام و ١٤ يوماً عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

ب- قياس مستوى الكلوتاثيون في بلازما دم ودماع وكبد الفئران المعاملة بالكبريت

أدى إعطاء الكبريت بجرعة ٢ غم /كغم من وزن الجسم في اليوم ١٤ من المعاملة إلى انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون (٠,٣٢ ± ٦,٨) مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٥ ± ١٠,٥) (٠,٤٧) وبنسبة انخفاض ٣٥,٥ ٪ ، في حين سببت جرعة الكبريت ١ و٤ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً بسيطاً في مستوى الكلوتاثيون مقارنة مع مجموعة السيطرة وبنسبة انخفاض ١٨,١ و٢٣,٥ ٪ على التوالي. الجدول (٨) الملحق (٦، أ)

الجدول (٨) : مستوى الكلوتاثيون في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في اليوم ١٤ من المعاملة.

النسبة المئوية للانخفاض %	مستوى الكلوتاثيون في البلازما (مايكرومول/مل)	المعاملة
	٠,٤٧ ± ١٠,٥	السيطرة ماء مقطر + توين ٨٠
١٨,١	٠,١٨ ± ٨,٥	الكبريت ١ غم/كغم
٣٥,٥	*٠,٣٢ ± ٦,٨	الكبريت ٢ غم/كغم
٢٣,٥	٠,٥٥ ± ٧,٩	الكبريت ٤ غم/كغم

(* القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

من جهة أخرى أدى إعطاء الكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم /كغم من وزن الجسم إلى زيادة معنوية في مستوى الكلوتاثيون في الدماغ بعد ١٤ يوماً من المعاملة (٢,٥٩ ± ١١,١) (٢,٤٥ ± ١٢,٦) (١,١٦ ± ٩,٨) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٩٧ ± ٧,٢) و بنسب ارتفاع ٥٤,٧ ٪ و ٧٦,٣ ٪ و ٣٥,٧ ٪ على التوالي، أما جرعة الكبريت ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم فأحدثت انخفاضاً معنوياً (٣,٣٠ ± ١٢,٨) (٢,٦٣ ± ١٠,٤) (٠,٥٠ ± ٩,٩) على التوالي في مستوى كلوتاثيون الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة (٢,٥٢ ± ١٩,٣) وبنسبة انخفاض ٣٤,٢ ٪ و ٤٦,٣ ٪ و ٤٩,١ ٪ على التوالي. الجدول (٩) الملحق (٦، ب و ج)

الجدول (٩): مستوى الكلوتاثيون في دماغ و كبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة.

الكبد		الدماغ		المعاملة
النسبة المئوية للاخفاض %	مستوى الكلوتاثيون في الكبد (مايكرومول/غم من النسيج)	النسبة المئوية للارتفاع %	مستوى الكلوتاثيون في الدماغ (مايكرومول/غم من النسيج)	
	٢,٥٢ ± ١٩,٣		٠,٩٧ ± ٧,٢	السيطرة ماء مقطر + توين ٨٠
٣٤,٢	*٣,٣٠ ± ١٢,٨	٥٤,٧	*٢,٥٩ ± ١١,١	الكبريت ١ غم/كغم
٤٦,٣	*٢,٦٣ ± ١٠,٤	٧٦,٣	*٢,٤٥ ± ١٢,٦	الكبريت ٢ غم/كغم
٤٩,١	*٠,٥٠ ± ٩,٩	٣٥,٧	*١,١٦ ± ٩,٨ ب	الكبريت ٤ غم/كغم

(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

(ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ غم و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

ج- قياس مستوى المالوندايالديهيد في بلازما دم ودماغ وكبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة

أدى إعطاء الكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم /كغم من وزن الجسم إلى احداث زيادة معنوية في مستوى المالوندايالديهيد في بلازما دم الفئران (٠,٩٢ ± ٤,٢) (٠,٦٣ ± ٨,٢) (٠,٨٧ ± ٤,٣) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٢٥ ± ٢,١) وبنسب ارتفاع ٥١,١ % و ٧٥,١٨ % و ٥٢,١١ % على التوالي الجدول (١٠) الملحق (٧, أ)

الجدول (١٠): مستوى المألوندايالديهيد في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة

النسبة المئوية للارتفاع %	مستوى المألوندايالديهيد في البلازما (مايكرومول/مل)	المعاملة
	٠,٢٥ ± ٢,١	السيطرة ماء مقطر + توين ٨٠
٥١,١	* ٠,٩٢ ± ٤,٢	الكبريت ١ غم/كغم
٧٥,١٨	أ * ٠,٦٣ ± ٨,٢	الكبريت ٢ غم/كغم
٥٢,١١	ب * ٠,٨٧ ± ٤,٣	الكبريت ٤ غم/كغم

(* القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

(أ) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و٢ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

(ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

أدى إعطاء الكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم في الدماغ إلى زيادة بسيطة في مستوى المألوندايالديهيد مقارنة بمجموعة السيطرة ، في حين سببت جرعتا الكبريت ١ و٤ غم /كغم من وزن الجسم زيادة معنوية في مستوى المألوندايالديهيد في الكبد (٠,٩١ ± ٢٩,٣) (٠,٩٤ ± ٣٣,٤) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (١,١٥ ± ٢١,٦) وبنسب ارتفاع ٢٦,٣% و ٣٥,٢٦% الجدول (١١) الملحق (٧، ب و ج)

الجدول (١١): مستوى المألوندايالديهايد في دماغ وكبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و٢ و٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة

الكبد		الدماغ		المعاملة
النسبة المئوية للارتفاع %	مستوى المألوندايالديهايد في الكبد (مايكرومول/غم من النسيج)	النسبة المئوية للارتفاع %	مستوى المألوندايالديهايد في الدماغ (مايكرومول/غم من النسيج)	
	١,١٥ ± ٢١,٦٢		٠,٤١ ± ٤٩,٢	السيطرة ماء مقطر + توين ٨٠
٢٦,٣	*٠,٩١ ± ٢٩,٣	٢,٤٣	٢,٦٢ ± ٥٠,٤	الكبريت ١ غم/كغم
١,٩	١١,٣٢ ± ٢٢,١	١,٩٩	٠,٥٧ ± ٥٠,٢	الكبريت ٢ غم/كغم
٣٥,٢٦	٠,٩٤ ± ٣٣,٤*	٤,٨٩	١,٢٣ ± ٥٢,٧	الكبريت ٤ غم/كغم

(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

(أ) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

(ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي من ٠,٠٥

التجربة الخامسة :

التحدي الدوائي بالزايلازين والكيثامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم

أدى إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و٨ غم/كغم من وزن الجسم إلى زيادة معنوية في وقت بدء التخدير (٠,٣٢ ± ٢,٨) (٠,٢ ± ٢,٨) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٠ ± ٢) ، اما بالنسبة لطول مدة التخدير فعمل الكبريت على تخفيض معنوي في طول مدة التخدير في الفئران المعاملة بكتا الجرعتين (١,٤٣ ± ٢٧,٤) (٠,٧٣ ± ٢٢,٥) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (١,٧١ ± ٣٦). الجدول (١٢) الملحق (٨)

الجدول (١٢): يوضح زمن النوم المحدث بالزايلازين و الكيتامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم .

المعاملة	وقت بدء التخدير/دقيقة	طول مدة التخدير/دقيقة
السيطرة ماء مقطر + توين ٨٠	٠ ± ٢	١,٧١ ± ٣٦
زايلازين ٥ ملغم/كغم + كيتامين ٥٠ ملغم/كغم		
الكبريت ٤ غم/كغم	٠,٣٢ ± ٢,٨ *	١,٤٣ ± ٢٧,٤ *
زايلازين ٥ ملغم/كغم + كيتامين ٥٠ ملغم/كغم		
الكبريت ٨ غم/كغم	٠,٢ ± ٢,٨ *	٠,٧٣ ± ٢٢,٥ *
زايلازين ٥ ملغم/كغم + كيتامين ٥٠ ملغم/كغم		

(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

(أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الفئران المعاملة بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

التجربة السادسة:

متابعة التغيرات السلوكية العصبية والكيميا حيوية المحدث بالكبريت في الفئران

عند تتبع Follow up تأثيرات الكبريت السلوكية العصبية والكيميا حيوية في أثناء ١٤ يوماً بعد المعاملة أدى تجريع الفئران بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم إلى تخفيض معنوي في عدد المربعات المقطوعة داخل الميدان المفتوح في أثناء ٣ دقائق بعد ٢٤ ساعة من المعاملة (١,٧ ± ٤٣,٩) مقارنة بمجموعة السيطرة (٣,٧ ± ٦٦,٤) وأحدث الكبريت انخفاضاً معنوياً أيضاً بعد ١٤ يوم من المعاملة (١,٩ ± ٥٢,٢) مقارنة بمجموعة السيطرة (٢,١ ± ٥٨,٤) الجدول (١٣) الملحق (٩).

من جهة أخرى سبب الكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم انخفاضاً معنوياً ايضاً في عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية/٣ دقائق بعد ٢٤ ساعة من المعاملة (٠,٨±١٤) مقارنة بمجموعة السيطرة (١,٤±٢٥,٣) فضلاً عن التخفيض المعنوي لعدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية بعد ١٤ يوماً من المعاملة (٠,٦±١٥,٦) مقارنة بمجموعة السيطرة (١,١±٢١,٢). الجدول(١٣) الملحق (٩)

الجدول (١٣): قياسات النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة

عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية/٣ د		عدد المربعات المقطوعة ٣ د		الوقت
بعد ١٤ يوماً	بعد ٢٤ ساعة	بعد ١٤ يوماً	بعد ٢٤ ساعة	
١,١±٢١,٢	١,٤±٢٥,٣	٢,١±٥٨,٤	٣,٧±٦٦,٤	مجموعة السيطرة (ماء مقطر+توين ٨٠)
*٠,٦±١٥,٦	*٠,٨±١٤	أ*١,٩±٥٢,٢	* ١,٧±٤٣,٩	الكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم

(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 (أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً في الفئران المعاملة بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 وسببت جرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم المعطاة عن طريق التجريع الفموي انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوتاثيون في دماغ الفئران بعد ٢٤ ساعة من المعاملة (١,٧±١٦,٨) مقارنة بمجموعة السيطرة (٢,٣±٢٢,٢) في حين سبب الكبريت بالجرع نفسها زيادة معنوية واضحة في مستوى الكلوتاثيون بعد ١٤ يوماً من المعاملة (٣,٢±٣٩,٤) مقارنة بمجموعة السيطرة (١,١±١٩,٦). الجدول (١٤) الملحق (١٠)

الجدول (١٤): مستوى الكلوتاثيون في دماغ الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة .

مستوى الكلوتاثيون في دماغ الفئران (مايكرومول/غم)		المعاملة
بعد ١٤ يوماً	بعد ٢٤ ساعة	الوقت
١,١±١٩,٦	٢,٣±٢٢,٢	السيطرة (ماء مقطر +توين ٨٠)
* ١٣,٢±٣٩,٤	* ١,٧±١٦,٨	الكبريت بجرعة ١٦ غم /كغم من وزن الجسم

(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

(أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوم في الفئران المعاملة بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

وعند قياس فعالية أنزيم ناقلة امين الأئين في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم سبب الكبريت زيادة معنوية في نشاط الأنزيم بعد ١٤ يوماً من المعاملة (١,٨±٩٢,٧) مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٧±٨٢,٥)، من جهة أخرى سببت جرعة الكبريت ١٦ غم/كغم من وزن الجسم زيادة معنوية أيضاً في فعالية أنزيم ناقلة أمين الأسبارتيت في بلازما دم الفئران في الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوم (٠,٦±١٣٠,٩) و (١,٤±١٤١,٦) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (٠,٥±١١٤,٩) و (٠,٩±١٢٧,٨) ومن حيث الوقت كان هناك اختلاف معنوياً في نشاط ناقلة امين الاسبارتيت بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً (٠,٦±١٣٠,٩) و (١,٤±١٤١,٦) الجدول (١٥) الملحق (١١).

