

IJST

INTERNATIONAL

Journal for Sciences and Technology

Vol. (9), No. (4)- DECEMBER 2014

SJIF:3.735 / ICV:4.32

ISSN: 2305-9346

www.ijst-jo.com

IJST International Journal for Sciences & Technology

International Journal for Sciences and Technology

المجلة الدولية للعلوم والتقولوجيا

Volume 9. No. 4/ December 2014 / ISSN: 2305-9346

A Refereed Scientific Journal Since 2006

مجلة علمية محكمة منذ عام 2006

Issued By:

The International Centre for Advancement of Sciences and Technology

IJST contact Information:
P.O. Box 2793 Amman 11953 Jordan
Tel. +962796543469
E-mails: info@ijst-jo.com / ijst.jordan@yahoo.com
URL: www.ijst-jo.com

EDITORIAL BOARD - 2014

Al- Shammari , Abdul- Jabbar N.

(Editor-in- Chief)

Professor of Microbiology / Faculty of Pharmacy /
Royal University for Medical Sciences (RUMS) /
P.O. Box 2793. Amman 11953 Jordan
shammari@ijst-jo.com

Abbas, Jamal A.

Professor of Plant Ecophysiology / Faculty of
Agriculture / Kufa University / Iraq
phdjamal@yahoo.com

Abdul- Ghani, Zaki G.

Professor of Microbiology/ Faculty of
Pharmaceutical Sciences / Amman Private
University / Jordan
zaki_abdulghani@yahoo.com

Abdul- Hameed, Hayder M.

PhD in Environmental Engineering / Environmental
Engineering Dept./ Faculty of Engineering/
University of Baghdad / Iraq
hayderalmunshi@yahoo.com

Abdullah, Ahmed R.

PhD in Cancer Immunology and Genetics
/Biotechnology Research Centre / Al- Nahrain
University / Baghdad / Iraq
ahmedrushdi1970@yahoo.com

Al – Banna , Anton S. A

Professor in Microbiology and Virology/ Faculty of
Veterinary Medicine/ University of Baghdad / Iraq
albanaantoon@yahoo.com

Al- Dabbagh, Riadh H.

Professor of Engineering Hydrology/ UAE
riadhdabbagh@yahoo.com

Al- Daraji, Hazim J.

Professor of Avian Reproduction and Physiology /
Animal Resources Dept./ College of Agriculture /
University of Baghdad / Iraq
prof.hazimaldaraji@yahoo.com

Al- Douri, Atheer A. R

PhD in Microbiology/Faculty of Veterinary
Medicine/ University of Baghdad / Iraq
aaldouri96@yahoo.com

Al- Jashami, Najim A.

Professor of Nuclear Material Sciences / Dept. of
Physics / College of Sciences / Kufa University /
Iraq
na_phys@yahoo.com

Al- Mashaykhi, Akram Othman

PhD in IT / Amman Arab University for Graduate
Studies / Jordan
akram.othman@gmail.com

Al- Murrani, Waleed K.

Professor of Genetics and Biostatistics / University
of Plymouth/ UK
profmurrani@yahoo.com

Al- Noor, Nadia H.

PhD. in Statistics, Mathematical Statistics / Dept. of
Mathematics / College of Sciences / Al-
Mustansiriya University / Baghdad / Iraq

Al- Noor, Taghreed H.

Professor of Chemistry / Dept. of Chemistry /
College of Education – Ibn Al- Haitham /
University of Baghdad / Iraq
drtaghreed2@gmail.com

Al- Saqur, Ihsan M.

Professor of Parasitology/ Faculty of Sciences /
University of Baghdad / Iraq
drihsanalsagur@yahoo.com

Al- Shamaony, Loai

Professor of Biochemistry / Faculty of Pharmacy /
Misr University for Sciences and Technology /
Egypt
loaialshamaony@yahoo.com

Al- Shebani, Abdullah S.

PhD in Dairy Sciences and Technology / Food
Sciences Dept./ Faculty of Agriculture / Kufa
University / Iraq
Agrifood43@yahoo.com

Alwachi, Sabah N.

Professor of Physiology / Biology Dept./ College of
Sciences/ University of Baghdad / Iraq
sabahalwachi@yahoo.com

Birasal, Narayan R.

PhD in Zoology / KLE Society's GH College
Haveri / India
nrbirasal@gmail.com

Khamas, Wael

Professor of Anatomy and Histology / College of
Veterinary Medicine / Western University of Health
Sciences / Poma -California/ USA
wael_khamas@yahoo.com

Mohammed, Ramadhan H.

PhD in Geology / College of Sciences / Duhok
University / Iraq
ramadhan56_2000@yahoo.com

Sharma, Sunanda

PhD in Veterinary Medicine / Dept. of Veterinary
Obstetrics and Gynecology / College of Veterinary
& Animal Science / Rajasthan University of
Veterinary & Animal Sciences
dr.sunanda_sharma@rediffmail.com

Editorial Board Secretary

Pharmacist. Nansi Elia

Amman- Jordan
ijst.jordan@yahoo.com

FORWARD

IJST is coming for you all today in its fourth issue of volume nine for year 2014, as our deep belief in continuing the steps we began since nine years ago.

As we moved toward improving the level of IJST competition among the international scientific journals, IJST had gained a new impact factor value in 2014, that was SJIF (The Scientific Journal Impact Factor) as indexed value of 3.735. This value is coming as a result of the spread of our journal among the scientific and academic media and of course from all the researchers efforts and the faithful of the editorial board members to push IJST to the best position locally, regionally and internationally.

By this issue, IJST had gained another prestigious value, that was the join of Dr. Nadia Al- Noor , from Al-Mustansirya University / Iraq, as an editorial board member, and we all welcome her and hope a successful journey with us.

As we are moving to a new year, 2015, I would like to present you all my deep wishes and hopes in most peaceful year, most prosperity times and best movements in your scientific and practical lives.

Finally, on behalf of the International centre, I would like to express my special thanking to the Editorial Board Secretary for her faithful efforts in managing the scientific, design, technical and administrative aspects of the Journal and for preparing this issue for final printing and publishing.

Editor-in-Chief

IJST

Abdul Jabbar Al- Shammari

The Referees for this Issue

** The referees and advisory group below are listed according to alphabetical order, with deep appreciation for all.*

Prof. Abdul- Jabbar N. Al- Shammari

Faculty of Pharmacy, Royal University for Medical Sciences (RUMS). Jordan

Dr. Abdullah Sh. M. Al- Shebani

Dept. of food sciences, Faculty of Agriculture, Kufa University. Iraq

Prof. Ahmed M. Abdul-Lettif

College of Sciences, University of Karbala. Iraq

Dr. Amer Al- Sarraj

College of Pharmacy, Royal University for Medical Sciences (RUMS). Jordan

Dr. Atheer AR. Al- Douri

Faculty of Veterinary Medicine, University of Baghdad. Iraq

Prof. Bashar R. Al- Shreidah

National Centre for Agricultural Researches . Jordan

Dr. Dawood S. Al- Azzawi

College of Medicine, Diyala University. Iraq

Dr. Harith F. Al- Mathkhouri

College of Sciences, University of Baghdad. Iraq

Prof. Jamal A. Abbas

Faculty of Agriculture, Kufa University. Iraq

Dr. Khalid Al- Azzawi

Faculty of Pharmacy, Al- Isra University. Jordan

Prof. Mahmoud M. Othman Matar

College of Medicine, Al- Najah National University. Palestine

Prof. Majed A. Al- Attar

Ontario city, Canada (professor of avian diseases , Veterinary Medicine)

Dr. Mohammed Al- Bedri

Faculty of Allied Medical Sciences, Royal University for Medical Sciences (RUMS). Jordan

Dr. Ramadhan H. Mohammed

College of Sciences , Duhok University . Iraq

Prof. Waleed Al- Murrani

University of Plymouth , United Kingdom

Prof. Zaki G. Abdul- Ghani

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Amman Private University. Jordan

TABLE OF CONTENTS

** Articles in this issue are listed below according to field specialties order, starting by English section and followed by Arabic section.*

