

تأثير التدخين السلبي Passive Smoking لفترات مختلفة على إمرضية أنسجة الجهاز العصبي المركزي لذكور الفئران المهقء *Mus musculus*

شيرين مثكال مطلق الجريا قصي محمود الدخيل

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

(أستلم 2013/ 11 /11 ؛ قُبل 2013/12/ 30)

الملخص

يهدف البحث إلى إظهار التغيرات المرضية النسيجية التي يسببها التدخين السلبي في أنسجة الجهاز العصبي المركزي حيث عرضت الحيوانات المختبرية لفترة (10، 20) أسبوع للتدخين السلبي ولمدة (2،4) ساعة يومياً و أظهر الفحص النسيجي لمقاطع الدماغ و الحبل الشوكي وجود تغيرات مرضية تمثلت بالتكسية والنخرية للخلايا العصبية فيهما بالإضافة إلى التقجي والنزف الشديد في نسيج الدماغ واحتقان الأوعية الدموية في الدماغ والحبل الشوكي ووضوح الخثرة في داخل الوعاء الدموي لنسيج المخ.

الكلمات الدالة: التدخين السلبي، الدماغ، الحبل الشوكي.

The Effect of Passive Smoking for Different Periods on Histopathological Central Nervous System of Male Mice *Mus musculus*

Shereen M. Al-Jarba

Qusay M. Al-Dakheel

Department of Biology/ College of Science/ University of Mosul

ABSTRACT

The research aims to show the histopathological changes caused by passive smoking in the central nervous system tissues. Laboratory animals were offered for (10, 20) weeks for a period of passive smoking (2,4) hours per day. Histopathological examination of brain and spinal cord showed the presence of degeneration and necrotic neurons in the brain tissue and spinal cord in addition to vacuolation and heavy hemorrhage in the brain tissue and congestion of blood vessels of the brain and spinal cord and clarity clot inside the blood vessel of the brain tissue.

Keywords: Passive Smoking, Brain, Spinal Cord.

المقدمة

يعرف التدخين السلبي Passive Smoking، باستنشاق المحيطين لدخان السكائر المنبعث من شخص مدخن (Cancer Council Victoria, 2008) و يطلق عليه أيضا بالتدخين اللاإرادي Involuntary Smoking أو الدخان الثانوي (SHS) Secondhand Smoke أو دخان التنغ البيئي (WHO, 2000) Environmental Tobacco Smoke، ويحتل التدخين السلبي المرتبة الثالثة بين الأسباب الرئيسية للوفاة التي يمكن الوقاية منها في الولايات المتحدة الأمريكية لتحتل مرتبة مهمة بعد التدخين النشط Active Smoking وتعاطي الكحول بالموقع الأول (Repace, 2006)، وارتبط التدخين السلبي بزيادة

مخاطر الإصابة بأمراض القلب التاجية Coronary Heart Disease والنوبات القلبية Heart Attack وخطر الإصابة بالسكتة الدماغية Stroke بمعدل 25% (Hankey, 1999 ; He et al., 1999, Law et al., 1997) يذهب دخان السكائر الأفراد لمشاكل تصلب الشرايين Atherogenic والتخثرات Thrombotic والسكتة الدماغية Stroke (Peter et al., 2010).

يحتوي دخان السكائر على أكثر من 7000 مادة كيميائية العديد منها سام Toxic Chemicals و 69 من مكوناتها هي مواد مسرطنة Carcinogens، تعود التأثيرات الضارة على أنسجة الجسم إلى هذه المواد، فأول اوكسيد الكربون الموجود في دخان السكائر يحد من قدرة الدم على حمل الأوكسجين مسبباً نقصاً في أوكسجين الأنسجة Hypoxia (Glantz and Parmley, 1991; Hill et al., 1978) مؤثراً بذلك على العضلات والمخ وأنسجة الجسم الأخرى مما يجعل الجسم كله وخاصة القلب يعمل بجهد اكبر. إن نقص الأوكسجين وتضييق الأوعية الدموية الناتج من تأثير أول اوكسيد الكربون والنيكوتين الذي يعد أيضاً عاملاً مضيئاً للأوعية الدموية مؤدياً بذلك إلى خطر الإصابة بالسكتة الدماغية Stroke (Seidman and Mashiach, 1991).

يحتوي دخان السكائر أيضاً على مواد كيميائية اثبت بأنها مواد سامة عصبية Neurotoxic (Trask and Kosfsky, 2000) ومواد سامة جينية (وراثية) Genotoxic (Burns et al., 2001) وهذه السموم تعمل على زيادة معدلات الأمراض التنكسية Neurological Degenerative Disease وداء العصبون الحركي Motor Neuron (MND) Disease (Neil, 2002- 2005; Kamel et al., 2002; Nelson et al., 2000).

المواد وطرائق العمل

أجريت الدراسة الحالية على ذكور الفئران البيض البالغة من أصل سويسري نوع *Mus musculus*، تراوحت أعمارها بين (3-4) أشهر، بمعدل وزن (27) غم، وزعت الفئران البالغ عددها (30) فأر بالغ على مجموعات سيطرة وتجريبية بشكل عشوائي، شملت مجموعة السيطرة و أربعة مجموعات تجريبية. وُضعت الفئران (6 فأرة) في أقفاص بلاستيكية ذات أغطية معدنية شبكية أبعادها (13×16×30) سم صنع محلي و تم تعريض الفئران لدخان السكائر باستخدام جهاز ألتدخين ألسليبي والمصمم محلياً (الدخيل، 2001).

استخدمت سكائر نوع GITANES Blondes Lights تحوي نيكوتين بنسبة (0.6) ملغم/ سكارا وقطران بنسبة (7) ملغم/ سكارا كما مثبت على ألعبة ذات صنع European Union France، عرضت المجاميع التجريبية لدخان السكائر بواقع (24,12) سكارا يوميا لفترة (4,2) ساعة ولمدة (20,10) أسبوع.