الجدول (١٥): فعالية أنزيم ناقلة امين الألنين وناقلة امين الأسبارتيت في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة

فعالية أنزيم (AST) وحدة دولية/لتر		فعالية أنزيم (ALT) وحدة دولية/لتر		المعاملة
بعد ١٤ يوماً	بعد ٢٤ ساعة	بعد ١٤ يوماً	بعد ٢٤ ساعة	الوقت
٠,٩±١٢٧,٨	٠,٥±١١٤,٩	٠,٧±٨٢,٥	١,٥±٩٢,٧	السيطرة (ماء مقطر + توين ٨٠)
١,٤±١٤١,٦ *	٠,٦±١٣٠,٩ *	١,٨±٩٢,٧ *	٢,٦±١٠١,٩	الكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم

(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي

٠,٠٥

(أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً في الفئران المعاملة بجرعة ١٦

غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل أو يساوي ٠,٠٥

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

يعد عنصر الكبريت من المركبات الكيميائية التي تستعمل على نطاق واسع في السيطرة والقضاء على الآفات التي تصيب الجلد كالقراد والطفيليات الجلدية التي تسبب مرض الجرب في الحيوانات، كما يمتلك تأثيراً في مكافحة الاعشاب الضارة (Murillo and mullens 2016) ، وعلى الرغم من فوائده الكثيرة في علاج الحالات المرضية الجلدية وغيرها الا أنه قد يتسبب بنتائج عكسية سامة على صحة الإنسان و الحيوان وقد تكون له بقايا في البيئة ينتج عنها مخاطر على الكائنات الحية (Sołek-Podwika et al., 2016). يحصل التسمم بالكبريت في حيوانات المزرعة وخصوصا المجترات بسبب تركيزه العالي في الغذاء ومياه الابار وبسبب الاستعمال المكثف للأسمدة في الحقول والمزارع (Talukdar and Hussain, 2022)

أظهرت دراستنا الحالية أن الجرعة المميتة الوسطية (الجم -٥٠) للكبريت في الفئران والمحسوبة بطريقة دكسون في الصعود و النزول بالجرعة عن طريق التجريع الفموي كانت ٢٢,٣٣غم/كغم من وزن الجسم وتباينت علامات السمية التي ظهرت على الفئران نتيجة التسمم بالكبريت ما بين صعوبة في البلع ، الخمول، التحزم العضلي ، أنتصاب الشعر و الذيل ، الرجفة، صعوبة التنفس وانتهاءً بالموت بسبب تثبيط مركز التنفس في الدماغ وتضيق القصبة الهوائية وانسدادها بسبب الإفرازات المخاطية داخل القصبة الهوائية (Gunn et al., 1987)، في حين اظهرت دراسات سابقة أن (الجم-٥٠) كانت ٥غم/كغم من وزن الجسم في الفئران و ٢غم/كغم من وزن الجسم في الأرانب (Exttoxnet 1996)، وكانت (الجم-٥٠) في الجرذان ٣غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم (Gautam et al., 2006) وقد يعزى سبب هذا الاختلاف إلى تباين نوع وتركيب الكبريت المعطى ، فضلاً عن اختلاف نوع الحيوان والمذيبات والمركبات المضافة للكبريت من اجل الحصول على مركب غرواني colloid يسهل تجريعه للفئران وايضاً لتسهيل عملية امتصاصه من قبل الجسم، من هنا يعد الكبريت ذا سمية واطئة في الفئران لكون جرعه المميتة الوسطية عالية جداً، كما تم الحصول على الجرعة المميتة التقريبية للكبريت باتباع طريقة ديجمان والتي كانت ٣٦غم/كغم من وزن الجسم عن طريق التجريع الفموي للفئران وهي جرعة تعد عالية ايضاً نظراً لسمية الكبريت الواطئة (Hall, 2018) . تم اختيار مجموعة من الاختبارات السلوكية العصبية التي تعكس بعض الوظائف

السلوكية والحركية كتلك التي نستعملها لفحص النشاط الحركي العام داخل الميدان المفتوح (Moser et al., 1988, molinengo et al., 1989) ، والتوازن العصبي العضلي (لاختبار الإلتحاء الأرضي السالب) المعتمد على الدوران الذاتي (Mohammad and Reiter and (st.omar, 1986) وحركة الفضول (عدد مرات إدخال الرأس في الثقب) (Reiter and (macphil, 1979) واختبار تحدي السباحة وقياس مراتب السباحة (Mosr, 1991)، (البكوع ، ٢٠٠٢) ، وبينت الدراسة الحالية لتأثير الكبريت في السلوك العصبي والحركي للفئران بالجرعتين ٤ و ٨ غم / كغم من وزن الجسم أن الكبريت عمل على خفض عدد المربعات المقطوعة وعدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية في أثناء ٣ دقائق داخل صندوق الميدان المفتوح بشكل معنوي بسبب تأثير الكبريت في الجهاز العصبي بشكل مباشر مما جعل الفئران في حالة خمول ، مع أحداث اطالة و زيادة معنوية في الوقت اللازم لإنهاء اختبار الإلتحاء الأرضي السالب الذي بين وجود خلل في التوازن العصبي العضلي والوظيفة الدهليزية في الفئران إذ يعد هذا الاختبار الاداة المستعملة لقياس ودراسة امراض الجهاز العصبي و اضطرابات النمو العصبي إذ يظهر التأثير في الدماغ وقلّة ادراك الفأر وبهذا تطابقت نتائجنا مع دراسة سابقة في الجرذان (Ruhela et al., 2019)، فضلاً عن خفض عدد مرات إدخال الرأس في الثقب بسبب تأثير الكبريت على الوظيفة الاستكشافية و مدى فضول الفأر المعامل وحركته، وهذا يتفق مع دراسة دكتوراه للباحثة (البكوع ، ٢٠٠٢)، أما فيما يخص اختبار السباحة وقياس مراتب السباحة الذي يبين مدى استجابة الفأر المعامل لحالات الإجهاد التي تحتاج إلى تنظيم وتوازن بين الجهاز العصبي المركزي والاستجابة العصبية العضلية فلم تتأثر الفئران المعاملة بالكبريت بهاتين الجرعتين بشكل كبير لربما لكون هذه الجرعة قليلة جداً وهذا يتفق مع دراسة في الفئران باستعمال الناقل العصبي الدوبامين بجرع قليلة (Renard et al., 2003) ولا يوجد في النشرات العلمية ما نستدل به على تأثير الكبريت في الحيوانات المختبرية على السلوك العصبي والحركي للتطرق إلى الجانب السمي للكبريت كون الكبريت عنصر أمن في الطبيعة (Weiss, 1988; Mosr, 1994) ، وأبرزت هذه التجربة تكامل الجهاز العصبي المركزي، وهذا الاختبار يعتمد على الوظيفة السلوكية لأداء التحديات الوظيفية المطلوب من الحيوان مواجهتها في القياس السلوكي العصبي وهذه التجارب غير حادة ولا تسبب ظهور علامات التسمم الحادة على الحيوان (Alder et al., 1998).

وعند دراسة تأثير الكبريت في بعض الاختبارات الكيمياء حيوية في بلازما دم الفئران أظهرت الحيوانات تأثيراً في مستوى كلوكوز الدم إذ سبب إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة انخفاضاً معنوياً في مستوى كلوكوز الدم

نتيجة تأثيره في افراز الأنسولين وعلى الإجهاد في الفئران، وهذا يتفق مع ما جاء في دراسة سابقة (Sugendran *et al.*, 1992)، وأظهرت نتائجنا تأثير الكبريت على الأنزيمات الكبدية فعند قياسنا لبعض المؤشرات الحيوية التي تتأثر بالتسمم بالكبريت في الفئران كقياس فعالية أنزيم ناقلة امين الألنين ALT وناقلة امين الأسبارتيت AST في بلازما الدم سبب الكبريت انخفاضاً بسيطاً في مستوى فعالية الأنزيمين في كلا الوقتين ٤ و ٢٤ ساعة بسبب عدم تأثيره على أنسجة كبد الفئران بهاتين الجرعتين الواطئتين إذ اتفقت هذه النتيجة مع ما جاء في دراسة سابقة ولربما لوجود أذى على مستوى الكلتيين أو انخفاض في ايض فيتامين B6 في الفئران المعاملة (Alagawany *et al.*, 2011) (Diehl *et al.*, 1984)، في حال تلف الخلايا الكبدية يؤثر في عملية تصنيع البروتين داخل الرايبوسوم بما أنه أنزيم الـ (ALT) و (AST) يعمل على نقل الاحماض الأمينية داخل الخلايا، وأن ارتباط أو اصر السستين (Cysten) بالأواصر البروتينية الأخرى لأنها تحتوي في الكبريت ممكن أن ترتبط باصرة أخرى تحتوي على السستين تعمل على تغيير فعالية البروتين وهنا يتحول الأنزيم الـ (ALT) و (AST) إلى أنزيم غير فعال. (Chen *et al.*, 2020).

وعند دراسة التأثير تحت الحاد للكبريت بعد ١٤ يوماً من معاملة الفئران بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم للكشف عن تأثير الكبريت في النشاط السلوكي الحركي من جهة وتأثيره في الإجهاد التأكسدي من جهة أخرى ولفهم التأثير السمي الحاصل في الأنسجة مثل الكبد والدماغ، أحدث الكبريت على مستوى الاختبارات السلوكية العصبية والحركية انخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة و عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية في أثناء ٣ دقائق، ويعزى هذا الانخفاض لتأثير الكبريت السمي في الجهاز العصبي المركزي وهذا يتفق مع دراسة سابقة للتأثير السمي لبعض المعادن السامة على الجهاز العصبي المركزي (Yang *et al.*, 2010)، وفي اختبار الإنتحاء الأرضي السالب لوحظت زيادة وإطالة في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار بالجرعتين ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم بينما سببت جرعة ٤ غم/كغم من وزن الجسم نقصاناً بسيطاً في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار في نهاية الأسبوع الأول من المعاملة وقد يعزى ذلك لامتصاص المادة في تلك الجرعة بشكل أقل من باقي الجرع أما في اليوم ١٤ لاحظنا وجود نقصان في وقت إنهاء الاختبار بجرعة ١ غم/كغم من وزن الجسم مع زيادة في الوقت بجرعة ٢ غم/كغم من وزن الجسم رافقها انخفاض في الوقت اللازم لإنهاء الاختبار في الفئران المعاملة بجرعة ٤ غم/كغم من وزن الجسم، وقد يعزى ذلك إلى تعود الفئران على هذا النوع من الاختبارات ولحالتها المتأثرة نتيجة التسمم الحاصل، أما في اختبار إدخال الرأس في الثقوب فكان هناك انخفاض في عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب

مع جميع الجرعات المعطاة في أثناء الوقتين ٧ و ١٤ يوم من المعاملة نتيجة تأثير الكبريت في الجهاز العصبي من في أثناء تقليل الحركة وفضول الفأر في الاستكشاف و البحث (البكوع، ٢٠٠٢)، وعند إجراء اختبار تحدي السباحة كان هناك تأثير مباشر للكبريت على دماغ الفئران إذ أظهرت التعب وقلة في الحركة نتيجة تأثير الكبريت السمي على دماغ الفئران (Olney and Rhee, 1971)