(I) ENGLISH SECTION:**ENVIRONMENT**

- Waste water treatment by using microbial fuel technique** 6-9
Areeg Z. Azeez & Jihad D. Al- Janabi

FOOD SCIENCES

- Determination of polychlorinated biphenyl (PCBs) in local and imported meats** 10-15
Eassa A. Salih, Abdul- Jabbar A. Ali, Isam Sh. Hamza, Suha M. Ibrahim & Amal I. Jasim

GENETIC ENGINEERING

- Analysis of quantitative gene expression for DGAT2 gene responsible on the olive diacylglycerol acyltransferases in a sample cultivars of olive (*Olea europaea*. L).** 16-23
Ali S. A. Al- Janabi

- Genotyping based on *aflr1* gene sequencing in local Iraqi isolates of phytopathogenic-aflatoxigenic *Aspergillus flavus*** 24-29
Batool I. Dheeb, Nemat J. Al- Judy, Zeina S.M. Al-Hadeithi, Safa M. Abdulateef, Farooq I. Mohammad & Ghofran M. Hasan

MEDICINAL PLANTS

- Using cubic spline mathematical functions application in evaluating antioxidant and antimutagenic activity of *Loranthus europaeus* and *Vitis vinifera* L medicinal plants** 30-41
Hatem N. Mohaisen, Ghaidaa S. Challob, Sundus H. Ahmed & Ahlam N. Jasim

MEDICINE

- A comparative study of 8-epi-prostaglandin f2 alpha, selenium levels in preterm, term Iraqi infants and their mothers** 42-47
Maryam Q. A. Al- Qaisi, Firyal H. Abdul- Jalil & Hala S. Arif

- Diabetic polyneuropathy: impact of disease duration and glycemic control** 48-54
Qassim H. Abdullah, Sherwan H. Omar & Mohammed O. Mohammed

- Impact of diabetes mellitus on pulmonary functions test** 55-59
Qassim H. Abdullah, Hazhmat A. Ali & Ihsan H. M. Ali

- The outcomes of parents' education in control of children with Insulin dependent diabetes mellitus in Baquba – Diyala - Iraq** 60-64
Dawood S. Al- Azzawi

- Vitamin D Level and C-peptide in Children at Various Stages of the Type1 Diabetes Mellitus** 65-70
Noor J. Abbas, Firyal H. Al- Obaidi & Njala I. Ayoub

NURSING

- Effectiveness of an educational health program on mothers' practices of thalassaemic children who Receive desferal therapy in Hawler Thalassemia Center/ Erbil City** 71-77
Kaify J. Qader & Kareema A. Hussein

- Impact of acute lymphocytic leukemia on the quality of life of adolescent patients** 78-84
Shukir S. H. Shwani, Kareema A. Hussein & Morouge H. Al- Ani

(II) قسم الدراسات والبحوث العربية – ARABIC SECTION

الأحياء الدقيقة

- 92-86 تأثير الدقائق النانوية للفضة وأوكسيد الزنك على عزلات النوع *Escherichia coli* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية
بيمان علي كريم، إسراء غانم السماك
- 100-93 الطرز المظهرية والجينية للإشريكية القولونية الممرضة للمعدة والأمعاء المسببة لإسهال الأطفال الرضع
إبراهيم عبد الكريم عبد الرحمن

البيئة

- 107-101 قابلية نمو مجتمع الطحالب في برك مياه الأمطار المتجمعة غرب مدينة بغداد
أحمد إبراهيم جاسم، أحمد عيدان الحسيني

طفيليات طبية

- 113-108 دراسة تأثير الإصابة بداء المقوسات الكوندية على مستوى هرمون الكورتيزول عند المرضى المراجعين لبعض مستشفيات بغداد
إحسان مهدي الصقر، هناء كامل حمد، نور حمزة فائق

العلوم الزراعية والبيطرية

- 118-114 تأثير التسميد النيتروجيني والرش بالحديد في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات الداماس *Concarpus lancifolius* Engl
نيراس إحسان عبد الجبار، جمال أحمد عباس، منصور عبد أبو حنة
- 122-119 تأثير المستخلص المائي لقشور ثمرة الرمان وبجرع مختلفة في فروج اللحم المصاب بالإشريشيا القولونية تجريبيا
أفراح عبد الواحد غلام

علوم الغذاء

- 128-123 دراسة المواصفات الصحية لنماذج من الحليب المصنع الأكثر استهلاكاً من قبل الأطفال والمعرضة في أسواق بغداد
مريم مال الله غزال، علياء سعد الحافظ

هندسة معمارية

- 141-129 الجذور والمعاني الرمزية لمكونات المسكن البرجي في عمارة صنعاء القديمة
أحمد عبد ربه النهمي، علي حاتم جبر، علاء الدين عبد المحسن شاهين
- 150-142 الفكر المعماري والرمزي في عمارة اليمن خلال فترة ما قبل التاريخ
أحمد عبد ربه النهمي، علي حاتم جبر، علاء الدين عبد المحسن شاهين

ENGLISH SECTION

Wastewater treatment by using microbial fuel technique

Areeg Z. Azeez (1) and Jihad D. Al- Janabi (2)

(1) Ministry of Sciences and Technology / Baghdad (2) Dept. of Biology / College of Sciences / Tikrit University / Republic of Iraq

ABSTRACT

Day after day, the need for new and alternate sources of energy is increasing. In the upcoming days, the alternative sources of energy will be applied everywhere. The Microbial fuel cell technology represents an alternative form of energy wherein wastewater and industrial effluents are used for electricity generation and hold promise towards sustainable energy generation in the near future. The current study was conducted to design a model of double chamber MFC with three salt bridges and 10 graphed fields for cathode and anode. Sewage water was used, which resulted in successful generation of a Power of (1, 37mA/h). The study was conducted in the laboratories of Ministry of Sciences and Technology in Baghdad -Iraq. The wastewater drawn from SHEHIN Station for sewage treatment (Tikrit city in Iraq) was secondary treated by whole bacterial community. This was confirmed by the COD, TOC, TSS, TDS, PH and EC tests which showed reduction of all these tests as follows: (67.68%), (68.29%), (63.94%), (58.46%), (57.53%), (56.3%) respectively.

Keywords: Wastewater, Renewable Energy using, Microbial and Fuel Cell Technique.

الملخص باللغة العربية

يوماً بعد يوم، تزداد الحاجة للطاقة الجديدة البديلة، وفي الأيام القادمة ستطبق المصادر البديلة للطاقة في كل المجالات. تمثل الخلية الوقودية الميكروبية شكلاً جديداً من بدائل الطاقة، حيث يتم فيها استخدام المياه العادمة ومياه المخلفات الصناعية كمصدر لتوليد الكهرباء وتمثل خطوة واحدة على طريق توليد طاقات مستدامة في المستقبل القريب. في الدراسة الحالية، تم دراسة تأثير مجموعة من المتغيرات على عمل الخلية الوقودية الميكروبية (MFC) لتوليد التيار الكهربائي الناتج أثناء عملية معالجة المياه العادمة المنزلية دون إضافة مواد مساعدة ككائنات، ومن العوامل التي لها تأثير معنوي على عمل الخلية الوقودية الميكروبية هي: نوع اللقاح البكتيري والمواد الموصلة للبروتونات، وقد تم تصميم منظومة معالجة حيوية ثنائية الرذة بثلاث جسور ملحبة وعشرة أعمدة جرافيتية لكل من قطبي الكاثود والانود وباستخدام مياه فضلات حيث تم بنجاح توليد تيار كهربائي (1.37) ملي أمبير في الساعة، وجرى تنفيذ الدراسة في مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا في محافظة بغداد في جمهورية العراق، كما تم إجراء معالجة ثانوية باستخدام المجتمع البكتيري الكلي للمياه العادمة المسحوبة من محطة شيشن لمعالجة مياه الصرف الصحي في مدينة تكريت في جمهورية العراق، تم الاستدلال عليها بالاعتماد على التغير في قيم المتطلب الكيميائي للأوكسجين (COD)، الكربون العضوي الكلي (TOC)، المواد الصلبة الكلية الذائبة (TSS)، المواد الصلبة العالقة (TDS)، قيمة الأس الهيدروجيني (pH) والتوصيلية الكهربائية (EC)، حيث بينت النتائج حدوث نسب إزالة مئوية وكالاتي: (67.68)، (68.29)، (63.94)، (58.46)، (57.53) و(56.3) على التوالي.