تم تخدير العينات موضوع ألبحث باستخدام الإيثر لأجراء أصفه ألتشريحية، ثم تم استئصال أالجهاز ألعصبي أالمركزي Central Nervous System (ألدماغ Brain، أالحبل أالشوكي Spinal Cord)، بعدها وضعت ألعينات في محلول ألتثبيت (محلول أأفورمالين أأدائ أأمتعادل Neutral Buffer Formalin Solution) أالمحضر بطريفة (Luna, 1968)، حضرت أألقاطع أأالنسجية أأعتمادا على طريفة (Bancroft and Steven, 1975)، صبغت أألقاطع أأالنسجية بأستخدام صبغة هارس هيماتوكسولين وأيوسين Harris Hematoxylin and Eosin Stain، وصبغت أألقاطع أأالنسجية وفق طريفة (Humason, 1979).

أستخدم أالمجهر الضوئي من نوع (Olympus) وكاميرا رقمية من نوع (Sony-DSC- W30) لأفحص أالشرائح Slides، وتم حساب قوة أالتكبير حسب معادلة معدة تبعاً لنوع الكاميرا ونوع أالمجهر أالمستخدم.

النتائج

المجموعة التجريبية الأولى (مجموعة السيطرة)

أظهر الفحص النسجي المجهرى لمقاطع الدماغ Brain والحبل الشوكي Spinal Cord للفئران المعرضة للهواء النقي فقط، عدم وجود أي تغيرات في النسيج، الصورتان (1 و2).

المجموعة التجريبية الثانية

أظهر الفحص النسجي المجهرى لأدمغة الفئران المعرضة لدخان السكائر لمدة (ساعتين / عشرة أسابيع) وجود تغيرات نسية تمثلت بوضوح الوذمة (الخزب) حول الأوعية الدموية Vasogenic edema التي ظهرت بشكل فراغ يحيط بالوعاء الدموي، إضافة إلى وضوح التفجى Vacuolation في الخلايا العصبية (صورة 3) أظهرت مقاطع أخرى النزف الشديد في المادة البيضاء White Matters في المخيخ (صورة 4).

في حين اظهر الفحص المجهرى للمقاطع النسية للحبل الشوكي Spinal Cord وجود تغيرات نسية تمثلت بإرتشاح الخلايا الدباقية حول القناة المركزية للحبل الشوكي إضافة إلى وضوح النزف والنخر للعصبات الحركية Motor neurons والخلايا النجمية Astrocytes (صورة 5).

المجموعة التجريبية الثالثة

التغيرات النسية لمجموعة الفئران المعرضة لدخان السكائر لمدة (ساعتين/ عشرين أسبوعاً) تمثلت بتغيرات تنكسية ونخرية Degenerative and Necrotic Changes في نسيج المخ فضلاً عن وضوح النزف في طبقات المخيخ وتتكس خلايا الطبقة الجزيئية والنخر لخلايا الطبقة الحبيبية (صورة 6).

أما الفحص النسجي المجهرى للحبل الشوكي أظهر تغيرات نسية أكثر شدة من المجموعة السابقة والتي تمثلت بوضوح التفجى في المنطقة البيضاء ونخر العصبات الحركية Motor neurons وتغلظ أنوية الخلايا Pyknotic Nuclei (صورة 7).

المجموعة التجريبية الرابعة

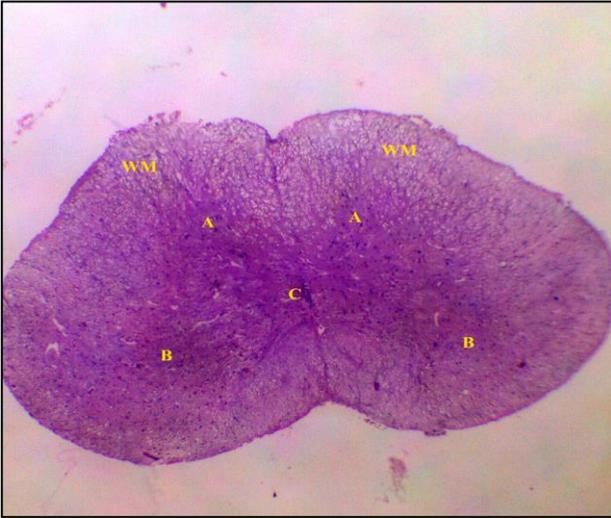
مجموعة الفئران المعرضة لدخان السكائر لمدة (اربع ساعات / عشرة أسابيع) اظهر الفحص النسجي المجهرى لمقاطع المخ والمخيخ تغيرات مماثلة للمجاميع السابقة وتغيرات أخرى في نسيج المخ تمثلت بوضوح الخثرة Thrombus في داخل الوعاء الدموي ونخر نسيج الدماغ (صورة 8).

أما المقاطع النسية للحبل الشوكي اظهر الفحص النسجي لها تغيرات مشابهة للمجموعة السابقة التي تمثلت بنخر العصبات الحركية والتفجى للمادة البيضاء.

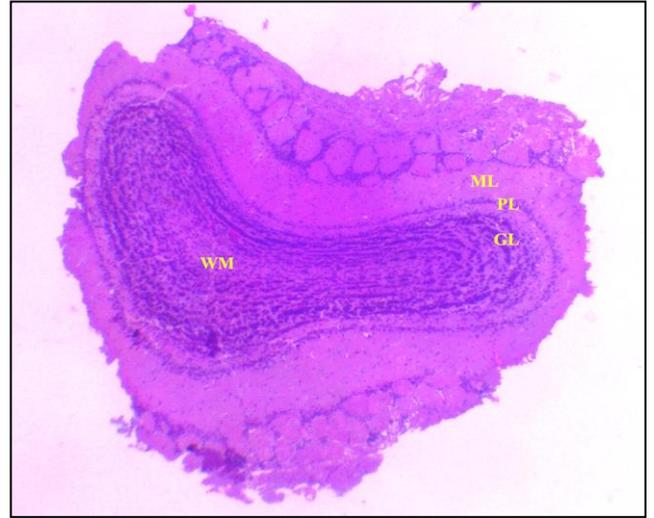
المجموعة التجريبية الخامسة

أظهر الفحص النسجي المجهرى لمجموعة الفئران المعرضة لدخان السكائر لمدة (اربع ساعات / عشرين أسبوعاً) وجود تغيرات تمثلت بأنها أكثر شدة من المجاميع السابقة والتي تميزت بالاحتقان الشديد للأوعية الدموية مع وضوح التفجى في نسيج الدماغ إضافة إلى نخر الخلايا العصبية Neuronal Necrosis (صورة 9).