الإجهاد التأكسدي هو عدم توازن بين العمليات الكيميائية حيوية و التي تنتج مركبات تحتوي على الأوكسجين الفعال Reactive Oxygen Species وبين العمليات المسؤولة عن التخلص من هذا الأوكسجين الفعال والتي تعرف بسلسلة مضادات الاكسدة Antioxidant (Achuba et al., 2005; Sayre et al., 2008)، وعند قياسنا لبعض الاختبارات الكيميائية حيوية كقياس مستوى الكلوتاثيون الذي يعد أحد الدفاعات المهمة في جسم الحيوان ضد الكرب التأكسدي فضلاً عن كونه الخط الدفاعي الأول ضد التسمم بالكبريت بالسموم العصبية الذي يعمل على تقليل التلف الحاصل في الخلايا الكبدية وخلايا الدماغ لكونه مضاد أكسدة عالي الأهمية (Stohs and Bagchi, 1995)، أدى إعطاء الكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم /كغم من وزن الجسم إلى انخفاض معنوي في كلوتاثيون بلازما الدم وبنسبة تخفيض وصلت إلى ٣٥٪ وهذا يتفق مع دراسة سابقة تبين أن للكبريت أثراً في الاعضاء الداخلية للإنسان والحيوان، إذ أثبتت تلك الدراسة الاثر السمي للكبريت على الاعضاء ولا سيما الكبد والدماغ إذ لوحظ وجود تنخر في دماغ الجرذان، وكذلك تأثيره في نسيج الدماغ إذ وجد ارتفاع في مستوى الكلوتاثيون وبنسبة تراوحت ما بين ٣٥-٧٦٪ وهذا يتفق مع دراسة سابقة على الفئران لتأثيره على قشرة الدماغ (Gammon et al., 2001)، اما في النسيج الكبدي فلاحظنا انخفاض النسبة إذ وصلت إلى ٤٩٪ نتيجة لتأثير الكبريت المباشر في الكبد، كما لوحظ أيضاً تأثيرات عيانية في الكبد متمثلة باصفرار لونه لربما نتيجة ترسب الدهون حوله ووجود تضخم في الكبد اليرقاني مع بقع مصفرة في النسيج المتنخر (Lamfon, 2007)، وبما أن الإجهاد التأكسدي Oxidativ Stress هو زيادة في كمية الجذور الحرة Free Radicals داخل خلايا جسم الكائن الحي التي تحدث نتيجة التعرض للمركبات المؤكسدة Oxidant مثل بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen Peroxide تشير حالة الإجهاد التأكسدي إلى وجود خلل في الدفاعات الحيوية الخلوية المضادة للأكسدة Antioxidante مثل الكلوتاثيون داخل خلايا جسم الكائن الحي يتم الاستدلال على حالة الإجهاد التأكسدي بقياس تركيز الكلوتاثيون و المألونديالديهايد في بلازما الدم وأنسجة الكائن الحي إذ ينخفض مستوى الكلوتاثيون ويصاحبه ارتفاع في مستوى المألونديالديهايد في حالة الإجهاد التأكسدي (عبد الرحمن، ١٩٩٥، PATOČKOVÁ et al., 2003) PATOČKOVÁ et al., 2003)

سبب الكبريت زيادة في تركيز المألوندايالديهيد في كل من بلازما دم و دماغ وكبد الفئران المعاملة بعد ١٤ يوماً من المعاملة ، إذ اتفقت نتائجنا مع دراسة سابقة لتأثير المعادن السامة بينت انخفاضاً في تركيز الكلوتاثيون وارتفاع تركيز المألوندايالديهيد في الجرذان و الاسماك والفئران (El-Demerdash, 2011) (Pawar et al., 2017)، أوضحت النتائج أن هناك زيادة معنوية في مستوى تركيز المألوندايالديهيد MDA بلازما دم الفئران وبنسبة ارتفاع تراوحت ما بين ٥٠-٧٥٪ وفي نسيج الدماغ بنسبة أقل اما في نسيج الكبد فلو حظ فيه ارتفاع معنوي ايضاً في مستوى المألوندايالديهيد وبنسبة وصلت إلى ٣٥٪ وقد يعزى السبب إلى زيادة الجذور الحرة وتلف الدهون والبروتينات والاحماض الامينية في الخلايا وفي غشاء الخلية لنسيج الكبد (Milovanovic et al., 2019).

يعد التحدي الدوائي أو السمي أحد الوسائل المتبعة لكشف التأثيرات الكامنة المخفية للمواد الكيميائية على وظيفة الجهاز العصبي المركزي في القوارض (Osman, 2001) وقد تكون التأثيرات عبارة عن تغيرات في الوظائف الفسلجية أو الكيميائية للجهاز العصبي المركزي، مما قد يسبب اختلافات في الأداء السلوكي للحيوانات (Tilson, 1987) (Zenick, 1983) ويظهر التحدي الدوائي الخلل الحاصل في توازن الجهاز العصبي والذي يتم اخفاؤه بآليات الدماغ التكيفية (Tilson, Adaptive mechanisms 1987)، يعد الزايلازين من الأدوية المحفزة لمستقبلات الفا ٢ الادرينالية المثبطة للجهاز العصبي المركزي والتي تستخدم على نطاق واسع في مجال الطب البيطري لمعالجة الحيوانات الكبيرة و الصغيرة والمختبرية ايضاً نتيجة امتلاكه فعالية مسددة و منومة و مرخية للعضلات و مسكنة في ذات الوقت؛ (Maddison et al., 2008) (Kleinzand Spence, 2008) ، كما يعد الزايلازين من الأدوية المثبطة للجهاز العصبي وذلك بتنشيط مستقبلات الفا ٢ الادرينالية مما يؤدي إلى تقليل ايون الكالسيوم و من ثم تقليل الناقل العصبي المهيج وبذلك يسبب زوال الاستقطاب، ومن هنا تم تطبيق اختبار التحدي الدوائي في دراستنا الحالية باستعمال خليط الزايلازين والكيثامين اللذين يحدثان تخديراً عاماً في الفئران (Short and Bufalari, 1999)، وبينت النتائج أن معاملة الفئران بالكبريت تسبب إطالة في زمن بدء النوم بالجرعتين ٨ و٤ غم/كغم من وزن الجسم وإنخفاض في زمن التخدير (مدة طول التخدير) مقارنة مع مجموعة السيطرة و عند نجاح التحدي الدوائي في الكشف عن التغيرات الكامنة التكيفية فإنه يمكن الاستنتاج بشكل أولي أن التحدي الدوائي يعمل على الأنظمة ذاتها التي تؤثر فيها المادة السامة (Tilson, 1987) وهذه النتيجة تتفق مع دراسة أخرى حول التأثير المنوم و المسدر للزايلازين والكيثامين (Massey and Richerson, 2017) يتم تقييم الإجهاد التأكسدي في

الحالات الطبيعية والمرضية للجسم وقبل العلاج بالأدوية اذ وجد أن حالة الإجهاد التأكسدي تؤثر في الاستجابة الدوائية للأدوية عن طريق تأثير الإجهاد التأكسدي على تحطيم البروتينات و الدهون و قواعد الاحماض النووية في الخلية و من ثم قد تؤثر سلبا أو ايجابا على استجابة الخلية للأدوية و التعامل معها (Dalle-Donne *et al.*, 2006)، ويمكن القول أن الجهاز العصبي يكون أكثر عرضة للإجهاد التأكسدي وذلك لأنه يتم فيه إنتاج الجذور الحرة بصورة كبيرة ويعود السبب إلى أن الدماغ يستهلك ٢٠٪ من الأوكسجين الكلي في الجسم لاحتواء الدماغ على نسبة عالية من الحديد المحفز للعمليات الايضية وامتلاك الدماغ كمية عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة فضلاً عن احتوائه على فعالية ضعيفة للأنزيمات المضادة للأكسدة وتعمل هذه الاسباب مجتمعة على جعل الدماغ اكثر عرضة للإجهاد التأكسدي و من ثم قد تغير من الفعالية والاستجابة الدوائية (Pastore *et al.*, 2003).

وعند تتبع تأثيرات الكبريت السمية في الفئران بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة بالجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم من في أثناء مراقبة النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح لوحظ وجود انخفاض معنوي في عدد المربعات المقطوعة وعدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية في أثناء ٣ دقائق نتيجة لتأثير الكبريت في الجهاز العصبي و الحركي و جعل الفئران اكثر خمولا (Feldman, 1999)، وعند قياس مستوى الكلوتاثيون للتأكد من تأثير الكبريت في نسيج الدماغ لوحظ حدوث انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون بعد ٢٤ ساعة، وزيادة معنوياً في مستوى الكلوتاثيون بعد ١٤ يوماً من المعاملة و قد يعزى هذا التأثير إلى زوال طرح الكبريت من جسم الفئران بمرور الوقت، كما أن التغيرات الحاصلة في النسيج الدماغي قد تعود إلى الجهد التأكسدي وهذا ما أكده باحثون في دراسة في الفئران و الاسماك (Pawar *et al.*, 2016)، كما اظهرت تجربة تتبع التأثير السمي للكبريت على أنزيمات الكبد وجود ارتفاع معنوي في مستوى ALT و AST وانخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون في الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة و قد يعزى هذا الارتفاع أيضاً إلى الاذى الكبدي والإجهاد التأكسدي، وهذا يتفق مع دراسات أخرى حول تأثير الأنزيمات الكبدية.

(Afkhami-Ardakani *et al.*, 2013; Heydarnejad, 2013; Hosseini *et al.*, 2014)، مما يدل على حدوث تحطم في الخلايا الكبدية و تحرير الأنزيمين ووصولهما إلى بلازما الدم نتيجة تحفيز الجذور الحرة واكسدة الدهون وهي احدى الأليات التي يعمل بها الكبريت (Yousef *et al.*, 2003).

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات :

١. أكدت دراستنا قلة سمية الكبريت في الفئران إذ كانت (الجم-٥٠) للكبريت عن طريق الفم ٣٣,٢٢ غم/كغم من وزن الجسم، و كانت الجرعة التقريبية ٣٦ غم/كغم من وزن الجسم وهي جرعة عالية جداً مقارنة بالجرع السامة لمعادنا أخر .
٢. اثر إعطاء الكبريت بجرع واطئة في أثناء ٤ و ٢٤ ساعة بشكل واضح وبمدة زمنية قصيرة من المعاملة في الجهاز العصبي المركزي للفئران من في أثناء خفضه للنشاط الحركي داخل الميدان المفتوح و الاختبارات السلوكية الحركية الأخرى .
٣. أحدث إعطاء الكبريت بجرع واطئة في الفئران تأثيرات واضحة في بعض القياسات الأنزيمية من في أثناء تخفيضه لنشاط أنزيمي ALT و AST ومستوى كلوكوز الدم مما تبين احداثه للأذى الكبدي وتأثيراته في أيض الكلوكوز في الدم .
٤. سبب إعطاء الكبريت بجرع واطئة جداً لمدة ١٤ يوماً من المعاملة خفض للنشاط الحركي داخل الميدان المفتوح و الاختبارات السلوكية الحركية الأخرى .
٥. حور الكبريت المعطاة لمدة ١٤ يوماً بجرع واطئة في مستوى الكلوتاثيون في بلازما دم ودماع وكبد الفئران وهو الخط الدفاعي الأول ضد التسمم بالكبد مع تحويرات على مستوى المألوندايالديهيد أيضاً.
٦. نجح التحدي الدوائي بالزايلازين و الكيتامين في كشف بعض تأثيرات الكبريت المخفية (في مستوى الجهاز العصبي المركزي).
٧. أظهرت نتائج تتبع تأثيرات الكبريت في الفئران بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة امكانية تعافي الفئران من هذه التأثيرات في مستوى السلوك العصبي الحركي وفي مستوى كلوتاثيون الدماغ.

التوصيات :

١. إجراء دراسات أحر على الكبريت واملاحه واكاسيده في حيوانات أحر ولمدد أطول من التعرض لهذا العنصر للاطلاع بشكل أوسع على تأثيراته السامة الأخرى .
٢. قياس مستوى النواقل العصبية كالدوبامين والسيروتونين في نسيج الدماغ للتعرف على التأثيرات العصبية للكبريت بشكل أكثر تخصصاً ووضوحاً .
٣. قياس تركيز الكبريت في أنسجة وسوائل جسم الحيوان للتعرف على درجة تراكم الكبريت في هذه الأنسجة في فترات مختلفة من التعرض له.
٤. قياس تركيز البروتين الكلي Total protein والألبومين Albumin في الدم.
٥. قياس فعالية بعض مؤشرات و وظائف الكبد الأخرى مثل Alkaline phosphatase (ALP) الفوسفاتيز القلوية و(Gamma-glutamyl transphatase(GGT) كما كلوتاميل ترأنسفيراز.