INTRODUCTION

Renewable bio-energy is viewed as one of the ways to decrease the current global warming crisis (1). It is well known that fuels, such as ethanol, butanol, methanol and hydrogen can be produced by microorganisms (2). The electricity production by using microbes is known as microbial fuel cells (MFCs) (3). MFC is considered as a step towards the possibility of harvesting electricity from organic waste and renewable biomass (4). Microbial Fuel Cell Technique (MFC) is a promising technology that harnesses the natural growth mechanisms of particular bacteria species in order to produce electrical current (5). Bacterial growth (as growth of organisms in general) relies on the transfer of electrons from an initial electron donor to an eventual electron acceptor in order to produce energy. Bacteria, which grow aerobically use oxygen as an electron acceptor, while bacteria which grow anaerobically use a variety of electron acceptors, including some solid materials (6). MFC exploits bacteria that naturally oxidize solid surfaces as part of their growth process, with the electrons deposited by these bacteria producing an electric current; bacteria so exploited are sometimes referred to as anode-respiring bacteria (7). MFC depends on many factors such as: mechanisms employed by bacteria in transferring electrons to MFC anode for some organisms, the only plausible means of electron transfer is via direct conduction of electrons rather than via some diffusible electron shuttle or mediator (8). MFC is used for the renewable nature of energy, low-power environmental sensors, as a natural source of hydrogen, for their ability to convert waste materials into usable energy and desalination of seawater and brackish water for use as drinking water (9). The aim of the current study was to proof (MFC) technique as a promising method for the production of clean energy and sustainable (electricity) during wastewater treatment.

MATERIALS AND METHODS

Substrate collection:

Wastewater, which served as the substrate of the MFC was collected from, Shishin Sewage Treatment Station; Tikrit city. The source of the station included wastes from hostels, toiletries. The inlet of the lamellar filter served as the substrate; this phase was selected to avoid the coarse and large particles found in raw wastewater. The natural microbial consortium presented in the wastewater was used in the study.

MFC components:

Microbial Fuel Cell mainly constitutes Electrodes (graphed field), anodic and cathodic chamber and salt bridge. The anodic chamber is an anaerobic chamber, which holds the substrate and the

biocatalyst-Microorganisms. The cathodic chamber was maintained in aerobic condition; the salt bridge that forms a bridge between cathodic and anodic chamber facilitates the transfer of ions (protons); Carbon electrodes were used as anode and cathode.

MFC construction:

Salt Bridge – Immersed - Air Cathode MFC (SBIAC-MFC) is consisted of a fiberglass container of capacity (~ 4) liters, which served as the anodic chamber. The anodic compartment contained the substrate and the carbon electrode (anode ~ 65.3cm² for five graphite field).

A similar carbon electrode, which was used as anode served as cathode. The salt bridge served as an electrolyte NaCl (5%) in transfer of protons. Both anode and cathode were welded to solder wire using thermal caustic.

The 50% cathode surface was exposed to atmospheric air. Salt bridge employed here was made with 2M KCl and 4% Agar. The salt bridge was cast in a glass pipe (40 cm X 2cm). Proper precautions were taken to ensure complete sealing of anodic chamber by means of applying nylon sheets with Vaseline and anaerogen kit to ensure anaerobic conditions. The external circuit was completed by connecting a resistor (270 Ω) between the two leads of the electrodes and measured by fluckameter.

MFC operation:

Substrate (wastewater) was added in the anodic chamber and was completely sealed to maintain anaerobic condition. The fuel cell was sparged with CO₂ before sealing completely to ensure complete removal of oxygen. A batch configuration was employed and readings were taken for a period of 7 days. The readings were taken daily.

Measurement of output:

The output of the MFC was expressed by means of current (μ A and mA). For this purpose, multimeter (Fluke Digital, USA) was used and was calibrated each time before use. Resistance of 270 Ω was employed in all experiments and hence calculations were based on it. Readings from the multimeter were noted only after a steady and constant value was obtained, which took 3-4 hrs. The multimeter was connected in series with MFC when measuring current. Maximum current measured was (0.73 mA).

RESULTS AND DISCUSSION

The sewage compromises suitable for microorganisms growth being rich in organic and inorganic matters necessary for growth were

consumed and removed from the water as it appears microorganisms in sewage highly efficient removal of TDS, TSS, PH, COD and TOC as the majority of types of Heterotrophic consume organic matter as a source of carbon, which in turn the a source of electrons that are the basis of redox reactions carried out by microorganisms as well as the role played by the electrons in the respiratory chain and energy production and operations biosynthesis.

Electricity in the two chambered MFC was generated through treatment waste water by oxidation-reduction reaction MFC operation are: type of inoculums and proton conductive material, in this technology we have used sewage water and successfully generated optimum current output was (1, 37mA/h) with three salt bridges and ten graphite's fields MFC.

In this process the wastewater was secondary treated with normal present bacteria (biological treatment) as shown in table (1).

Table (1) : wastewater treatment using MFC technique

Tests	Before treatment	After treatment	Removal ratio %
EC μ s	1301	572	56.3
TDS mg/L	1170	486	58.46
TSS mg/L	452	163	63.94
pH	7.3	4.2	57.53
COD mg/L	547	127	76.78
TOC mg/L	205.65	65	68.29

The results in table (1) showed that:

1. Electric Conductivity (EC) : the value of electrical conductivity was (1301 μ s/ cm) for sewage household, a reduction in this amount as a result of the MFC treatment technology ; after 24 hours of the start of the work of the cell as it was (572 μ s/ cm), estimated percentage of removal ratio was (56.3%). This Reduction may be due to lower Electrical connectivity to the chemical compositions which comprise a result of bacterial metabolism, one of the reasons for increasing the electrical conductivity due to increasing the concentration of all positive and negative ions in swage water in addition to the low concentration of dissolved solids which are proportional relationship with connectivity.

2. Potential Hydrogen Ion (PH) value of sewage was (7.3) has earned a decrease in this value (4.2) a decrease in this content as a result of treatment in MFC Technology after 24 hrs. of work cell ,and the removal ratio was (57.53%).

A Salt bridge or any proton transport system specialized for proton H⁺ More comprehensive and dedicated to the transfer of cations in solution in the anode that exist in concentrations higher than 10⁻⁵ proton concentration of H⁺ in neutral solutions. So the competition between transport ions affects efficiently on MFC, May explain the reduction of the pH of the anode to the rapid rates of metabolism of bacteria and slow rates of transport of protons across the bridge saline. The reduction of pH was due to breathing microbiology and transport protons

and resulting from the addition to the release H₂S gas as a metabolic by-product of the bacteria. The cause of low pH value at the wastewater treatment by BFC technology he proved that the protons resulting from the decomposition of organic material in the wastewater to move around quickly enough, an increase resulting from breathing acid bacteria.

3. Amount of COD in wastewater was (547mg/L): A decrease was observed in the content of TOC after 24 h from MFC operation as it reached (127 mg/L) with removal ratio (76.78 mg/L). Most could achieve a considerable chemical oxygen demand (COD) removal efficiency accompanied with electricity generation the reason due to degradation organic compound as a source of energy by bacteria. The amount of (T.S.S) was (452 mg /L) of wastewater and Showed a decrease in this content as a result of treatment in MFC technology after 24 hours of work cell where it became (163mg/L) with removal ratio (63.93%).

4. Total Organic Carbon (TOC): the amount of TOC in waste water was (205.65mg/l).Decreases was observed in the content of TOC after (24h) from MFC operation as it reached (65mg/L) with removal ratio (68.29).

CONCLUSION

Generating electrical currents during wastewater treatment is possible by using MFC technique, which its efficiency can be improved in waste water treatment by reducing through differences of waste water COD, TOC, TSS, TDS, EC and PH values after operational time (36h) ,between before treatment and after treatment values for each test with releasing electrical current(1, 37mA/h). These results are consistent with those of (8).