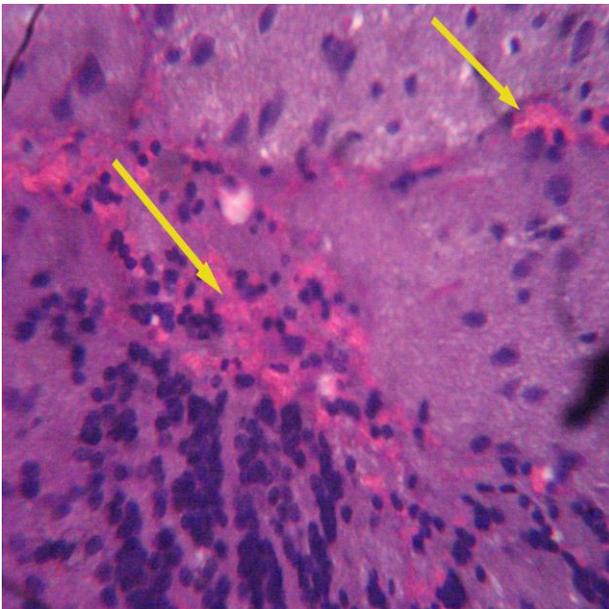
التغيرات النسية لمقاطع الحبل العصبى كانت مشابهة للمجاميع السابقة وتميزت بأنها أكثر شدة تمثلت بالنخر الشديد للخلايا العصبية في المادة السنجابية وظهرت خلايا خالية من الأنوية واحتقان الأوعية الدموية فيها بالإضافة إلى تفجى ونخر الخلايا العصبية للمادة البيضاء (صورة 10).



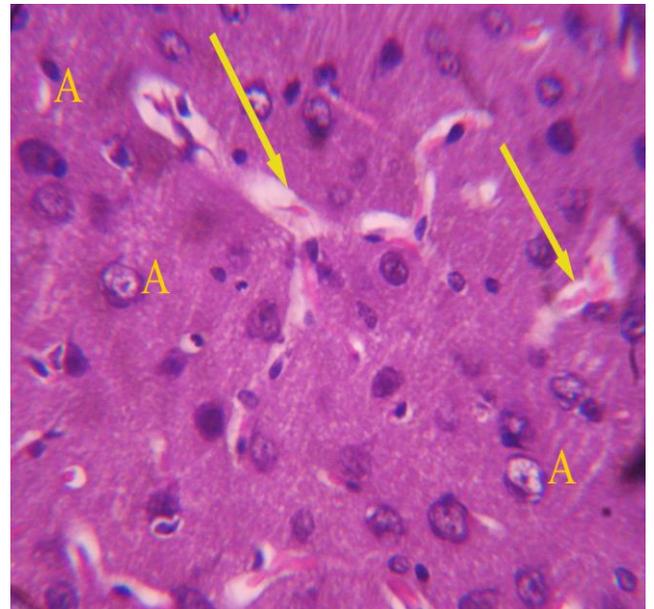
الصورة 2 : صورة مجهرية لمقطع نسجي في الحبل الشوكي لفأر من مجموعة السيطرة توضح المادة البيضاء (WM) والقرنان الظهران (A)، القرنان البطنيان (B) للمادة الرمادية والقناة المركزية (C). (صبغة H & E، X35).



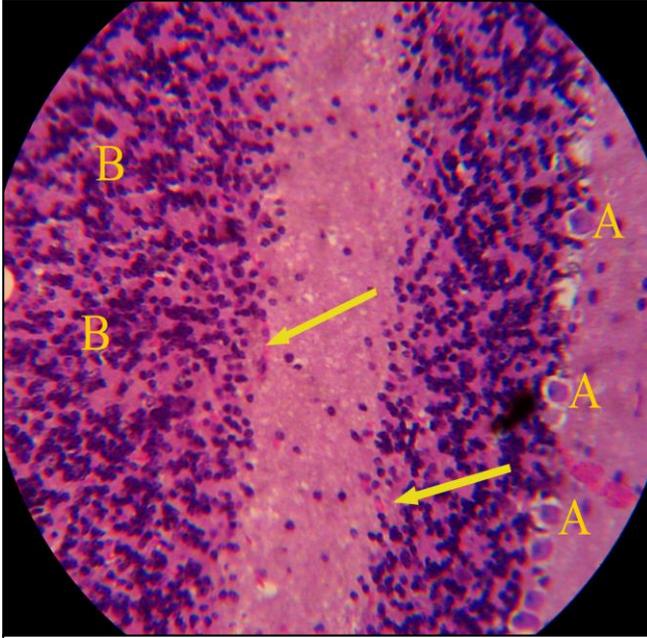
الصورة 1 : صورة مجهرية لمقطع نسجي في دماغ (مخيخ) فأر من مجموعة السيطرة، توضح الطبقات الثلاث لقشرة المخيخ، الطبقة الجزيئية (ML)، طبقة خلايا بركنجي (PL)، الطبقة الحبيبية (GL) بالإضافة الى المادة البيضاء (WM). (صبغة H & E، X35).