المصادر

References

المصادر العربية

- البعليكي، منير، (٢٠٠٦). قاموس المورد، دار العلم للملايين، بيروت ، لبنان .
- البكوع ، بنان خالد عبد الرحمن فتاح (٢٠٠٢). التغييرات العصبية والسلوكية و الكيموحياتية المحدثه بالتداخل بين الكادميوم وبعض المبيدات الحشرية في الفئران أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق .
- عبد الرحمن، صائب يونس (١٩٩٥). تأثير الجوع وداء السكري التجريبي على مستويات الكلوتاثيون وزناخة الدهن في أنسجة الجرذان ، أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل ، الموصل، العراق .
- مصطفى ، خيرية أحمد (٢٠١٨). مقارنة سلوكية عصبية وكيموحيوية للتسمم بالكوربايرفوس والدلتامثرين في الفئران ، رسالة ماجستير، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق .

المصادر الأجنبية:

- Abiko, Y., Katayama, Y., Akiyama, M., and Kumagai, Y. (2021). Lipophilic compounds in garlic decrease the toxicity of methylmercury by forming sulfur adducts. *Food and Chemical Toxicology*, 150, 112061.
- Achuba, F. I., Peretiemo-Clarke, B. O., and Okolie, T. C. (2005). Oxidative stress in the brain of rabbits with petroleum-induced hypoglycaemia. *Biol Lett*, 42(1), 33–39.
- Afkhami-Ardakani, M., Shirband, A., Golzade, J., Asadi-Samani, M., Latifi, E., Kheylapour, M., and Jafari, N. (2013). The effect of iron oxide nanoparticles on liver enzymes (ALT, AST and ALP), thyroid hormones (T3 and T4) and TSH in rats. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 14.
- Agrafiotis, C., Thomey, D., de Oliveira, L., Ebert, M., Gobereit, B., Pernpeintner, J., Schlögl-Knothe, B., Alkan, G., Roeb, M., and Sattler, C. (2022). A particle receiver-driven thermochemical cycle employing elemental sulphur for solar thermochemical energy storage: Investigation of particles as concentrated sunlight harvesting media and sulphur trioxide splitting catalysts. *Solar Energy*, 234, 21–38.
- Anderson, D. R., Taylor, S. L., Fetterer, D. P., and Holmes, W. W. (2009). Evaluation of protease inhibitors and an antioxidant for treatment of sulfur mustard-induced toxic lung injury. *Toxicology*, 263(1), 41–46.
- Ausma, T., Bansal, V., Kraaij, M., Verloop, A. C. M., Gasperl, A., Müller, M., Kopriva, S., De Kok, L. J., and van der Kooi, C. J. (2021). Floral displays suffer from sulphur deprivation. *Environmental and Experimental Botany*, 192, 104656.
- Baraj, E., Ciahotný, K., and Hlinčík, T. (2022). Advanced Catalysts for the Water Gas Shift Reaction. *Crystals*, 12(4), 509.
- Beke, G. J., and Hironaka, R. (1991). Toxicity to beef cattle of sulfur in saline well water: a case study. *Science of the Total Environment*, 101(3), 281–290.

- Beske, P. H., Wilhelm, C. M., Harvilchuck, J. A., Platoff Jr, G. E., and Yeung, D. T. (2022). A Rodent Model of Sulfur Mustard Hematologic Toxicity for the Efficacy Evaluation of Candidate Medical Countermeasures. *Military Medicine*, 187(1–2), e106–e115.
- Bhadiyatar, A. A., Patel, J. M., Patel, P. M., and Malav, J. K. (2022). Effect of potassium and sulphur on yield, quality and nutrient uptake by summer groundnut in loamy sand.
- Blake-Kalff, M. M. A., Hawkesford, M. J., Zhao, F. J., and McGrath, S. P. (2000). Diagnosing sulfur deficiency in field-grown oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil*, 225(1), 95–107.
- Bulgin, M. S., Lincoln, S. D., and Mather, G. (1996). Elemental sulfur toxicosis in a flock of sheep. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 208(7), 1063–1065.
- Chaudhuri, S. G. (2022). Pyritic sulphur—Its distribution, origin in coal seams and production of acid water in mines. In *Innovative Exploration Methods for Minerals, Oil, Gas, and Groundwater for Sustainable Development* (pp. 273–293). Elsevier.
- Cherdthong, A., Khonkhaeng, B., Seankamsorn, A., Supapong, C., Wanapat, M., Gunun, N., Gunun, P., Chanjula, P., and Polyorach, S. (2018). Effects of feeding fresh cassava root with high-sulfur feed block on feed utilization, rumen fermentation, and blood metabolites in Thai native cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 50(6), 1365–1371.
- Chilcott, R. P., Jenner, J., Hotchkiss, S. A. M., and Rice, P. (2001). In vitro skin absorption and decontamination of sulphur mustard: comparison of human and pig-ear skin. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 21(4), 279–283.
- Corvino, A., Frecentese, F., Magli, E., Perissutti, E., Santagada, V., Scognamiglio, A., Caliendo, G., Fiorino, F., and Severino, B. (2021). Trends in H₂S-Donors Chemistry and Their Effects in Cardiovascular Diseases. *Antioxidants*, 10(3), 429.
- Dahal, S., Thanet, D. R., and Gautam, D. (2020). Assessment of Human-Tiger Conflict and Its Community Based Mitigation Efforts in Madi

- Valley of Chitwan District, Nepal. *Journal of Forest and Natural Resource Management*, 2(1), 37–49.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., and Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*, 52(4), 601–623.
- Dixon, W. J., 1980. Efficient analysis of experimental observations. *Ann Review of Pharmacology and Toxicology*, 20:441-462.
- Depass, L. R. 1989. Alternative approaches in median lethality (LD50) and acute toxicity testing. *Toxicology letters*, 49(2-3), 159-170.
- Earnshaw, A., and Greenwood, N. N. (1997). *Chemistry of the Elements* (Vol. 60). Butterworth-Heinemann Oxford.
- Ejaz, H., Bibi, E., Ali, W., Ahmad, I., Lashari, A., Faiz, H., and Nazar, W. (2022). Sulphur and particulate matter affecting on soil and underground plants. *Journal of Agriculture and Applied Biology*, 3(1), 40–49.
- El-Demerdash, F. M. (2011). Oxidative stress and hepatotoxicity induced by synthetic pyrethroids-organophosphate insecticides mixture in rat. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 29(2), 145–158.
- Etemad, L., Moshiri, M., and Balali-Mood, M. (2019). Advances in treatment of acute sulfur mustard poisoning—a critical review. *Critical Reviews in Toxicology*, 49(3), 191–214.
- Exttoxnet, A. (1996). *Pesticide Information Profiles*. Extension Toxicology Network. Copper Sulphate.
- Feldman, R. G. (1999). *Occupational and environmental neurotoxicology*. Lippincott Williams and Wilkins.
- Gammon, D. W., Moore, T. B., and O'Malley, M. A. (2010). A toxicological assessment of sulfur as a pesticide. In *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology* (pp. 1889–1901). Elsevier.
- García-Labiano, F., Luis, F., Cabello, A., Gayán, P., Abad, A., Adánez, J., and Sprachmann, G. (2016). Sulphuric acid production via Chemical Looping Combustion of elemental sulphur. *Applied Energy*, 178, 736–745.

- Gautam, A., Vijayaraghavan, R., Sharma, M., and Ganesan, K. (2006). Comparative toxicity studies of sulfur mustard (2, 2'-dichloro diethyl sulfide) and monofunctional sulfur mustard (2-chloroethyl ethyl sulfide), administered through various routes in mice. *J Med CBR Def*, 4, 1–21.
- Gopinathan, P., Singh, A. K., Singh, P. K., and Jha, M. (2022). Sulphur in Jharia and Raniganj coalfields: Chemical fractionation and its environmental implications. *Environmental Research*, 204, 112382.
- Goswami, D. G., Agarwal, R., and Tewari-Singh, N. (2018). Phosgene oxime: Injury and associated mechanisms compared to vesicating agents sulfur mustard and lewisite. *Toxicology Letters*, 293, 112–119.
- Gunn, M. F., Baird, J. D., and Wilkie, J. S. N. (1987). Accidental sulfur poisoning in a group of Holstein heifers. *The Canadian Veterinary Journal*, 28(4), 188.
- Hale, A. T., Brown, R. E., Luka, Z., Hudson, B. H., Matta, P., Williams, C. S., and York, J. D. (2020). Modulation of sulfur assimilation metabolic toxicity overcomes anemia and hemochromatosis in mice. *Advances in Biological Regulation*, 76, 100694.
- Hall, J. O. (2018). Sulfur. In *Veterinary toxicology* (pp. 483–487). Elsevier.
- Hazen, R. M., Papineau, D., Bleeker, W., Downs, R. T., Ferry, J. M., McCoy, T. J., Sverjensky, D. A., and Yang, H. (2008). Mineral evolution. *American Mineralogist*, 93(11–12), 1693–1720.
- Hellman, B. O., Lernmark, Å., Sehlin, J., Täljedal, I., and Whistler, R. L. (1973). The pancreatic β -cell recognition of insulin secretagogues—III: Effects of substituting sulphur for oxygen in the d-glucose molecule. *Biochemical Pharmacology*, 22(1), 29–35.
- Holland, S. L., and Avery, S. V. (2011). Chromate toxicity and the role of sulfur. *Metallomics*, 3(11), 1119–1123.
- Hosseini, S. E., Mehrabani, D., and REZAEI, E. (2014). Effects of pomegranate juice on liver enzymes (ALT, ALP, AST) in diabetic and non-diabetic rats.
- Huang, Y., Zhang, H., Lv, B., Tang, C., Du, J., and Jin, H. (2022). Sulfur dioxide: endogenous generation, biological effects, detection, and

- therapeutic potential. *Antioxidants and Redox Signaling*, 36(4–6), 256–274.
- Huichalaf, C., Perfitt, T. L., Kuperman, A., Gooch, R., Kovi, R. C., Breneman, K. A., Chen, X., Hirenallur-Shanthappa, D., Ma, T., and Assaf, B. T. (2022). In vivo overexpression of frataxin causes toxicity mediated by iron-sulfur cluster deficiency. *Molecular Therapy-Methods and Clinical Development*, 24, 367–378.
- Iciek, M., Bilska-Wilkosz, A., and Górný, M. (2019). Sulfane sulfur—new findings on an old topic. *Acta Biochimica Polonica*, 66(4), 533–544.
- Jadhav, S. C., Salvi, V. G., Kasture, M. C., More, S. S., and AA, W. (2022). Influence of different levels of sulphur and biofertilizers on soil properties and yield of mulched Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) in lateritic soils of Konkan region.
- Kim, J.-H., Jang, H.-J., Cho, W.-Y., Yeon, S.-J., and Lee, C.-H. (2020). In vitro antioxidant actions of sulfur-containing amino acids. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 1678–1684.
- Kleinz, M. J., and Spence, I. (2008). The pharmacology of the autonomic nervous system. *Small Animal Clinical Pharmacology*, 5, 59.
- Kong, L., Xia, Z., Hu, X., and Peng, X. (2021). Chemical solidification/stabilization of arsenic sulfide and oxide mixed wastes using elemental sulfur: Efficiencies, mechanisms and long-term stabilization enhancement by dicyclopentadiene. *Journal of Hazardous Materials*, 419, 126390.
- Kulkarni, A. S., Vijayaraghavan, R., Anshoo, G., Satish, H. T., Pathak, U., Raza, S. K., Pant, S. C., Malhotra, R. C., and Prakash, A. O. (2006). Evaluation of analogues of DRDE-07 as prophylactic agents against the lethality and toxicity of sulfur mustard administered through percutaneous route. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 26(2), 115–125.
- Lamfon, H. A. (2007). Effect of silymarin against deltamethrin-induced histological and biochemical changes in liver of albino rats. *Indian J Exp Biol*, 3, 165–169.