REFERENCES

1. Aelterman P.; Rabaey K.; Palm H.; Boon N. and Verstraete W. (2006). Microbial fuel cells for wastewater treatment. *Water Sci. Technol.* 54 (8):9-15.
2. Dalvi AD.; Mohandas N.; Shinde OA. and Kininge PT. (2011). Microbial fuel cell for production of bioelectricity from whey and biological waste treatment. *Int. J. Advanced Biotechnol. Res.* 2(2): 263-268.
3. Al-Janabi DJ.(2012).The effect of wastewater types used in microbial fuel cell technology on electric power generation. *Euro. J. Sci. Res.* 75(3):340-345.
4. Kim SR.; Jung SH.; Regan JM. and Logan BE. (2008). Microbial fuel cell: recent advance, bacterial communities and application beyond electricity generation. *Env. Eng. Res.* 13 (2):51-65.
5. Logan BE. and Rabaey K. (2012). Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals by using microbial electrochemical technologies. *Science.* (337):686-690.

6. Barua K. and Deka D. (2010). Electricity generation from biowaste based microbial fuel cell. *Int. J. Energy*.1(1):77-92.
7. Huang L. and Logan B. (2008). Electricity generation and treatment of paper recycling waste water using a microbial fuel cell. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (80):349-355.
8. Logan B. (2009). Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nat. Rev. Microbiol.*7 (5):375-381.
9. Gaviria LA. (2011). Microbial fuel cell for wastewater treatment. In "wastewater treatment and reutilization". License. (150-170).

Determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in local and imported meats

Eassa A. Salih, Abdul- Jabbar A. Ali, Isam Sh. Hamza, Suha M. Ibrahim
and Amal I. Jasim

*Environmental and Water Directorate / Ministry of Sciences and Technology / Baghdad / Republic of
Iraq*

ABSTRACT

Polychlorinated biphenyls (PCBs) belong to the group compounds known as persistent organic pollutants (POPs). The current study was conducted to determine the contents of (PCBs) in local and imported meats in Baghdad city markets. Sixteen Samples (meat and meat products) were collected. The results showed that out of the total samples, there were four, which contained PCBs above MRL, six samples were contaminated with (PCBs) with a value of MRL of 50 ppb in meats. Seven samples showed no contamination with PCBs. Samples were analyzed by HRGC /Shimadzu/mode 2010 with ECD with high sensitive (ppb) for organic chlorinated compounds.

Key words: meat products, polychlorinated biphenyls, MRL

الملخص باللغة العربية

ينتمي ثنائي الفينيل متعدد الكلور (PCBs) إلى مجموعة مركبات تعرف باسم الملوثات العضوية الثابتة، في هذا البحث تم اختبار 16 عينة من اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة والمعرضة في أسواق بغداد. أظهرت النتائج وجود 4 عينات تحتوي على مركب PCBs بمستوى أعلى من الحدود المسموح بها وفقاً لـ MRL، في حين ظهرت 6 عينات ملوثة مع هذا المركب (الكلور) وكان مستوى MRL فيها يبلغ 50 جزءاً بالبليون في اللحوم. وأظهرت النتائج أيضاً سلامة 7 عينات من التلوث بمركبات ثنائي الفينيل متعدد الكلور، والعينات تم تحليلها باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية HRGC-ECD (شيمادزو / 2010) عالي الحساسية (جزء من البليون) للمركبات العضوية الكلورية.

INTRODUCTION

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are considered as organic pollutants, which hide a serious environmental situation. PCBs are not degradable biologically, chemically, or physically and known as persistent organic pollutants (POPs). These types of materials can transfer through food chain and accumulate in both human and animal fatty tissues (1). PCBs have toxic effects (2, 3). PCBs can be classified as non-polar compounds, inflammable, chemically and heat stable. They have electrical insulation. Therefore, they can be used in electric capacitors and in electric transfer. In addition, they can use as coloring agents in paints (4). It is possible that (PCBs) can be generated as inessential products in some of chemical processes which considered resources of chlorine (Cl_2) and hydrocarbons such as water chlorination or heat degradation of another chlorinated organic compounds (5). There are 209 Isomers belong to (PCBs).

(PCBs) move in environment and enter food chain and therefore, food considered as major resource of contamination by PCBs (6). High concentrations of these contaminants are found in fatty food, vegetables, grains and fruits (7). The effects of (PCBs) isomers do not belong to direct reaction with Deoxyribonucleic Acid (DNA) but they affect the receptors inside cells (8). Several isomers of (PCBs) are more toxic than others. When (PCBs) enter the body, they move through cell membrane in arteries and lymphatic system, but high concentrations usually are found in liver, fatty tissues, brain, skin and blood. Compounds of (PCBs) move from part to the other in human and animal body and accumulate in tissues and liquids of body. Some of (PCBs) concentrations can come out body by urination and sweating (9, 10). (PCBs) compounds affect liver, kidney and immunity system, the probability of exposure to these compounds is by consuming contaminated air, food and water (11). In addition, it is possible that lactating mothers can transport (PCBs) to their infants. High concentrations will cause cases of cancers. The World Health Organization (WHO) identified the allowed limits of PCBs in milk products (20 - 60) ppb, and in meat (50 ppb). Molecular weight of these isomers range from 188.7 to 498.7 Daltons and they have a very high thermal stability of all the mechanics so difficult and slow decomposition. Moreover, they affect DNA indirectly.

MATERIALS AND METHODS

The analytical equipments, GC- Gas chromatography, Shimadzu 2010 with ECD

Electron capture detector were used to qualify (PCBs) in local and imported meats as follows:

Capillary column type (ZB-5):

- Electron Capture Detector (ECD).
- Thermal program.

Injector temperature 280 °C, Detector temperature 310 °C and Furnace temperature 250 °C or thermal program 130 (10 min. 5) 280 – (C/min).

Sampling:

The study was conducted during a period of one week (4th- 10th) February 2014. a total number of 16 Samples of local and imported meats were collected from local markets of Baghdad city. Table (1) shows the sample types and their origin.

Table (1): types and origins of the study samples

No.	Sample type	Origin
1	Plate meat / Buffalo	India
2	Chicken breast	U. S. A
3	Chicken thigh (Drumstick)	Brazil
4	Sausage	Turkey
5	Meat Luncheon 1	Jordan
6	Meat Luncheon Bravo 1	Jordan
7	Meat Luncheon Bravo 2	Jordan
8	Tuna 1	Thailand
9	Tuna 2	Thailand
10	Tuna 2.2	Thailand
11	Burger1	Jordan
12	Burger 2	Jordan
13	Minced meat 1	Iraq
14	Minced meat 2	Iraq
15	Minced meat 1	India
16	Minced meat 2	India

Procedure:

According to (12), 100 gm of each sample were separately taken, and homogenized well, then 50 ml of Hexane ultra-purity were added to the samples and shaken for 2 hrs. Samples were filtered and concentrated by rotary evaporator until arriving 50 ml. The concentrated filtered samples passed through Florisil column cleanup, inner diameter 12 mm with 3 gm of activated florisil by furnace at 550 °C for 12 hrs. 1ml of toluene to column, the filtrate samples were injected in GC equipment.

RESULTS AND DISCUSSION

After extraction of meat samples was made, results were compared by external standard technique (External –Standard) (figure 1). Concentrations were calculated with consideration of the percentage of recovery (figure 2).