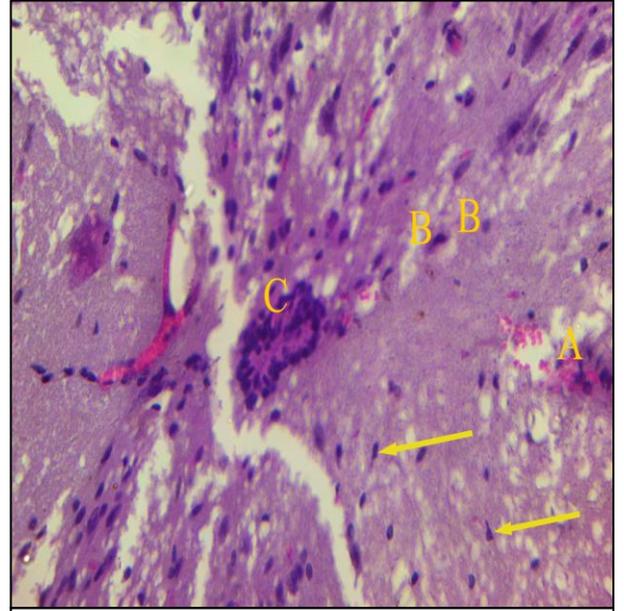
الصورة 4 : صورة مجهرية لمقطع نسجي في دماغ (مخيخ) فأر معرض لدخان السكائر ساعتان/عشرة أسابيع يوضح النزف الشديد في المادة البيضاء (السهم)، (صبغة H & E ، X370).



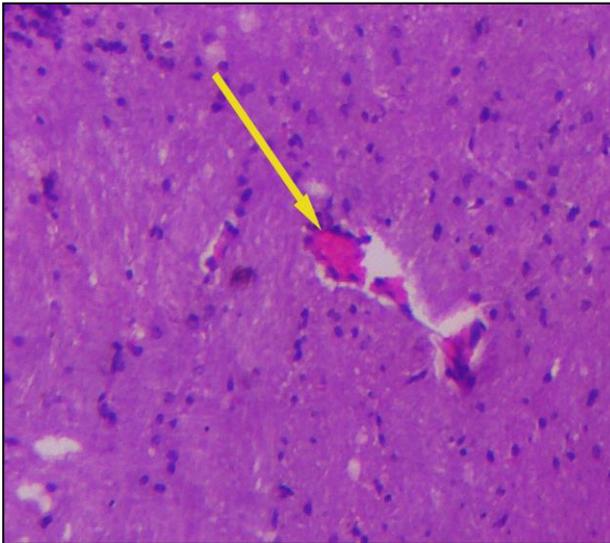
الصورة 3 : صورة مجهرية لمقطع نسجي في دماغ (مخ) فأر معرض لدخان السكائر ساعتان/عشرة أسابيع يوضح الوذمة الوعائية (السهم) والتفجي للخلايا العصبية (A)، (صبغة H & E ، X450).



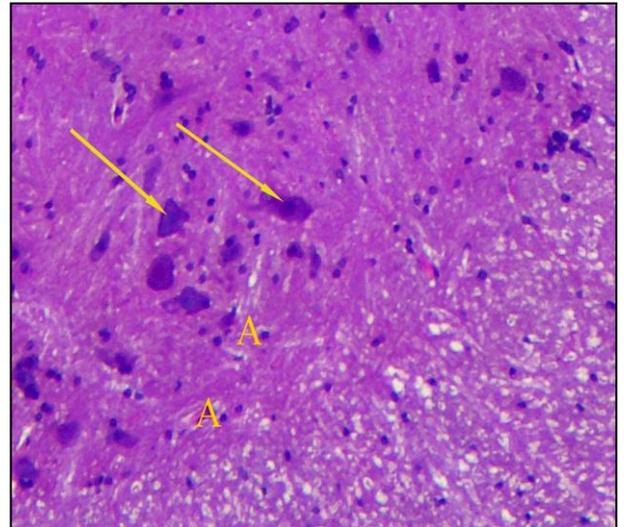
الصورة 6: صورة مجهرية لمقطع نسجي في دماغ (مخيخ) فأر معرض لدخان السكائر ساعتين/عشرين أسبوعاً توضح التنكس في الطبقة الجزيئية (A) والنخر للخلايا الحبيبية (B) إضافة إلى وضوح النزف في طبقات المخيخ(السهم) (صبغة H & E، X40).



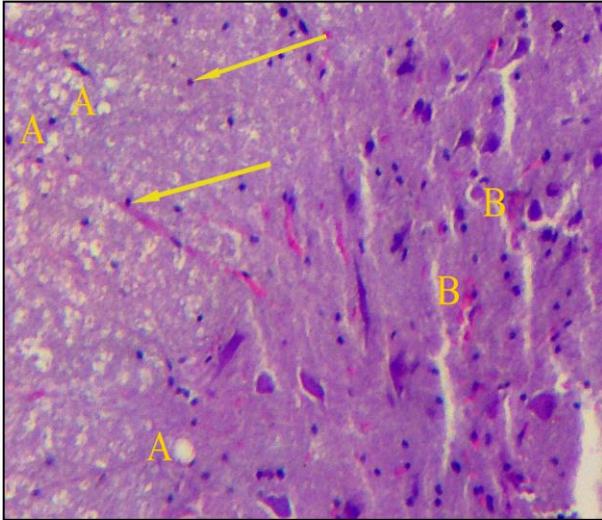
الصورة 5: صورة مجهرية لمقطع نسجي في الحبل الشوكي لفأر معرض لدخان السكائر ساعتين/عشرة أسابيع توضح إرتشاح الخلايا الدبقية في القناة المركزية للحبل الشوكي (C) إضافة إلى وضوح النزف (A) ونخر العصبات الحركية (السهم) والخلايا النجمية (B)، (صبغة H & E، X420).