- Li, Y., He, J., Luo, L., and Wang, Y. (2022). The combinations of sulfur and molybdenum fertilization improved antioxidant capacity in grazing Nanjiang brown goat. *Biological Trace Element Research*, 200(2), 600–608.
- Lide, D. R. (2005). *Physical constants of organic compounds*. CRC Handbook of chemistry and physics, 89, 3-1.
- Likus-Cieślik, J., Pietrzykowski, M., Śliwińska-Siuśta, M., Krzaklewski, W., and Szostak, M. (2015). A preliminary assessment of soil sulphur contamination and vegetations the vicinity of former boreholes on the afforested post-mine site Jeziórko. *Geology, Geophysics and Environment*, 41(4), 371.
- Lövblad, G., Persson, C., Klein, T., Ruoho-Airola, T., Hovmand, M., Tarrason, L., Larssen, T., Moldan, F., and Rapp, L. (2004). The deposition of base cations in the Nordic countries. IVL Svenska Miljöinstitutet.
- Maddison, J. E., Page, S. W., and Church, D. B. (2008). *Small animal clinical pharmacology* (Vol. 5). Elsevier Health Sciences.
- Massey, C. A., and Richerson, G. B. (2017). Isoflurane, ketamine-xylazine, and urethane markedly alter breathing even at subtherapeutic doses. *Journal of Neurophysiology*, 118(4), 2389–2401.
- Meng, W., Sun, M., Xu, Q., Cen, J., Cao, Y., Li, Z., and Xiao, K. (2019). Development of a series of fluorescent probes for the early diagnostic imaging of sulfur mustard poisoning. *ACS Sensors*, 4(10), 2794–2801.
- Milovanovic, I., Lajin, B., Braeuer, S., Steiner, O., Lisa, F., and Goessler, W. (2019). Simultaneous selenium and sulfur speciation analysis in cultivated *Pleurotus pulmonarius* mushroom. *Food Chemistry*, 279, 231–236.
- Mohamed, A.-M. O., and El-Gamal, M. (2010). *Sulfur concrete for the construction industry: a sustainable development approach*. J. Ross Publishing.
- Mohammed, R. A., and Mansour, S. M. (2021). Sodium hydrogen sulfide upregulates cystathionine β -synthase and protects striatum against 3-

- nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 73(3), 310–321.
- Morine, S. J., Drewnoski, M. E., Johnson, A. K., and Hansen, S. L. (2014). Determining the influence of dietary roughage concentration and source on ruminal parameters related to sulfur toxicity. *Journal of Animal Science*, 92(9), 4068–4076.
- Mullens, B. A., and Murillo, A. C. (2017). University of California, Riverside, CA, United States. *Advances in Poultry Welfare*, 295.
- Ng, K. H., Lai, S. Y., Jamaludin, N. F. M., and Mohamed, A. R. (2022). A review on dry-based and wet-based catalytic sulphur dioxide (SO₂) reduction technologies. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127061.
- Osman, M. K. A. (2001). *Fara'id in the Pahang State of Malaysia: Theory and practice*. University of Leeds.
- Parashar, A., Kumar, S., Dogra, P., Parashar, K., and Singh, A. (2022). Effect of nitrogen and sulphur applications on growth, yield and quality parameters of malt barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties under semi-arid eastern plain of Rajasthan.
- Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., and Piemonte, F. (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta*, 333(1), 19–39.
- PATOČKOVÁ, J., MARHOL, P., TŮMOVÁ, E., Krsiak, M., ROKYTA, R., Štípek, S., Crkovska, J., and ANDĚL, M. (2003). Oxidative stress in the brain tissue of laboratory mice with acute post insulin hypoglycemia. *Physiol. Res*, 52, 131–135.
- Pawar, N. N., Badgujar, P. C., Sharma, L. P., Telang, A. G., and Singh, K. P. (2017). Oxidative impairment and histopathological alterations in kidney and brain of mice following subacute lambda-cyhalothrin exposure. *Toxicology and Industrial Health*, 33(3), 277–286.
- Pean, A. R., Parsons, R. B., Waring, R. H., Williams, A. C., and Ramsden, D. B. (1995). Toxicity of sulphur-containing compounds to neuronal cell lines. *Journal of the Neurological Sciences*, 129, 107–108.

- Prašnikar, A., and Likozar, B. (2022). Sulphur poisoning, water vapour and nitrogen dilution effects on copper-based catalyst dynamics, stability and deactivation during CO₂ reduction reactions to methanol. *Reaction Chemistry and Engineering*, 7(5), 1073–1082.
- Redfern, W. S., Ewart, L. C., Lainée, P., Pinches, M., Robinson, S., and Valentin, J. P. (2013). Functional assessments in repeat-dose toxicity studies: the art of the possible. *Toxicology Research*, 2(4), 209-234.
- Rose, D., Schmidt, A., Brandenburger, M., Sturmheit, T., Zille, M., and Boltze, J. (2018). Sulfur mustard skin lesions: A systematic review on pathomechanisms, treatment options and future research directions. *Toxicology Letters*, 293, 82–90.
- Roy Choudhury, S., Basu, A., Dey, K. K., Nag, T., and Goswami, A. (2015). Toxicological Evaluation of Antimicrobially Potent Sulfur Nanoparticles Against Biochemical, Histopathological, and Behavioral Properties in Mice. *Proceedings of the Zoological Society*, 68(1), 64–73.
- Saksrithai, K., and King, A. J. (2018). Controlling hydrogen sulfide emissions during poultry productions. *J Anim Res Nutr*, 3(1), 2.
- Scammahorn, J. J., Nguyen, I. T. N., Bos, E. M., Van Goor, H., and Joles, J. A. (2021). Fighting oxidative stress with sulfur: Hydrogen sulfide in the renal and cardiovascular systems. *Antioxidants*, 10(3), 373.
- Seralini, G., Douzelet, J., and Halley, J. (2021). Sulfur in Wines and Vineyards: Taste and Comparative Toxicity to Pesticides. *Food and Nutrition Journal*, 6(1), 231.
- Shen, W., Liu, W., Yang, H., Zhang, P., Xiao, C., and Chen, X. (2018). A glutathione-responsive sulfur dioxide polymer prodrug as a nanocarrier for combating drug-resistance in cancer chemotherapy. *Biomaterials*, 178, 706–719.
- Shimasaki, T., Okamoto, K., Ohtsuka, H., and Aiba, H. (2020). Sulfur depletion induces autophagy through Ecl1 family genes in fission yeast. *Genes to Cells*, 25(12), 825–830.
- Short, C. E., and Bufalari, A. (1999). Propofol anesthesia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 29(3), 747–778.

- Sołek-Podwika, K., Ciarkowska, K., and Kaleta, D. (2016). Assessment of the risk of pollution by sulfur compounds and heavy metals in soils located in the proximity of a disused for 20 years sulfur mine (SE Poland). *Journal of Environmental Management*, 180, 450–458.
- Soni, A. K., Bhaskar, A. S. B., Pathak, U., Nagar, D. P., Gupta, A. K., and Kannan, G. M. (2020). Pulmonary protective efficacy of S-2 [2-aminoethylamino] ethyl phenyl sulphide (DRDE-07) and its analogues against sulfur mustard induced toxicity in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 76, 103333.
- Stohs, S. J., and Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(2), 321–336.
- Sun, C., Yu, W., Lv, B., Zhang, Y., Du, S., Zhang, H., Du, J., Jin, H., Sun, Y., and Huang, Y. (2022). Role of hydrogen sulfide in sulfur dioxide production and vascular regulation. *Plos One*, 17(3), e0264891.
- SV, R. R., Raju, M., Srilatha, T., Nagalakshmi, D., and Rajkumar, U. (2022). Supplementation of sulphur and folic acid improves performance of broiler chicken fed sub-optimal concentrations of dietary methionine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Talukdar, L., Dutta, S., Dutta, P., and Hussain, J. (2022). Nitrogen and Sulphur interaction on nutrient use efficiency in field crops: A review.
- Tilson, H. A. (1987). Behavioral indices of neurotoxicity: what can be measured? *Neurotoxicology and Teratology*, 9(6), 427–443.
- Toohey, J. I., and Cooper, A. J. L. (2014). Thiosulfoxide (sulfane) sulfur: new chemistry and new regulatory roles in biology. *Molecules*, 19(8), 12789–12813.
- Ubuka, T., Abe, T., Kajikawa, R., and Morino, K. (2001). Determination of hydrogen sulfide and acid-labile sulfur in animal tissues by gas chromatography and ion chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 757(1), 31–37.
- Vestreng, V., Myhre, G., Fagerli, H., Reis, S., and Tarrasón, L. (2007). Twenty-five years of continuous sulphur dioxide emission reduction in Europe. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 7(13), 3663–3681.

- Wagenfeld, J.-G., Al-Ali, K., Almheiri, S., Slavens, A. F., and Calvet, N. (2019). Sustainable applications utilizing sulfur, a by-product from oil and gas industry: A state-of-the-art review. *Waste Management*, 95, 78–89.
- Wang, C., Liang, C., Ma, J., Manthari, R. K., Niu, R., Wang, J., Wang, J., and Zhang, J. (2018). Co-exposure to fluoride and sulfur dioxide on histological alteration and DNA damage in rat brain. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(2), e22023.
- Wang, H., Yang, Y., Liang, Y., Robinson, J. T., Li, Y., Jackson, A., Cui, Y., and Dai, H. (2011). Graphene-wrapped sulfur particles as a rechargeable lithium–sulfur battery cathode material with high capacity and cycling stability. *Nano Letters*, 11(7), 2644–2647.
- Wiberg, E., Holleman, A. F., and Wiberg, N. (2001). *Inorganic chemistry*. Academic press.
- Yousef, M. I., El-Demerdash, F. M., Kamel, K. I., and Al-Salhen, K. S. (2003). Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology*, 189(3), 223–234.
- Yu, B., Yuan, Z., Yang, X., and Wang, B. (2020). Prodrugs of persulfides, sulfur dioxide, and carbon disulfide: important tools for studying sulfur signaling at various oxidation states. *Antioxidants and Redox Signaling*, 33(14), 1046–1059.
- Yunming, Z. (1986). Ancient chinese sulfur manufacturing processes. *Isis*, 77(3), 487–497.
- Zeng, D., Wang, M., Deng, W.-P., and Jiang, X. (2020). The same oxygenation-state introduction of hypervalent sulfur under transition-metal-free conditions. *Organic Chemistry Frontiers*, 7(23), 3956–3966.
- Zenick, H. (1983). Use of pharmacological challenges to disclose neurobehavioral deficits. *Federation Proceedings*, 42(15), 3191–3195.
- Zhang, X., Vincent, A. S., Halliwell, B., and Wong, K. P. (2004). A mechanism of sulfite neurotoxicity: direct inhibition of glutamate dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*, 279(41), 43035–43045.

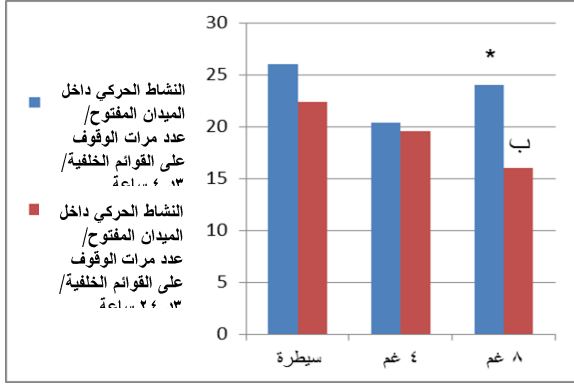
- Zhao, G., Wang, A., He, W., Xing, Y., and Xu, X. (2019). 2D new nonmetal photocatalyst of sulfur-doped h-BN nanosheets with high photocatalytic activity. *Advanced Materials Interfaces*, 6(7), 1900062.
- Zheng, X., Orellano, P., Lin, H., Jiang, M., and Guan, W. (2021). Short-term exposure to ozone, nitrogen dioxide, and sulphur dioxide and emergency department visits and hospital admissions due to asthma: a systematic review and meta-analysis. *Environment International*, 150, 106435.