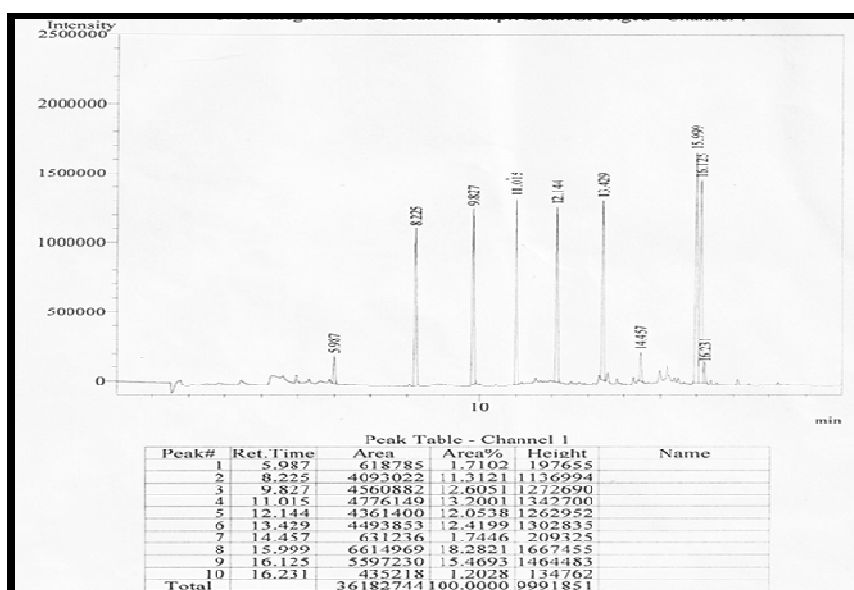


Figure (1): Chromatogram of a mixture for (PCBs) isomers

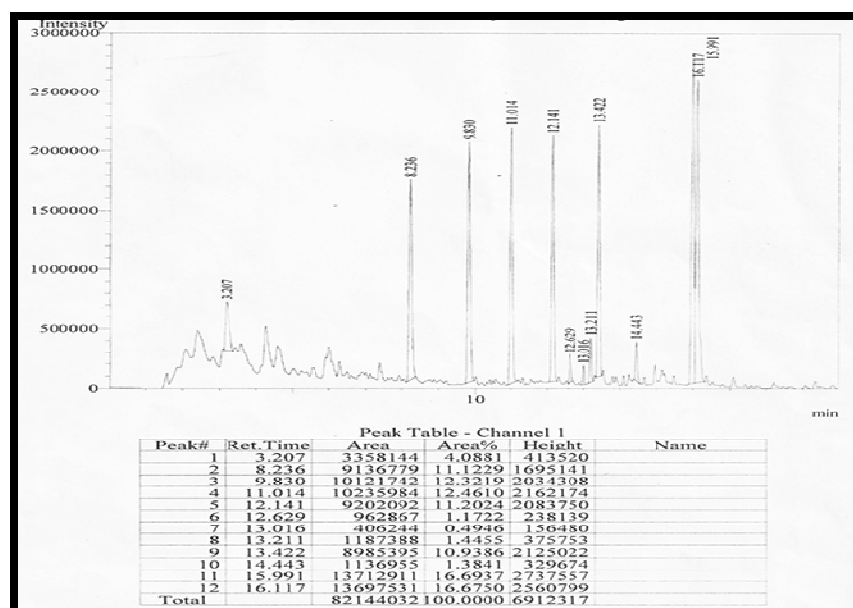


Figure (2): Chromatogram to measure percentage of recovery (R%).

Results showed that four samples (Indian plate meat, Chicken thigh (Drumstick), Luncheon Meat 1, and Indian minced meat 2) contained (PCBs) in allowed limits, where the allowed limits are about 50 ppb.

Results showed contamination more than allowed limits in five different samples (breast chicken /

USA, minced meat 1 / India, Tuna 1, Tuna 2 and Tuna 2.2) figures (3- 6) respectively and as shown in table (2).