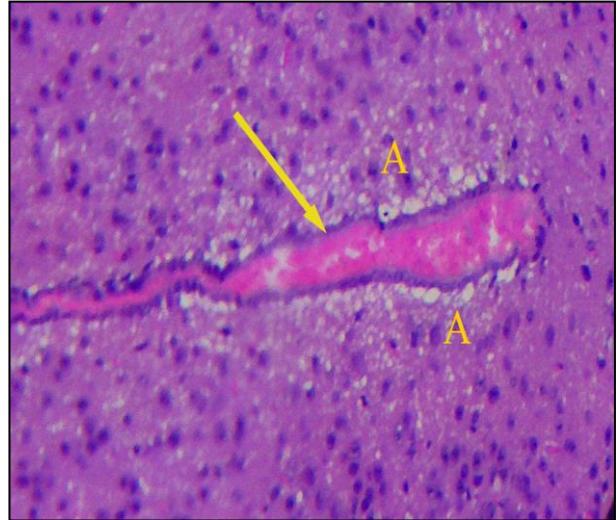
الصورة 8: صورة مجهرية لمقطع نسجي في دماغ فأر معرض لدخان السكائر أربع ساعات/عشرة أسابيع توضح الخثرة في داخل الوعاء الدموي (السهم) (صبغة H & E، X350).



الصورة 7: صورة مجهرية لمقطع نسجي في الحبل الشوكي لفأر معرض لدخان السكائر ساعتين/عشرين أسبوعاً توضح نخر العصبات الحركية (A) وتغلظ انوية الخلايا (السهم)، (صبغة H & E، X1250).



الصورة 10: صورة مجهرية لمقطع نسجي في الحبل الشوكي لفأر معرض لدخان السكائر أربع ساعات/عشرين أسبوعا النخر الشديد للخلايا العصبية (السهم) والتفجج (A) واحتقان الأوعية الدموية (B)، (صبغة H & E، X350).



الصورة 9: صورة مجهرية لمقطع نسجي في دماغ فأر معرض لدخان السكائر أربع ساعات/عشرين أسبوعا توضح احتقان الأوعية الدموية (السهم) ونخر الخلايا العصبية (A)، (صبغة H & E، X350).

المناقشة

أظهرت نتائج الفحص المجهرية وجود تغيرات مرضية مختلفة الشدة في نسج الدماغ والحبل الشوكي للفئران المعرضة تجريبيا لدخان السكائر، تتناسب الشدة طردياً مع مدة التعريض وجرعة الدخان. تراوحت النتائج بين التخرر Necrosis والتتكس Degenerative وتغيرات خلوية تمثلت بالتفجج Vacuolation لبعض الخلايا العصبية وتحطم وفقدان بعض الانوية و لوحظ أيضا الوذمة (الخزب) الوعائية Vasogenic edema واحتقان الأوعية الدموية بالإضافة إلى تغلظ pyknosis للعصبات ووضع الخثرة Thrombus داخل الوعاء الدموي. تعود هذه التغيرات المرضية الى المواد الكيميائية السامة والمسرطنة التي يحتويها دخان السكائر، وأكثر هذه المواد ضرراً لأنسجة الجهاز العصبي المركزي هي الكادميوم وسيانيد الهايدروجين والفورمالديهايد وغاز احادي اوكسيد الكربون والنيكوتين والجذور الحرة وغيرها من المواد الناتجة عن احتراق مكونات السيكارة. أبدت النتائج تغيرات خلوية يمكن تفسيرها على أنها ناجمة عن مركبي الكادميوم والنيكوتين اللذين يؤثران على الأغشية الخلوية، فالكادميوم سم خلوي قوي يسبب أنواعاً مختلفة من الضرر (E. Lopez *et al.*, 2003) نتيجة لتأثيره على مورفولوجية الخلايا العصبية (شكل الخلايا العصبية) Modified the Neuronal Morphology مؤدياً الى تحورات في الغشاء البلازمي للخلايا (Koizumi *et al.*, 1996; Vermes *et al.*, 1995) ويعزز الكادميوم من إنتاج الجذور الحرة Free Radical في CNS (Shukla *et al.*, 1987) التي تتداخل مع آلية الدفاع الخلوية ضد الأوكسدة (Shukla *et al.*, 1989) وإحداث خلل في أغشية خلايا الدماغ مسببةً أضراراً لارجعية (Rosenberg, 1999). وقد أقترح أن النيكوتين يعطل مضخة الصوديوم Sodium-Pump في الغشاء الخلوي فيتراكم الصوديوم داخل الخلايا ويتحرك الماء من الخارج إلى داخل الخلايا للحفاظ على التوازن الازموزي (Hemphill *et al.*, 2001) هذه التحورات تحدث أضراراً في الخلايا نتيجةً لاختلال الضغط التناضحي مؤديةً

بذلك الى تفجي الخلايا الذي يحدث نتيجة لانتفاخ الخلايا Cells Swelling نتيجة لتراكم المحتوى المائي داخلها (Mdzinarishvili *et al.*, 2007).

ويزيد الكادميوم جهد الأوكسدة Oxidative Stress التي تنتج ضرر البروتين Protein Damage (Figueiredo-) (Pereira *et al.*, 1998) وبعد ذلك تنكس عصبي (Okuda *et al.*, 1997; Williams, 1995) وللنيكوتين دور في تعزيز إنتاج الجذر الحر أوكسيد النتريك NO في CNS (Lee *et al.*, 2000) من خلال حث أو تحريض إنزيم Immunological NO Synthetase (iNOS) (Rosenberg *et al.*, 2000) من شأن هذه المستويات المرتفعة لـ NO المساهمة في تنكس المحاور العصبية Axonal Degeneration وفقدانها Axonal Loss (Hernan *et al.*, 2005).

وكذلك إرتبط دخان السكائر بإحداث طفرات البروتين النووي P53 (Nuclear Protein P53) والذي يؤدي إلى موت الخلايا المبرمج Apoptosis وتلف الحمض النووي منقوص الأوكسجين DNA من المواد المسرطنة الموجودة في دخان السكائر (Rodin and Rodin, 2005) والتعرض الحاد للكادميوم يسهم في خسارة كبيرة لسلامة الخلايا العصبية يتضح أساسا من اختفاء شبه كامل للمحاور Axons و العديد من النوى الميتة للخلايا العصبية (E. Lopez *et al.*, 2003) هذا جاء مطابقاً لنتائج الدراسة من تفجي وتنكس وظهور نوى ميتة نتيجة لتلف DNA.