الملاحق

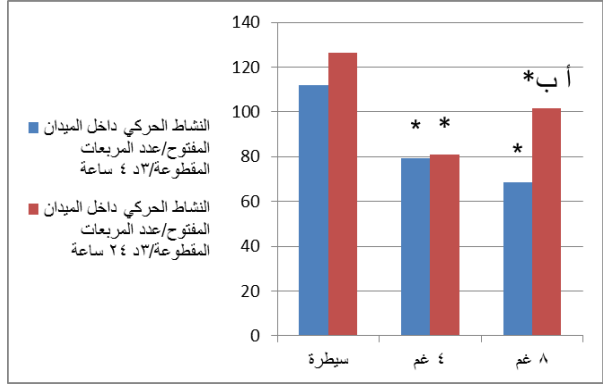
Appendices

الجزء الثاني من السلسلة	K تمثل سلسلة الاختيارات التي تبدأ كما يأتي					الخطأ القياسي
	O	OO	OOO	OOOO		
XOOO	٠,١٥٧-	٠,١٥٤-	٠,١٥٤-	٠,١٥٤-	OXXX	٠.٦١
XOOX	٠,٨٧٨-	٠,٨٦١-	٠,٨٦٠-	٠,٨٦٠-	OXXO	
XOXO	٠,٧٠١	٠,٧٣٧	٠,٧٤١	٠,٧٤١	OXOX	
XOXX	٠,٠٨٤	٠,١٦٩	٠,١٨١	٠,١٨٢	OXOO	
XXOO	٠,٣٠٥	٠,٣٧٢	٠,٣٨٠	٠,٣٨١	OOXX	
XXOX	٠,٣٠٥-	٠,١٦٩-	٠,١٤٤-	٠,١٤٢-	OOXO	
XXXO	١,٢٨٨	١,٥٠٠	١,٥٤٤	١,٥٤٩	OOOX	
XXXX	٠,٥٥٥	٠,٨٩٧	٠,٩٨٥	١,٠٠٠	OOOO	
	X	XX	XXX	XXXX	الجزء الثاني	
	K- تمثل سلسلة الاختيارات التي تبدأ كما يأتي					

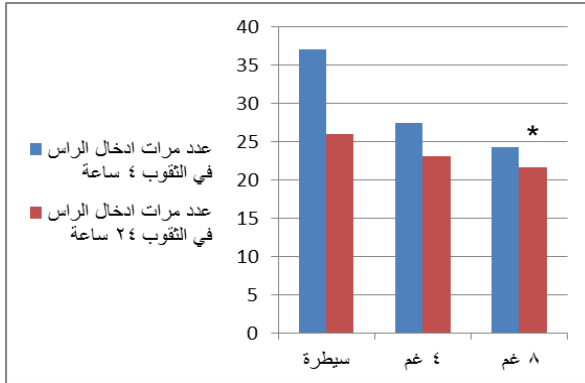
الملحق (١) جدول حساب الجرعة المميّنة الوسطية (الجم-٥٠)



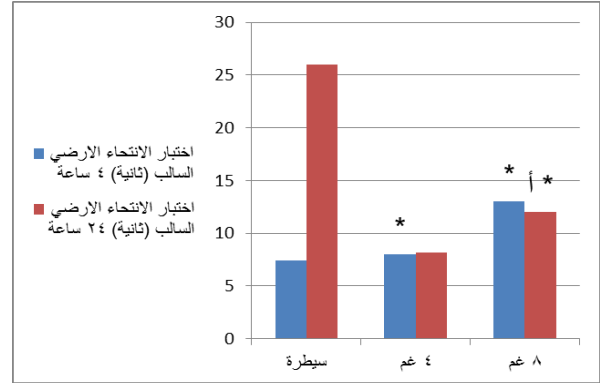
(ب): عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية



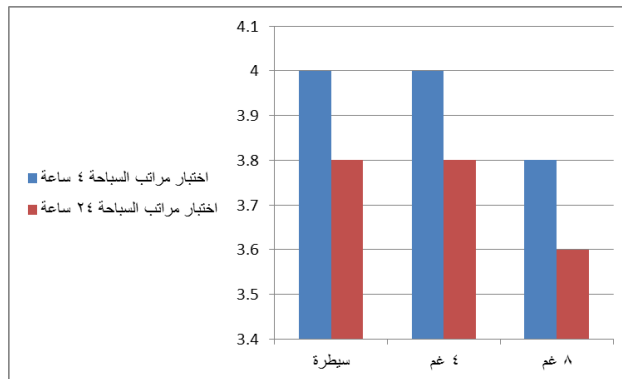
(أ): عدد المربعات المقطوعة



(د): عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب



(ج): اختبار الإنتحاء الأرضي



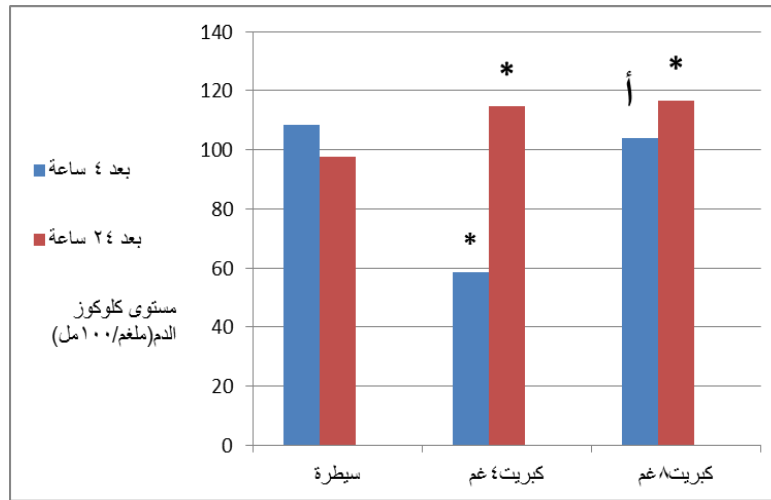
(هـ): اختبار مراتب السباحة

(* القيمة تختلف معنوياً مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

(أ) القيمة تختلف معنوياً بين مجموعة ٤ و ٨ عم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

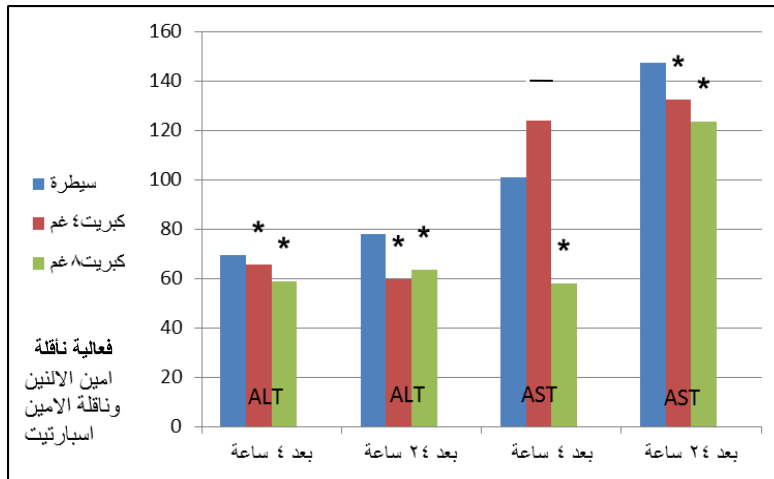
الملحق (٢): القياسات السلوكية العصبية في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨

غم/كغم من وزن الجسم بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة



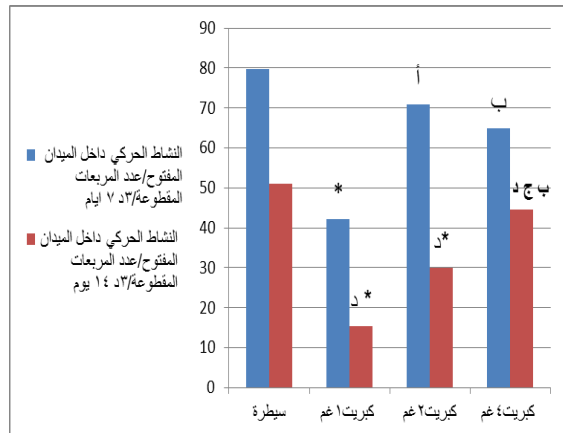
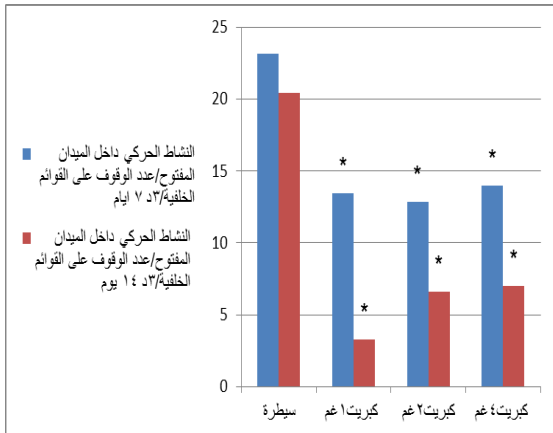
(*) القيمة تختلف معنوياً مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 (أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

الملحق (٣): تأثير إعطاء الكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم في مستوى كلوكوز الدم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة من المعاملة

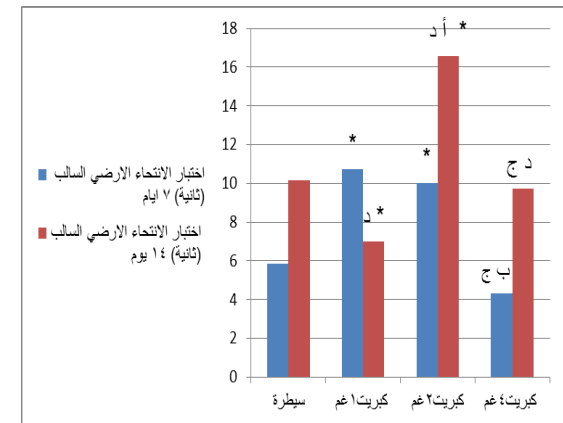
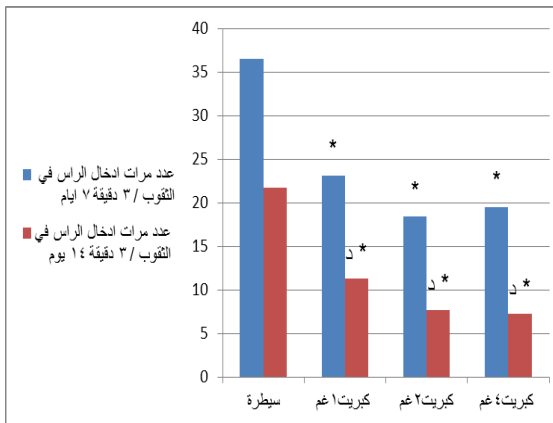


(*) القيمة تختلف معنوياً مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

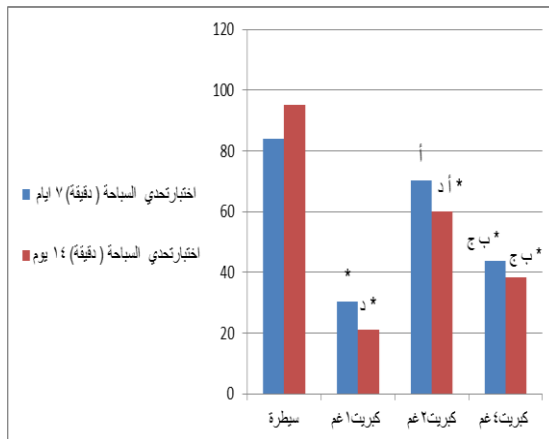
الملحق (٤): تأثير إعطاء الكبريت بجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم في فعالية أنزيم ناقله امين الألائين ALT وناقله الامين الأسبارتيت AST عن طريق الفم في الفئران بعد ٤ و ٢٤ ساعة