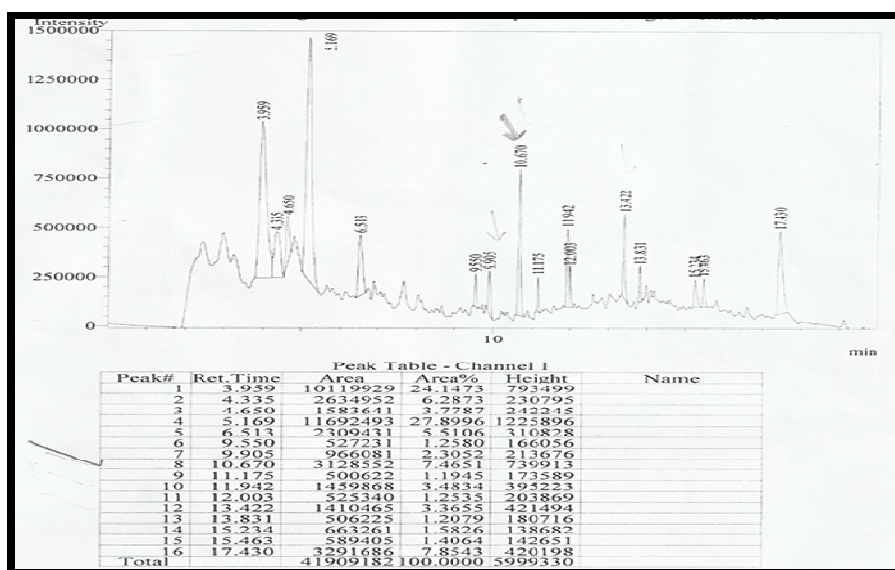


Figure (3): Chromatogram for sample of breast chicken / USA

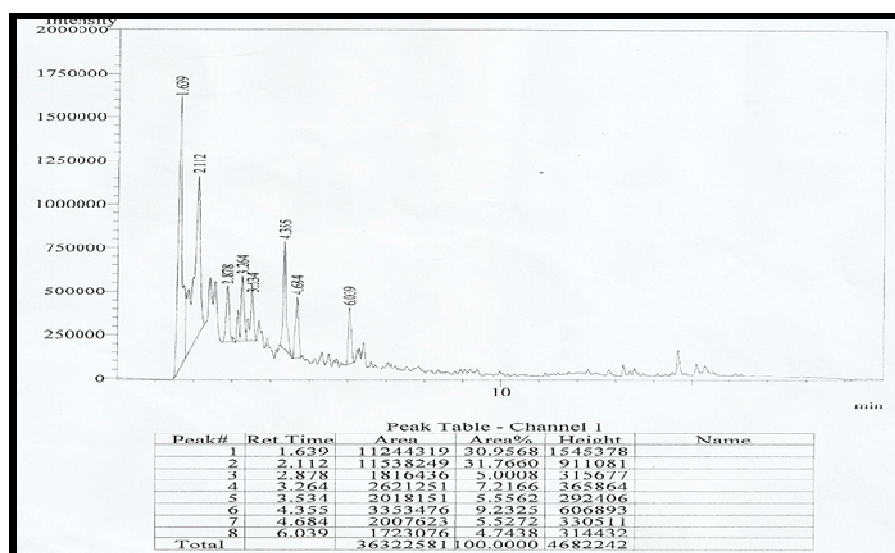


Figure (4): Chromatogram of minced meat 1/ India sample

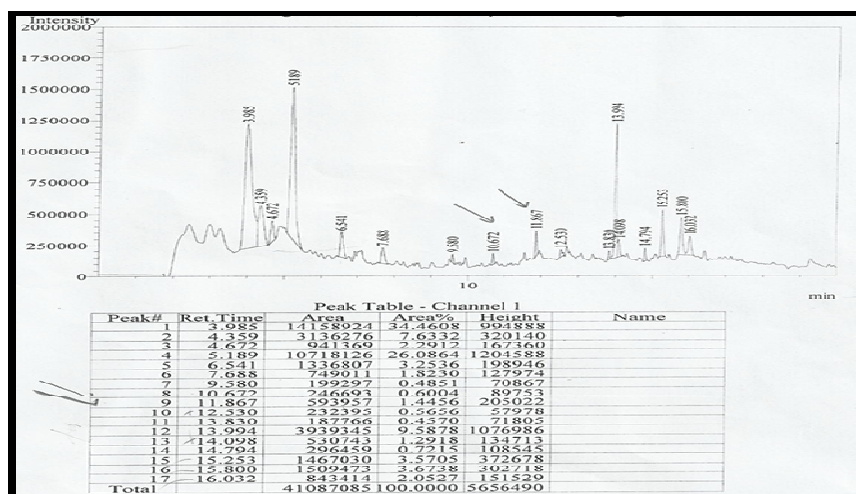


Figure (5): Chromatogram of tuna 1

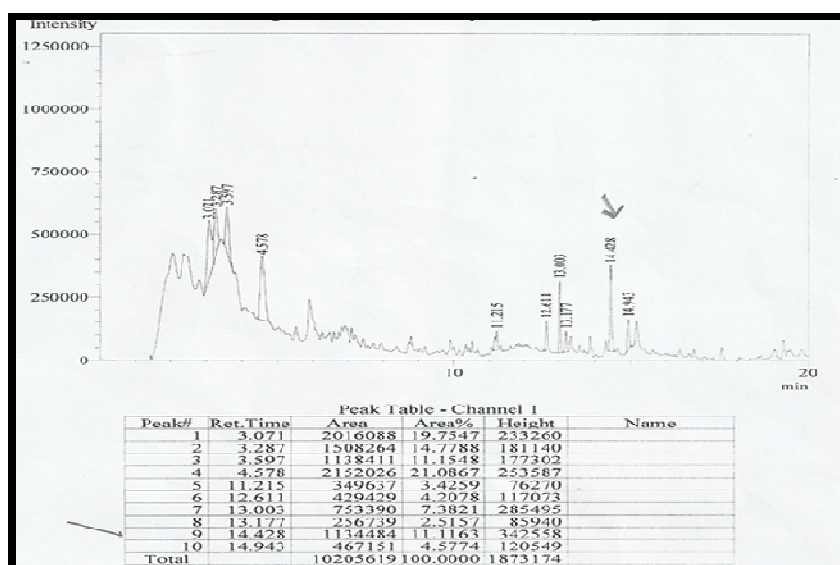


Figure (6): Chromatogram for Tuna 2.2

Table (2): Analyzed meats types, type and quantity of contaminants Isomers of (PCBs) in ppb* units

No.	Meat sample	2 CB	2, 3 diCB	2, 4, 5 triCB	2, 2, 4, 4 – tetra CB	2, 2, 3, 4, 6- PcB	2, 2, 4, 4, 5, 6 HaB	2, 2, 3, 3, 4, 4, 6- HePcB	2, 2, 3, 3, 4, 5, 6, 6-OCB
1	Plate meat / Buffalo	***	***	33.53	***	***	***	***	***
2	Chicken breast	***	392.5	***	***	***	***	***	***
3	Chicken thigh (Drumstick)	***	30.86	72.67	***	***	***	***	***
4	Sausage	***	***	***	***	***	***	***	***
5	Meat Luncheon 1	***	***	27.94	***	***	***	***	***
6	Meat Luncheon Bravo 1	***	***	***	***	***	***	***	***
7	Meat Luncheon Bravo 2	***	***	***	***	***	***	***	***
8	Tuna 22	***	***	***	***	***	165.62	***	***
9	Tuna 2	***	***	***	***	***	296.33	***	***
10	Tuna 1	***	***	***	***	***	298.49	***	***
11	Burger 1	***	***	***	***	***	***	***	***
12	Burger 2	***	***	***	***	***	***	***	***
13	Iraqi Minced meat 1	***	***	***	***	***	***	***	***
14	Iraqi Minced meat 2	***	***	***	***	***	***	***	***
15	Indian Minced meat 1	***	***	***	***	***	160.69	***	***
16	Indian Minced meat 2	***	***	33.94	818.3	***	***	***	***

(*) Measurements units by part per billion, (**) These values measured after use feedback after use high ratio of the percentage recovery (R %). (89028, 88078, 85072, 8404, 79099, 7201, 82093 and 97091) respectively, (***) Below the detection limits.

On the other hand, results carried out those seven samples of meats and their products (sausage, meat luncheon bravo (1 and 2), burger (1 and 2), and minced meat / Iraq (1 and 2), free of (PCBs) compounds and their isomers. Because of the hazardous effect of PCBs and their dangerous healthy impacts, there must be strict regulations that control consuming these contaminated products in the local markets in order to save public health (1).

CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS

Throughout the results of the current study, it was found that most imported meats available at Baghdad markets are not controlled perfectly against the presence of PCBs compounds, this fact hides a critical and serious issue that need more research efforts to determine the degree of this issue in order to save public health. However, the study was limited to the samples from Baghdad city only, because of the difficulties which were faced in collecting samples from other provinces in Iraq. But, the study could sign a new health challenge that must be considered by the authorities in Iraq.

REFERENCES

1. Juan M; Liobet BANA.; Jose L. and Domingo L. (2003). Levels of Polychlorinated Biphenyls in Foods from Catalonia. *J. Food Protect.* 66(3): 479–484.
2. Boethling RS.; Calamari D.; Cowan-Ellsberry C.; Eisenreich S.; Franklin J. *et. al.* (1998). Evaluation of persistence and long-range transport of organic chemicals in the environment: summary of a SETAC Pellston Workshop. 13–19 July. Fairmont Hot Springs, British Columbia, Canada.
3. Van Larebeke N.; Hens L.; Schepens P.; Covaci A.; Baeyens J.; Everaert K.; Bernheim JL.; Vlietinck R. and De Poorter G. (2001). The Belgian PCB and dioxin incident of January–June 1999: exposure data and potential impact on health. *Environ. Health Perspect.* 109:265–273.
4. Ahmed FE.; Moffat CF. and Whittle KJ. (1999). *Environmental Contaminants in Food.* Sheffield Academic Press, England. Chapter 13: 500.
5. Erickson MD. (1997). *Analytical Chemistry of PCBs.* 2nd Ed., CRC Lewis Publishers, Boca Raton, USA.
6. Eljarrat E.; Monjonell A.; Caixach J. and Rivera J. (2002). Toxic potency of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in food samples from Catalonia (Spain). *J. Agric. Food Chem.* 50:1161–1167.
7. Wells DE.; deBoer J.; Moffat CF. and Whittle KJ. (1999). *Environmental Contaminants in food.* Sheffield Academic Press, England. Chapter 14: 305.
8. Jimenez B.; Hernandez LM.; Eljarrat E.; Rivera J. and Gonzalez MJ. (1996). Estimated intake of PCDDs, PCDFs and co-planar PCBs in individuals from Madrid (Spain) eating an average diet. *Chemosph.* 33:1465–1474.
9. Harrison N.; Wearne S.; Gem MG.; Gleadle A.; Startin J.; Thorpe S.; Wright C.; Kelly M. *et. al.* (1998). Time trends in human dietary exposure to PCDDs, PCDFs and PCBs in the UK. *Chemosph.* 37:1657–1670.
10. Gray WV. and Stephen JF. (2001). *Environmental Chemistry: A Global Perspective* 1st Ed., pp.339-340. Oxford University Press, London, UK.
11. Shadel BN.; Evans RG.; Roberts D.; Clardy S.; Jordan- Izaguirre SD.; Patterson DG. and Needham LL. (2001). Background levels of non-ortho-substituted (coplanar) polychlorinated biphenyls in human serum of Missouri residents. *Chemosph.* 43:967–976.
12. Eskilsson CS. and Bjorklund E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr.* 902: 227-250.

Analysis of quantitative gene expression for DGAT2 gene responsible on the olive diacylglycerol acyltransferases in cultivars sample of olive (*Olea europaea*.L)

Ali S. A. Al- Janabi

Dept. of Horticulture and Landscape Gardening/ Faculty of Agriculture / Kufa University /Republic of Iraq

ABSTRACT

In the current study, gene expression for *DGAT2* gene was analyzed. Diacylglycerol acyltransferases (DGATs) catalyse the final step of the triacylglycerol (TAG) biosynthesis of the Kennedy pathway. Two major gene families had been shown to encode DGATs, DGAT1 (type-1) and DGAT2 (type-2). Gene expression was analyzed for 10 Olive cultivars (*Olea europaea* L.) (Khaderi , Qaysi , Manzenillo , Baashiqi , Arabqween , Nabali , Labeeb , Dahkan , Shami and Sorani) . Different plant organs (mature leaves , mesocarp and seeds for drups) were used for analysis. Two methods for analysis gene expression were used, first method was semi – quantitative and the second method was relative – quantitative . they were used in relative method (Real time PCR and Actine gene as Housekeeping gene). On the other hand, chemical analysis was applied on fruits (moisture % , oil D.W% and oil F.W.). The results revealed that the best varieties were belonged to Shami, Arabqween, Khaderi, Qaysi and Labeeb cultivars. Results indicated that the varieties in Shami and Khaderi were in fruits desirable qualities of olive oil, low moisture and high oil percentage ratios. While it were Nabali, Manzanillo and Sorani varieties middle desirable qualities and both varieties Baashiqi and Dahkan were undesirable because it were low oil quantity and high moisture in fruits contain. Some varieties have little intensity in semi- quantitative and little fold in relative quantity but it's have high oil contain in fruits that maybe indicate to that varieties were complete gene expression and begin to accumulation and save oil in tissue. Therefore particular emphasis was given to the temporal regulation of olive DGATs during drupe development. In olive fruit, TAGs are formed and stored in both the mesocarp and the seed . In oil seed a transient increase of DGAT activity occurred at the stage of active oil accumulation, but when the lipid content reaches plateau the activity decreases markedly. In this study, relatively high levels of transcription of *OeDGAT2* were detected in olive leaves of varieties, where the regulation of expression was clearly developmentally regulated . Accumulating data, as stated above, suggest that *DGAT2* gene also play roles other than its 'classical' role to synthesize TAGs in the storage organs and different drupe that have different physiological functions and roles and also display difference in the mode of TAG accumulation. *DGAT2* share an overlapping expression pattern after 28 WAF, suggesting that they probably function at those stages. However, following maximal mRNA levels at 22 WAF, *DGAT2* transcription had declined substantially.