إن الخلايا العصبية للجهاز العصبي المركزي (Central Nervous System (CNS) من أكثر المتأثرين بنقص الأوكسجة Hypoxia ونقص التروية الدماغية Cerebral Ischemia لما لديها من متطلبات عالية من الأوكسجين والكلوكوز (EPA, 2010)، فنخر الخلايا العصبية Neuronal Necrosis ناتج عن استنزاف مخازن الطاقة الخلوية، إذ يعمل السيانييد على تعطيل انزيم سايتوكروم س اوكسيداز In activation tissue sytochrom C oxidase المستقبل للإلكترونات في إنتاج الطاقة الخلوية مؤديا الى تثبيط التنفس الخلوي، فهو يعتبر خانق كيميائي للانسجة Chemical Asphyxiant (EPA, 2010).

ينفاقم التأثير بأشترك السيانييد مع غاز أول اوكسيد الكربون CO مؤديا إلى نقص الاكسجة (Eckstein and Maniscalco, 2006). إن لغاز CO ألفة عالية لبروتين الهيم Heme protein يقارب 250 مرة أكثر من الأوكسجين ويكون كاربوكسي هيموكلوبين Carboxyhemoglobine مما يقلل قدرة الدم على حمل الأوكسجين مؤديا الى نقص الاكسجة Hypoxia (Shprecher and Mehta, 2010 ; Omaye, 2002)، يستنزف نقص الأوكسجة Hypoxia مخازن الطاقة الخلوية (Rosenberg., 2000) وانخفاض إنتاج الطاقة ATP من خلال التأثير على المايتوكندريا عن طريق تعطيل عمل انزيم Disabling Sodium-Potassium ATPase وتثبيط النظام الإنزيمي لنقل الإلكترونات Mitochondrial Electron Transport Enzyme (Thom *et al.*, 2006)، الأمر الذي يؤدي إلى تثبيط الفعاليات الحيوية للخلايا ونخرها وبالتالي موت الخلايا بعملية التخر Necrotic Process.

تؤثر العناصر كالزئبق والرصاص الموجودة في دخان السكائر على الخلايا العصبية الحركية Motor Neurons لما لها من تأثير سام على الخلايا (Kamel *et al.*, 2002 ; Nelson *et al.*, 2000) وبالتالي الاصابة بداء العصبون الحركي Motor Neuron Disease (MND) (Neil, 2002-2005)، و في دراسة أجراها (Gurel *et al.*, 2005) ارتبط التعرض لـ FA (10ملغم/ كغم) لمدة 10أيام إلى زيادة في عدد الخلايا النخرية و التغلظية Pyknosis، و جاءت هذه النتيجة متفقة مع النتائج التي تم الحصول عليها من نخر و تغلظ العصبات الحركية.

أشارت نتائج الدراسة إلى ظهور الوذمة (الخزب) حول الأوعية الدموية Vasgenic Edema التي تشير إلى تدفق السوائل والمواد المذابة إلى داخل الدماغ (Hemphill *et al.*, 2001) وكذلك إرتشاح الخلايا والنزف في CNS، تعود هذه التغيرات المرضية إلى تأثير المواد الكيميائية لدخان السكائر على الحاجز الدموي (BBB) Blood Brain Barrier وتنتج عن زيادة نفاذية بطانة الشعيرات الدموية (Krishna *et al.*, 2003). الجذور الحرة وأنواع الأوكسجين التفاعلية ROS تعتبر سامة

للخلايا وتسهم في مهاجمة أغشية الخلايا مؤثرةً بذلك على بطانة الشعيرات الدموية و مؤدية إلى إخلال في وظيفتها (Rosenberg, 2000).

بالإضافة إلى الكادميوم وأول أكسيد الكربون يحتوي دخان السكائر على مستويات عالية من الاوكسجين الفائق Super oxide وأنواع الأوكسجين التفاعلية ROS الأخرى مثل فوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen Peroxide وجذر الهيدروكسيل Hydroxyl radical المستمدة من إحتراق مكونات السكائر، لهذه المواد تأثيرات ضارة على الأوعية الدموية نتيجة لتعرض خلاياها البطانية لهذه المواد (Peluffo *et al.*, 2009) تلف الخلايا البطانية يحدث نتيجة للتحويلات التي تسببها الجزيئات الدقيقة ل ROS (Circu and Aw, 2010) والناجمة عن بيروكسدة الدهن وأكسدة البروتين الدهني Protein Oxidation وكسر شريط DNA (De Marini, 2004) وأكسدة الحمض النووي الريبسي RNA (Kong and Lin, 2010) كل هذه التحويلات تؤدي إلى موت الخلايا وتصلب الشرايين مؤثرةً بذلك على سلامة BBB (Colles *et al.*, 2001). بالإضافة إلى ذلك فإن أكسيد النتريك NO يلعب دور فعال في تنظيم إنقباض الأوعية الدموية الدقيقة وانسياب الدم إلى المخ تحت الظروف الطبيعية والمرضية (Mc Carron *et al.*, 2006) فقد تبين أن NO يؤدي إلى زيادة نفاذية الأوعية الدموية في BBB وبالتالي إضعاف التوازن في الدماغ وتسهيل مرور المواد غير المرغوب فيها من الدم إلى الدماغ (Bulnes *et al.*, 2010).