(ب): عدد مرات الوقوف على القوائم الخلفية (أ): عدد المربعات المقطوعة

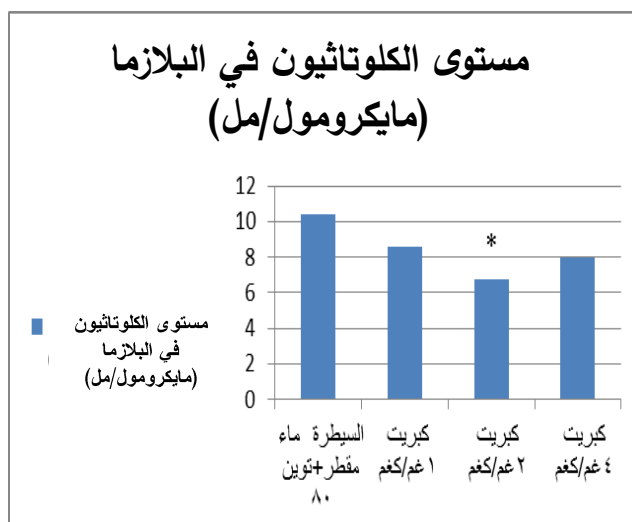


(د): عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب (ج): اختبار الإنتحاء الأرضي السالب

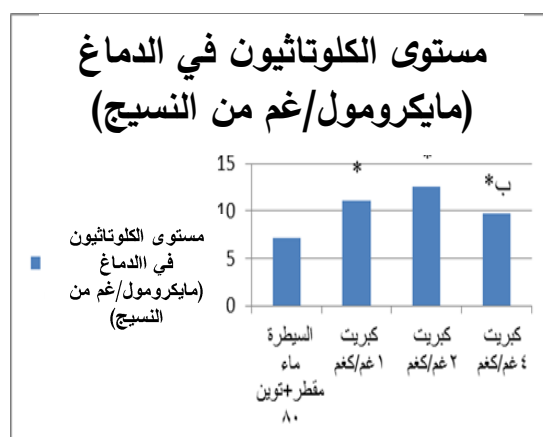
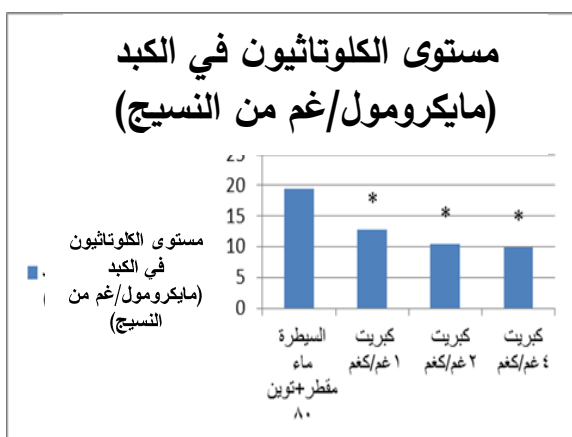


(هـ): اختبار قدرة التحمل وتحدي السباحة

- (*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
- (أ) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
- (ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
- (ج) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
- (د) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ٧ يوم و ١٤ يوم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
- الملحق (٥): يوضح القياسات السلوكية العصبية للفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٧ و ١٤ يوم من المعاملة



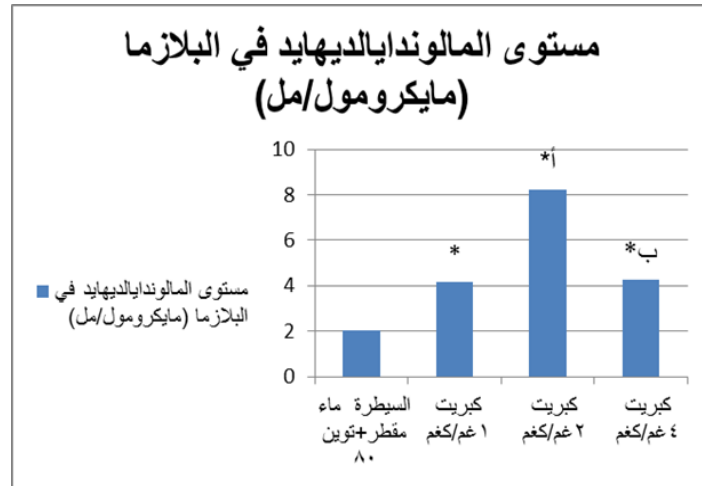
(أ): مستوى الكلوتاثيون في بلازما الدم



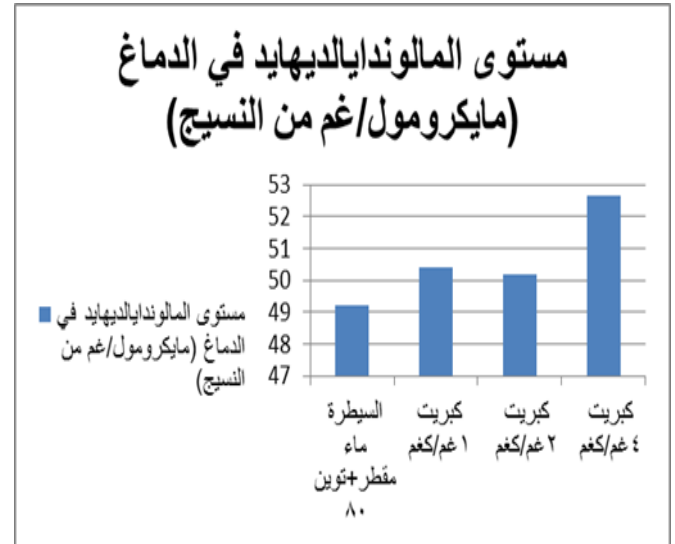
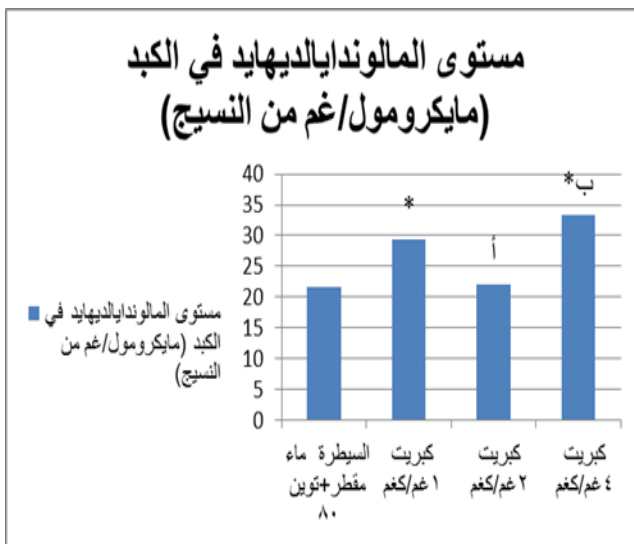
(ب): مستوى الكلوتاثيون في نسيج الدماغ (ج): مستوى الكلوتاثيون في نسيج الكبد

(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 (ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ غم و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

الملحق (٦): يوضح مستوى الكلوتاثيون في بلازما دم ودماغ وكبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع أو ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة



(أ): مستوى المألونداياليدهايد في بلازما الدم



(ب): مستوى المألونداياليدهايد في نسيج الدماغ (ج): مستوى المألونداياليدهايد في نسيج الكبد

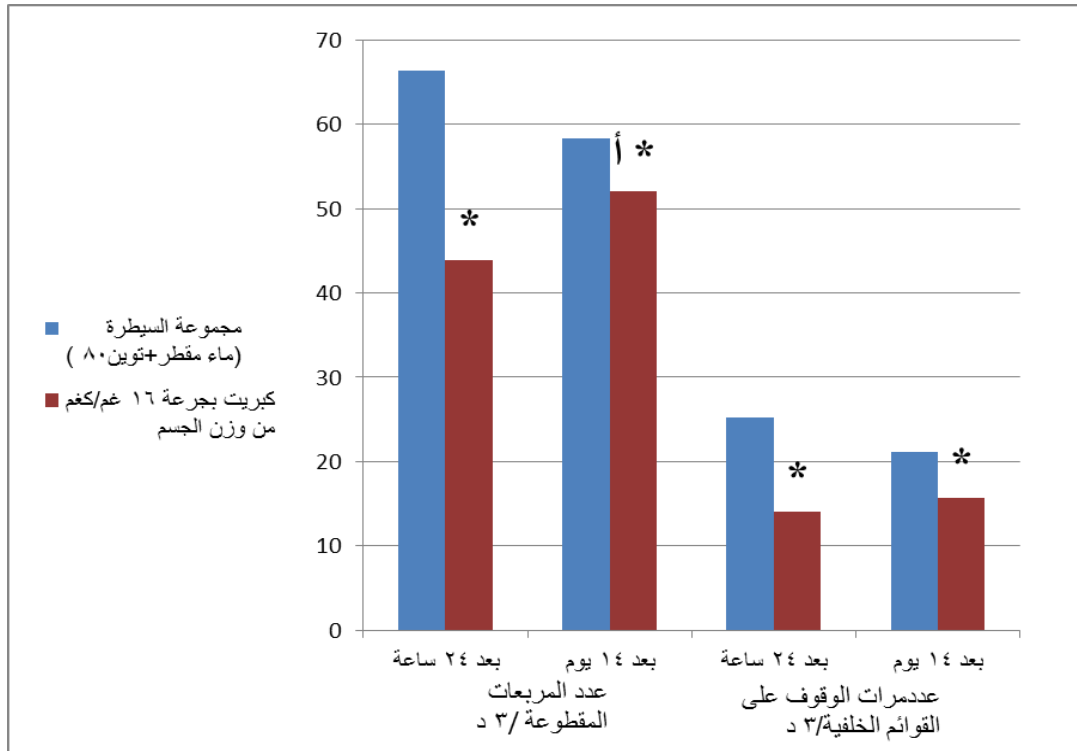
- (*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
- (أ) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٢ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
- (ب) القيمة تختلف معنوياً بين المجموعة المعاملة بالكبريت بجرعة ١ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

الملحق (٧): يوضح مستوى المألونداياليدهايد في بلازما ودماغ وكبد الفئران المعاملة بالكبريت بالجرع ١ و ٢ و ٤ غم/كغم من وزن الجسم بعد ١٤ يوماً من المعاملة



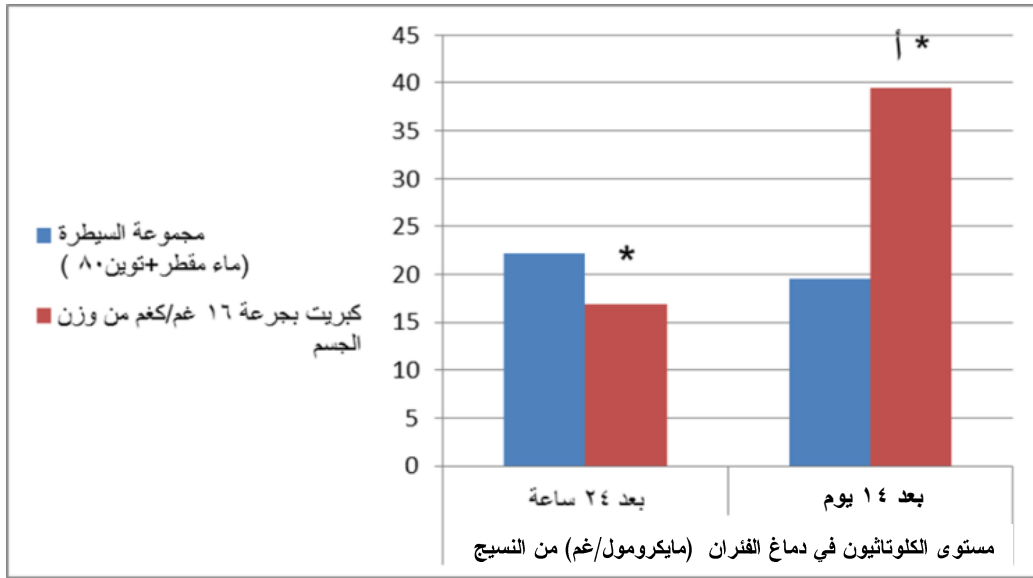
(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 (أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الفئران المعاملة بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