Key words: Olive, *DGAT2*, Diacylglycerol acyltransferases, gene expression

الملخص باللغة العربية

في الدراسة الحالية تم إجراء تحليل التعبير الجيني للجين *DGAT2*. وتعتبر الإنزيمات Diacylglycerol acyltransferases هي المحفزة للمرحلة الأخيرة من التصنيع الحيوي للجليسريدات الثلاثية TAG في مسار كيندي. ظهر هناك نوعان من الإنزيمات التي تنتمي لإنزيمات الجليسيريدات الثلاثية DGATs، النوع الأول *DGAT1*، والنوع الثاني *DGAT2*. تم عمل تحليل التعبير الجيني لعشرة أصناف من الزيتون *Olea europaea* هي (خضيري، قيسي، منزيلا، بعشيقي، اربكوين، نبالي، لبب، دهكان، شامي و صوراني). استخدمت أجزاء نباتية مختلفة للتحليل (الأوراق البالغة، لكم الثمار، البذور). تم استخدام طريقتين لتحليل التعبير الجيني، الأولى سميت بالطريقة شبه الكمية والطريقة الثانية سميت بالكمية النسبية. استخدمت في الكمية النسبية جهاز Real-time PCR وجين الاكتين كجين مصدر. من جانب آخر، تم تحليل الثمار كيميائياً لتحديد النسبة المئوية للرطوبة في الثمار، النسبة المئوية للزيت بالوزن الرطب والجاف للثمار. أظهرت النتائج أن أفضل الأصناف كان الصنفان الشامي والخضيري حيث كانت صفات زيت الزيتون مقبولة، والرطوبة منخفضة ونسبة الزيت المئوية عالية، بينما كانت الأصناف النبالي، منزيلا، والصوراني متوسطة الصفات المرغوبة فيما أظهر الصنفان بعشيقي و دهكان صفات غير مرغوبة بسبب احتواء ثمارها على كمية زيت منخفضة ورطوبة عالية. بعض الأصناف في طريقة التحليل شبه الكمية احتوت على تآلق ضعيف للحزم كما كان لها في طريقة التحليل للكمية النسبية مضاعفات قليلة إلا أن ثمارها في التحليل الكمي كانت تحتوي على نسبة زيت عالية، ربما كانت تلك الأصناف قد أكملت تعبيرها الجيني وبدأت بتجميع وحفظ الزيت في أنسجتها، لذلك عملياً يمكن تأكيد وجود تنظيم مؤقت لأنزيمات الجليسيريدات الثلاثية DGATs خلال تطور الثمار. في ثمار الزيتون أنزيمات الجليسيريد الثلاثية تتشكل وتحفظ في الثمار والبذور. إن الزيادة العابرة في فعالية *DGAT* في البذور الزيتية تحدث في مرحلة التجميع الحيوي للزيت، ولكن عند بلوغ محتوى الدهون مرحلة الاستقرار Plateau فإن فعالية *DGAT* سوف تنخفض. ظهرت من نتائج هذه الدراسة المستويات العالية نسبياً من استنساخ *OeDGAT2* في أوراق الأصناف، لذلك يمكن اعتبار تنظيم التعبير الجيني تنظيماً تطورياً، ومن البيانات المدروسة التي جمعت من الدراسة، يفترض الباحث أن الجين *DGAT2* يلعب دوراً تقليدياً في تصنيع الجليسيريدات الثلاثية TAG في الأعضاء الحافظة لها، كما أن تطور الثمار المختلفة له دور في إظهار وتخليق وتجميع الجليسيريدات الثلاثية TAG. وإن *DGAT2* له حصة في التداخل الحاصل في النماذج المختلفة من التعبير الجيني بعد ثمانية وعشرين أسبوعاً من الإزهار الكامل، لذلك يقترح احتمالية فعاليته في تلك المرحلة من تطور الثمرة للزيتون. مع ذلك فإن المستويات العالية من استنساخ *Mrna* ممكن أن تظهر بعد اثنين وعشرين أسبوعاً من الإزهار الكامل وبعد هذه المرحلة يحصل هبوط باستنساخ *DGAT2*.

INTRODUCTION

The olive tree (*Olea europaea* L.) is an evergreen species that ranks sixth in the world's production of vegetable oils (1). Since ancient times it has been cultivated in the Mediterranean Basin, where ~2600 cultivars have been identified based on morphological traits (2). In more recent years, interest in olive oil production has been extended to countries outside the Mediterranean region such as Argentina, the USA, Mexico, South Africa, western Africa, Australia, Azerbaijan, China and Japan (3, 4). Olive trees lack dormancy, and are sensitive to low temperatures (5).

Plant lipids contain polyunsaturated fatty acids, mainly linoleic and α -linolenic acids, which play crucial roles in plant metabolism as storage compounds mainly in the form of triacylglycerols (TAG), as structural components of membrane lipids, and as precursors of signaling molecules involved in plant development and stress response (6,7). Linoleic acid, together with oleic acid, is a major fatty acid in vegetable oils and its content greatly affects technological properties such as their oxidative stability (8) and nutritional characteristics (9).

A number of plants accumulate large amounts of triacylglycerols (TAGs) in their seeds as storage reserves for germination and seedling development. Key points in the accumulation of TAGs are the early events of fatty acid biosynthesis and the last and critical events of TAG synthesis (10-13). There are few fruit crops that deposit most of the oil in the mesocarp tissues to attract animals for seed dispersal. Among them, olive is of predominant economic importance because its oil is ideal for direct consumption. It is therefore of great importance to elucidate the key-points in the olive oil biosynthesis pathway and storage. Such knowledge could speed up the breeding programs aimed at selecting clones with superior fatty acid composition and is also essential for selecting high oil-yielding genotypes more efficiently and rapidly, thus improving decision-making processes. Nevertheless, the molecular basis of gene regulation underlying olive oil production is far from complete. There is a significant amount of information concerning the regulation of several genes involved in fatty acid synthesis and modification (2, 14, 15), but much less is known about the cellular mechanisms governing the transfer of fatty acids into storage TAGs, not only in olive but generally in plants (16).