كما أظهرت النتائج حدوث خثرة Thrombus في الوعاء الدموي للدماغ قد يعود ذلك إلى تأثير كلاً من النيكوتين المضيق للأوعية الدموية الأمر الذي يؤدي إلى تباطؤ الدورة الدموية و CO الذي يؤدي إلى نقص الاكسجة و يعمل على الخلايا البطانية والصفائح الدموية ويكون مسؤولاً عن ارتفاع ضغط الدم وتصلب الشرايين (Leone, 2012) وزيادة لزوجة الدم التي تعزى إلى زيادة مستويات العامل المفعّل للصفائح Platelets Activating Factor وفون ويلبراند Von Willebrand وكاتيكولامينات Catecholamine والثرومبوكسان Thromboxan بسبب دخان السكائر، كل هذه العوامل تؤدي إلى ضعف تدفق الدم في الأوعية الدموية مما تؤدي إلى الإصابة بالتخثر (Togna *et al.*, 2008 ; Girdhar *et al.*, 2008).

المصادر العربية

الدخيل، قصي محمود حامد حسن (2001). تأثير التدخين السلبي في البنين النسجي والكيمياء النسيجية للكربوهيدرات في الرغامى والشجرة القصبية والقصبية في الأرانب المحلية. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الأجنبية

- Bancroft, J.D.; Steven, A. (1975). "Histopathological Stains and Their Diagnostic Uses". Churchill Livingstone, Edinburgh, pp. 134-137.
- Bulnes, S.; Argandona, E.G.; Bengoetxea, H.; Leis, O.; Ortuzar, N.; Lafuente, J.V. (2010). The role of eNOS in vascular permeability in ENU-induced gliomas. *J. Acta Neuro. Suppl.*, **106**, 277-282.
- Burns, C.J.; Beard, K.K.; Cartmill, J.B. (2001). Mortality in Chemical Workers Potentially Exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1945-94: an update. *J. Occup Environ Med.*, **58**(1), 24-30.
- Cancer council Victoria. (2008). "Tobacco in Australia: Facts and Issues". 3ed, A Comprehensive Review of the Major Issues in Smoking and Health in Australia, The Health Effects of Secondhand Smoke". Chapter 4. pp. 6-7.
- Circu, M.L.; Aw, T.Y. (2010). "Reactive Oxygen Species, Cellular Redox Systems, and Apoptosis". *J. Free Radic. Biol. Med.*, **48**, 749-762.

- Colles, S.M.; Maxson, J.M.; Carlson, S.G.; Chisolm, G.M. (2001). Oxidized LDL-Induced injury and apoptosis in atherosclerosis. Potential roles for Oxysterols. *J. Trend. Cardiovasc. Med.*, **11**, 131-138.
- DeMarini, D.M. (2004). Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate: a review. *J. Mutat. Res.*, **567**, 447-474.
- Eckstein, M.; Maniscalco, PM. (2006). Focus on smoke inhalation--The most common cause of acute cyanide poisoning. *J. Prehosp Disaster Med.*, **21**(2), 49-55.
- Lopez, E.; Figueroa, S.; Oset-Gasque, M.J.; Gonzalez, M.P. (2003). Apoptosis and necrosis: two distinct events induced by cadmium in cortical neurons in culture. *Brit. J. Pharm.*, **138**, 901 - 911.
- EPA, (U.S. Environmental Protection Agency). (2010). "Toxicological Review of Hydrogen Cyanide and Cyanide Salts". 52,53 p.
Available online at <http://www.epa.gov/iris/backgrd.html>
- Figueiredo-pereira, M.E.; Yakushin, S.; Cohen, G. (1998). Disruption of the intracellular sulfhydryl homeostasis by cadmium-induced oxidative stress leads to protein thiolation and ubiquitination in neuronal cells. *J. Biol. Chem.*, **273**, 12703 - 12709.
- Glantz, SA.; Parmley WW. (1991). Passive smoking and heart disease epidemiology, physiology and biochemistry. *J. Circulation.*, **83**, 1-12.
- Girdhar, G.; Xu, S.; Jesty, J.; Bluestein, D. (2008). In vitro model of platelet-endothelial activation due to cigarette smoke under cardiovascular circulation conditions. *J. Ann. Biomed. Eng.*, **36**, 1142-1151.
- Gurel, A.; Coskun, O.; Armutcu, F.; Kanter, M.; Ozen, OA. (2005). Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. *J. Chem. Neuroanat.*, **29**, 173-178.
- Hankey, G. (1999). Smoking and risk of stroke. *J. Card. Risk.*, **6**, 207-11.
- He, J.; Vupputuri, S.; Allen K.; Prerost, M.; Hughes J.; Whelton, P. (1999). Passive smoking and the risk of coronary heart disease--A meta-analysis of epidemiologic studies. *J. New Eng. Med.*, **340**, (12) 6-20.
- Hemphill, J.; Beal, MF.; Gress, D.R.(2001). "Critical Care in Neurology". In: Braunwald, E.; Fauci, AS.; Kasper, DL.; Hauser, SL.; Longo, DL.; Jameson, JL.; editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th ed. Mc Graw Hill, Inc., New York, pp. 8-2491.
- Hernán, M.A.; Jick, S.S.; Logroscino, G.; Olek, MJ.; Ascherio, A.; Jick, H.(2005). Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *J. Brain.*, **128**, 1461-1465.
- Hill, D.; Larcombe, I.; Refshauge, J. (1978). Smoking and impairment of performance. *J. Med Aust.*, **2**,60-63.
- Humason, G.L. (1979). "Animal Tissue Techniques". 4th ed. W.H. Freeman and Company, USA., pp. 569-579.
- Kamel, F.; Unbach, D.M.; Munsat, T.L.; Shefner, J.M.; Hu, H.; Sandler, D.P. (2002). Lead exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *J. Epidemiology.*, **13**, 311-319.
- Koizumi, T.; Shirakura, H.; Kumagai, H.; Tatsumoto, H; Sukuzi, K.T. (1996). Mechanism of cadmium-induced cytotoxicity in rat hepatocytes: cadmium-induced active oxygen-related permeability changes of the plasma membrane. *J. Toxicology.*, **114**,125 - 134.
- Kong, Q.; Lin, C.L. (2010). Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases. *J. Cell Mol. Life Sci.*, **67**,1817-1829.
- Krishna, S.; Puri, P.; Bihar. (2003). Cerebral edema and its management" . *MJAFI.*, **59**(4), 326-331
- Law, M.; Morris, J.; Wald, N. (1997). Environmental tobacco smoke exposure and ischaemic heart disease:an evaluation of the evidence. *J. Brit. Med.*,**315**, 973-80.
- Lee, T.; Zhang W.; Sarwinski S. (2000). Presynaptic Beta 2-Adrenoreceptors Mediate Nicotine-Induced NOergic Neurogenic dilation in porcine basilar arteries. *Am. J. Physiol.*, **279**, 16-88.