الملحق (٨): زمن النوم المحدث بالزايلازين والكيتامين في الفئران المعاملة بالكبريت بالجرعتين ٤ و ٨ غم/كغم من وزن الجسم



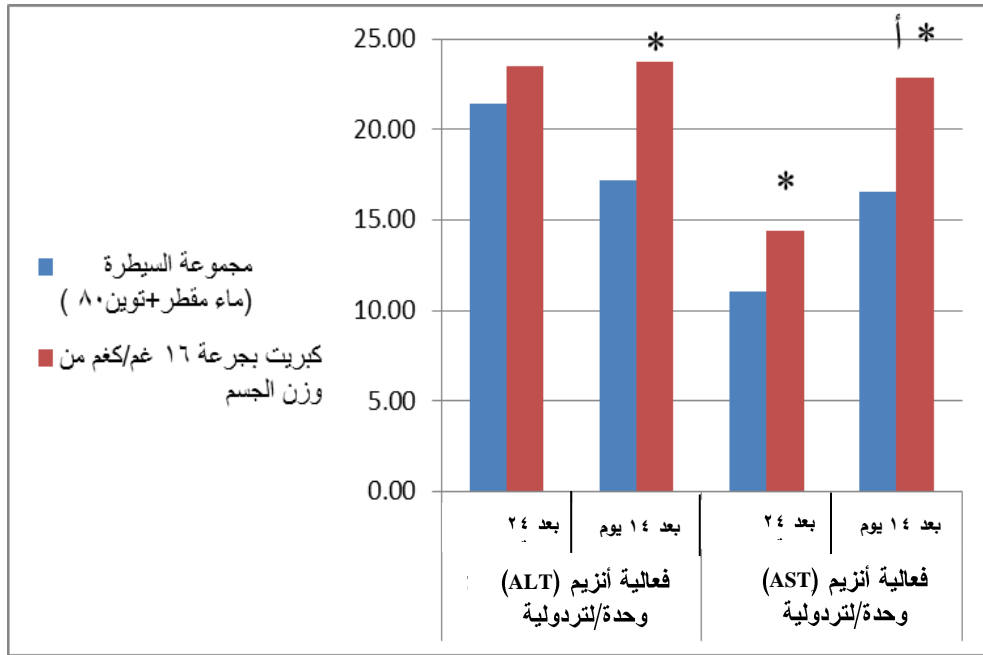
(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 (أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوم في الفئران المعاملة بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

الملحق (٩): قياسات النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح في الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة



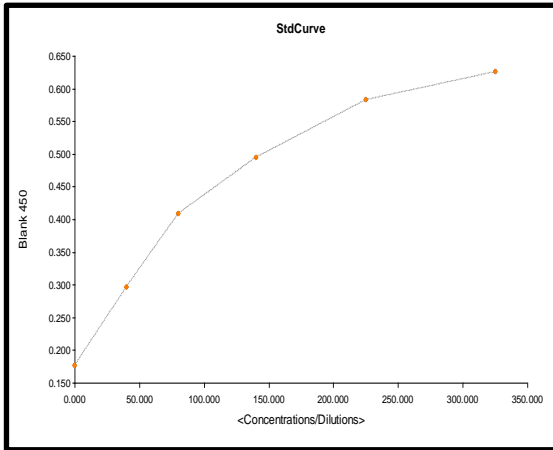
(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 (أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوم في الفئران المعاملة بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

الملحق (١٠): مستوى الكلوتاثيون في دماغ الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة

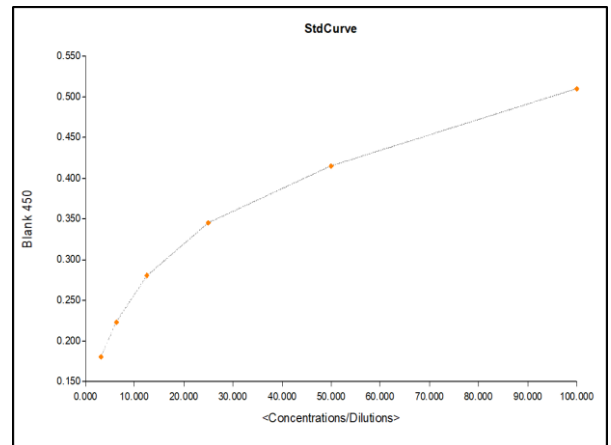


(*) القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥
 (أ) القيمة تختلف معنوياً ما بين الوقتين ٢٤ ساعة و ١٤ يوم في الفئران المعاملة بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم عند مستوى احتمالية أقل من ٠,٠٥

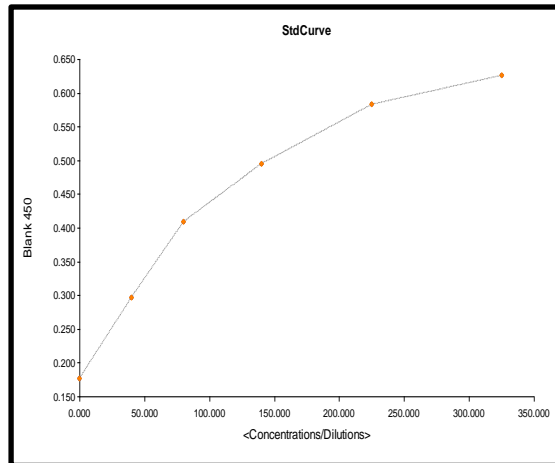
الملحق (١١): فعالية أنزيم ناقلة امين الألنين وناقلة امين الأسبارتيت في بلازما دم الفئران المعاملة بالكبريت بجرعة ١٦ غم/كغم من وزن الجسم بعد ٢٤ ساعة و ١٤ يوماً من المعاملة



(ب): المنحنى القياسي لـ (ALT)



(أ): المنحنى القياسي للكوتاثيون (GSH)



ج: المنحنى القياسي لـ (AST)

الملحق (١٢): المنحنيات القياسية لكل من AST و ALT و GSH

Abstract

The aim of the current study is to know the potential toxicity of sulfur in mice by studying the neurobehavioral toxicity as well as the biochemical effects induced by sulfur.

The median lethal dose (LD₅₀) of sulfur was determined in mice based on the up and down method. The LD₅₀ of sulfur was 33.22 g/kg of body weight orally, while the approximate LD₅₀ of sulfur was 36 g/kg of body weight orally which led to the death of mice during 24 h. Sulfur at 4 and 8 g/kg in mice after 4 and 24h significantly decreased the number of squares cut by mice with both doses respectively compared to the control group. After 4 and 24 h, sulfur at 8 g/kg caused a significant increase in the number of times raring. Negative geotaxis test showed that administration of sulfur at 4 and 8 g/kg caused a decrease in the time required to finish the test after 4 h in compared to the control group, while there was a significant increase in the time to finish the test by mice treated with sulfur at 8 g / kg after 24 h compared to the control group, as for the test of the number of head pocking in the holes, the mice treated with sulfur at 8 g/kg showed a significant decrease of head pocking after 24 h compared to the control group. Sulfur at 4 g/kg after 4 h of treatment caused a significant decrease in the level of glucose in the blood compared to the control group, while the two doses of 4 and 8 g/kg caused a significant increase in the level of blood glucose, respectively, compared to the control group after 24 hours of treatment. Sulfur at the two doses 4 and 8 g/kg caused a significant decrease in the activity of ALT after 4 hours in compared to the control group. On the other hand, administration of sulfur at 4 and 8 g/kg led to a decrease in the activity of AST compared to the control group after 4 hours of treatment, and a dose of 8 g/kg caused a significant decrease in enzyme activity compared to the control group and when comparing the effect of sulfur on the activity of AST between the two times. 4 and 24 hours of treatment of mice, a significant increase in enzyme activity was observed at 8 g/kg compared to the enzyme activity after 24 hours of treatment.

After 7 days of mice administration, sulfur at 1 g/kg caused a decrease in the number of squares cut in comparison to the control group, and after 14 days of treating mice, sulfur at 1 and 2 g/kg caused a significant decrease in the number of squares cut by mice, respectively, compared to

the control group, and when comparing the results of this motor activity between day 7 and day 14 of the treatment caused doses of 1, 2, and 4 g/kg a significant decrease in the number of squares cut consecutively after 7 days compared to the number of squares cut after 14 days of treatment. On days of treatment, sulfur significantly decreased compared to the control group. When the negative geotaxis test was performed, administration of sulfur at 1 and 2 g/kg led to an increase in the time needed to finish the test compared to the control group after 7 days of treatment. When testing the number of head pocking, sulfur at 1, 2, 4 g/kg, caused a significant decrease in the number of times, respectively, compared to the control group after 7 and 14 days of treating mice with sulfur, in addition to a significant decrease in the number of times when comparing the results between the times 7 and 14 days. from the treatment.

When studying the swimming challenge test in mice treated with sulfur at 1 and 4 g/kg after 7 days, the mice showed a significant decrease in the time of the swimming challenge test successively compared to the control group. The treatment was successively compared to the control group. The administration of sulfur at 2 g / kg on day 14 of the treatment led to a significant decrease in the concentration of glutathione compared to the control group. On the other hand, the administration of sulfur at 1, 2 and 4 g / kg led to a significant increase in the concentration of glutathione in the brain. After 14 days of treatment successively compared to the control group, sulfur at 1, 2, and 4 g/kg induced a significant decrease, in the concentration of liver glutathione compared to the control group. The administration of sulfur at 1, 2 and 4 g/kg caused a significant increase in the conc. of malondialdehyde in the blood plasma of mice, respectively, compared to the control group. Sulfur (1 and 4 g/kg) caused a significant increase in the conc. of malondialdehyde in the liver, respectively, compared to the control group. Sulfur at 4 and 8 g/kg led to a significant increase in the time of sleep onset and a significant decrease in the period of sleep compared to the control group. When tracking the neurobehavioral and biochemical effects of sulfur during the 14 days after treatment, the mice were given sulfur at a dose of 16 g/kg reduced Significant in the number of squares cut in the open field after 24 h of treatment compared to the control group, sulfur also caused a significant decrease after 14 days of treatment compared to the control group, on the

other hand, sulfur at 16 g/kg caused a significant decrease in the number of rearing after 24 h of treatment compared to the control group, as well as a significant reduction in the number of rearing after 14 days of treatment compared to the control group. Sulfur at the same doses caused a significant increase in the conc. of glutathione after 14 days of treatment compared to the control group and when measuring the activity of ALT in the blood plasma of mice. Sulfur at 16 g/kg caused a significant increase in enzyme activity after 14 days of treatment compared to the control group. respectively compared to the control group. We conclude from our study the possibility of sulfur causes neurotoxicity at many levels such as neurological behavior and at the level of pharmacological challenges, as well as its effect on some enzymatic measurements in blood plasma and the level of glutathione and malondialdehyde in the liver and brain.

The Study of Potential Neurotoxicity of Sulfur In Mice

**A Thesis Submitted
By**

Firas Salah Hassan

**To
The Council of College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In Partial Fulfillment of the Requirement for
the Degree of Master of Science
In
Veterinary Medicine / Veterinary pharmacology and Toxicology**

**Supervised By
Professor
Dr. Banan Khalid Abdulrhman, Al-Baggou'**

2022 A.D

1444 A.H

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



The Study of Potential Neurotoxicity of Sulfur In Mice

Firas Salah Hassan

M. Sc. Thisis

**In Veterinary Medicine / Veterinary pharmacology and
Toxicology**

Supervised By

Professor

Dr. Banan Khalid Abdulrhman, Al-Baggou'

2022 A.D

1444 A.H