- Leone, A. (2012). How and why chemicals from tobacco smoke can induce arise in blood pressure . *W. J. Pharm.*, **1**(1), 10-20.
- Luna, L.G. (1968). "Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology". 3rd ed., McGraw-Hill Company, NewYork. pp.199-205.
- Mc Carron, R.M.; Chen, Y.; Tomori, T.; Strasser, A.; Mechoulam, R.; Shohami, E.; Spatz, M. (2006). Endothelial-Mediated regulation of cerebral microcirculation. *J. Physiol. Pharm.*, **57** (11), 133-144.
- Mdzinarishvili, A.; Kiewert, C.; Kumar, V.; Hillert, M.; Klein, J.; (2007). Bilobalide prevents ischemia-induced edema formation in vitro and in vivo. *J. Neur.*, **144**, 217–222.
- Neil, Ch. (2002-2005). "Environmental Health Factors for MotorNeuron Disease" Lincoln University Canterbury, New Zealand. pp.1-12.
neil.cherry@ecan.govt.
- Nelson, L.M.; McGuire, V.; Longstreth, W.T.; Matkin, C. (2000). Population-Based casecontrol study of amyotrophic lateral sclerosis in western washington state. i. cigarette smoking and alcohol consumption. *Am. J. Epid.* **151**(2), 156-163.
- Okuda, B.; Iwamoto, Y.; Tachibana, H.; SUGITA, M. (1997). Parkinsonism After Acute Cadmium Poisoning. *J. Clin. Neurol. Neuro.*, **99**, 263 - 265.
- Omaye, S.T. (2002). Metabolic modulation of carbon monoxide toxicity. *J. Toxic.*, **180**, 139–150.
- Peluffo, G.; Calcerrada, P.; Piacenza, L.; Pizzano, N.; Radi, R. (2009). Superoxide-Mediated inactivation of nitric oxide and peroxynitrite formation by tobacco smoke in vascular endothelium: studies in cultured cells and smokers. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **296**, 1781-1792.
- Peter, M.; William, T.; Mohammed, H.; Vikram, P.; Damir, J.; Luca, C. (2010). Pathophysiological impact of cigarette smoke exposure on the cerebrovascular system with a focus on the blood-brain barrier: expanding the awareness of smoking toxicity in an underappreciated area. *Int. J. Environ. Res.*, **7**,4111-4126.
- Repace, J. (2006). "Exposure to Secondhand Smoke". Chapter 9. In: Ott, W.; Steinemann, A.; Wallace, L. editors. Exposure Analysis: Taylor & Francis Group –CRC Press., pp. 31-201. Available from: <http://www.repace.com/reports.html>.
- Rodin, S.N.; Rodin, A.S. (2005). Origins and selection of p53 mutations in lung carcinogenesis. *J. Semin. Cancer Biol.*, **15**, 103-112.
- Rosenberg, GA. (2000). "Brain Edema and Disorders of Cerebrospinal Fluid Circulation". In: Bradley, WG.; Daroff, RB.; Ferichel, GM.; Marsden, CD. "Neurology in clinical practice". 3rd ed. Butterworth Heinmann,Inc., Boston , pp. 59-1545.
- Seidman, D.S.; Mashiach, S. (1991). Involuntary Smoking and Pregnancy. *Europ. J. boil.*, **41**,105–116.
- Shprecher, D.; Mehta, L. (2010). The syndrome of delayed post-hypoxic leukoencephalopathy. *J. Neuro Rehabilitation.*, **26**(1), 65–72.
- Shukla, G.S.; Hussain, T.; Chandra, S.V. (1987). Possible role of regional, superoxide dismutase activity and lipid peroxide levels in cadmium neurotoxicity: in vivo and in vitro studies in growing rats. *J. Life Sci.*, **41**, 2215 - 2221.
- Shukla, G.S.; Hussain, T.; Srivastava, R.S.; Chandra, S.V. (1989). Glutathione peroxidase and catalase in liver, kidney, testis and brain regions of rats following cadmium exposure and subsequent withdrawal. *J. Ind. Health*, **29**, 59 -69.
- Thom, S.R.; Bhopale, V.M.; Fisher, D. (2006). Hyperbaric oxygen reduces delayed immune-mediated neuropathology in experimental carbon monoxide toxicity. *J. Toxi. Appl. Pharmacol.*, **213**,152–159.

- Togna, A.R.; Latina, V.; Orlando, R.; Togna, G.I. (2008). Cigarette smoke inhibits adenine nucleotide hydrolysis by human platelets. *Platelet J.*, **19**, 537-542.
- Trask, C.L.; Kosofsky. (2000). Developmental considerations of neurotoxic exposures. *J. Neuro Clin.*, **18**(3), 541-562.
- Vermes, I.; Haanen, C.; Steffens-nakken, H.; Reutelingsperger, C. (1995). A novel assay for apoptosis. flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled annexin-V. *J. Immunol. Meth.*, **184**, 39 - 51.
- WHO (World Health Organization). (2000). " Environmental Tobacco Smoke". Chapter 8. Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark. pp.1-23.
- Williams, L.R. (1995). Oxidative stress, age-related neurodegeneration, and the potential for neurotrophic treatment. *J. Cerebrovasc. B. Metab. Rev.*, **7**, 55 - 73.