TAG biosynthesis is principally accomplished by membrane-bound enzymes that operate in the endoplasmic reticulum (ER) through the glycerol-3-phosphate or the so called Kennedy pathway (17, 18). The first step in the process involves the acylation of glycerol-3-phosphate (GP) at the sn-1 position to produce lysophosphatidic acid (LPA) by GP acyltransferase (GPAT). LPA is further acylated at the sn-2 position by LPA acyltransferase (LPAT) resulting in the formation of phosphatidic acid (PA). PA is dephosphorylated to produce diacylglycerol

(DAG), which is further acylated to produce TAG by diacylglycerol acyltransferase (DGAT), the only enzyme in the pathway that is thought to be exclusively committed to TAG synthesis. Inasmuch as DGAT catalyses the final and most critical step for TAG synthesis, it has been suggested that it may constitute a rate-limiting factor in TAG bioassembly in developing seeds (11-13, 19). However, TAGs could also be produced via the transfer of acyl groups from phospholipids to diacylglycerols, an acyl-CoA-independent reaction catalyzed by the enzyme phospholipid:diacylglycerol acyltransferase (PDAT) (20-22). TAGs are not only produced in seeds or mesocarps. Both TAG accumulation and DGAT activity have been reported in several other organs, such as flowers, developing siliques, germinating seeds, young seedlings, and senescing leaves of *Arabidopsis* (23, 24), and in stems, flowers, roots, and leaves of tobacco (25). Based on those observations, it has been suggested that TAG may also be implicated in physiological roles other than as a carbon or energy source (26, 27). Two major unrelated gene families have been shown to encode DGATs, namely DGAT1 (type-1) and DGAT2 (type-2) both of which are ER-localized. DGAT1 genes have been cloned from several plant species, including olive (28). DGAT2 genes have been cloned from diverse eukaryotes, including the oleaginous fungus *Mortierella ramanniana* (29), human (30), and the plant species *Arabidopsis* (29), castor bean (31), and tung tree (16). A third member of the DGAT family (type-3), highly unrelated to the previously reported, was identified in peanut that possesses a cytosolic localization (32). Accumulating data suggest that DGAT activity may have a substantial effect on carbon flow into seed oil of *Brassica napus* (33, 34), *Arabidopsis thaliana* (11, 23, 35), and maize (22). In an attempt to gain further insight into the role(s) of DGATs in plant lipid biosynthesis. The expression patterns of *DGAT2* in several other organs/tissues of the olive tree indicated that genes are differentially regulated to fulfill the needs for TAG accumulation at certain points of growth and development.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material:

Using the mature leaves (ML), mesocarp fruit (ME) and seeds (S) included embryo and endosperm of 10 olive cultivars (*Olea europaea*) were: (Khaderi, Qaysi, Manzenillo, Baashiqi, Arabqween, Nabali, Labeeb, Dahkan, Shami and Sorani.) trees were grown in Iraqi orchard near Mosul, and chilled in liquid nitrogen, and stored at -80°C.

Total RNA Extraction and cDNA Synthesis:

Total RNA samples were isolated by uses (SV Total RNA Isolation kit/Promega.USA). The quality of RNA was verified by demonstration of intact ribosomal bands following agarose gel electrophoresis. DNA was removed from RNA samples using the DNase I

Mix/Promega.USA (DNase I, MnCl₂, yellow core buffer). First-strand cDNA was synthesized from (16 µl) of total RNA using the (power cDNA Syntheses kit/IntronBio.Inc.USA) with Oligo (dT)15 primer, following the manufacturer's instructions and quantified using gel electrophoresis.

Semi- Quantitative Real Time PCR:

Analysis was done by change PCR program respectively with Primer for gene-specific (*DGAT2*) amplification and cDNA Syntheses from 25th to 35th cycle. PCR products were also checked for purity by 1% agarose gel electrophoresis (table 1).

Table (1): PCR program respectively with Primer for gene-specific (*DGAT2*) amplification and cDNA Syntheses from 25th to 35th cycle

	Stage	Tm	Time	Cycle
1	Pre - Denaturation	95	5 min	1
2	Denaturation	95	45 sec	25
3	Annealing	55	45 sec	
4	Extension	72	45 sec	
5	Final extension	72	10 min	1
	Stage	Tm	Time	Cycle
1	Pre - Denaturation	95	5 min	1
2	Denaturation	95	45 sec	25
3	Annealing	55	45 sec	
4	Extension	72	45 sec	
5	Final extension	72	10 min	1

Quantitative Real Time PCR (qRT -PCR):

Gene expression analysis were performed by qRT-PCR using an Mini Opticon System real-time PCR and GO Taq Master Mix SYBR Green kit Q-PCR/ IntronBio.Inc.USA. Primers for genespecific amplification were Designed to generate a product of 100-200 bp and to have a T_m (melting temperature) of 60 °C. PCR reactions were carried out in duplicate in plate. Reaction mix (22.5 µl per well) contained 12.5 µl, Master Mix SYBR Green, 2.5 µl forward and reverse primers, 7.5 µl DEPC-D.W and 2.5 µl of cDNA. The thermal cycling conditions consisted of an initial denaturation step of 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles of 95 °C for 30 s, 60 °C for 1 min, and 72 °C for 30 s. The specificity of the PCR amplification was monitored by melting curve analysis following the final step of the PCR products were also checked for purity by agarose gel electrophoresis. The housekeeping olive Actin gene (*OeActin*) was used to normalize as endogenous reference. The real-time PCR data were analysis by GeneX programme. The gene of the olive tree, used for the design of primers are available in Gen Bank (www.ncbi.nlm.nih.gov/ Gen Bank/EMBL/DDBJ. the primers sequences (*DGAT2*) for QRT-PCR amplification were two parts forward (5--TCCCATCTACCAATTTTCACTC-3) and reverse (5- TAGAACACAGCAGTACTAGCG-3) and Actin gene primer were forward (5-

ACCACCTCAGCCGAACGGGA-3) and reverse (5-TGCTGGGAGCCAAGGC AG TG-3).

Chemical analysis:

Uses Soxhlet method to determination oil percentage (%) in moist and dry of flesh 10 olive varieties.

RESULTS AND DISCUSSION

Figure (1) shows the results of isolated total RNA of the mature leaves (ML), flesh mesocarp fruit (ME) and seeds (S) of the olive cultivars studied manner filters and then migrated to agar gel 1 %, voltage 100 V for 20 minutes, and the success of the method to isolate RNA from this plant parts.

The semi-quantitative measurement of gene expression of the gene *DGAT2* in the mature leaves (ML) of varieties (Figure 2. ML) Refers to the emergence of clear on bands and high intensity in some varieties and a few intensity in other varieties at the 25th cycle of the PCR as shine bands varieties were Khaderi and Nabali but the varieties Oaysi, Manzenillo, Arabqween, Labeeb, Shami and Sorani were medium intensity bands. Either less varieties intensity were at varieties Baashiqi and Dahkan. Appeared differences in gene expression levels of *DGAT2* gene, but when 35th cycle that all varieties were similar and equal approximately except Basshiqi and Dahkan varieties were low intensity bands. Analysis relative gene expression of the gene *DGAT2* in the mature leaves (ML) of varieties were different then show Baashiqi variety the highest level gene expression nearly 152 fold and Nabali variety was in second gene expression but another varieties were equals in gene expression approximately.

The analysis varieties mesocarp (ME) were clear different among varieties then (Figure 2. MB) refer to supremacy Khaderi, Manzenillo, Shami and Sorani varieties were have clear bands in the 25th cycle. In the 35th cycle that all varieties were similar and equal approximately in shine bands. Notes from the analysis of relative amount of the gene *DGAT2* In fruit mesocarp of olive varieties under study that cultivars Nabali, Labeeb, Dahkan and Shami had a higher level of expression of gene after 28 weeks of full bloom and it reached approximately (18.5, 7.5, 11 and 5 fold) respectively, and either varieties were lower in the level of gene expression.

In seed varieties showed analysis *DGAT2* gene expression clear different among varieties then analysis semi-quantitative in the 25th cycle of the PCR program that for cDNA varieties appeared Baashiqi and Dahkan varieties were weakly intensity bands, and in this cycle cannot be distinguished of bands to this varieties, on the other hand this cycle (25th) showed high intensity of clear bands in most of varieties especially Khaderi, Arabqween, Nabali, Shami and Sorani varieties, while other varieties had middle intensity. Figure (2.S) showed semi-quantitative measurement. In 35th cycle of the PCR program of gene expression to gene *DGAT2* in the seeds of olive varieties that clear bands for all varieties especially the Khaderi, Manzenillo, Arabqween, Nabali, Labeeb

varieties, except Baashiqi and Dahkan varieties were weakly intensity. Notes from the analysis of relative amount of the *DGAT2* gene in seed varieties (Figure 2.S) that Shami, Khaderi, Sorani and Arabqween varieties had high relative gene expression reach (230, 65, 64 and 50 folds) respectively, while Qaysi, Nabali, Labeeb, Dahkan and Baashiqi varieties had less relative gene expression.

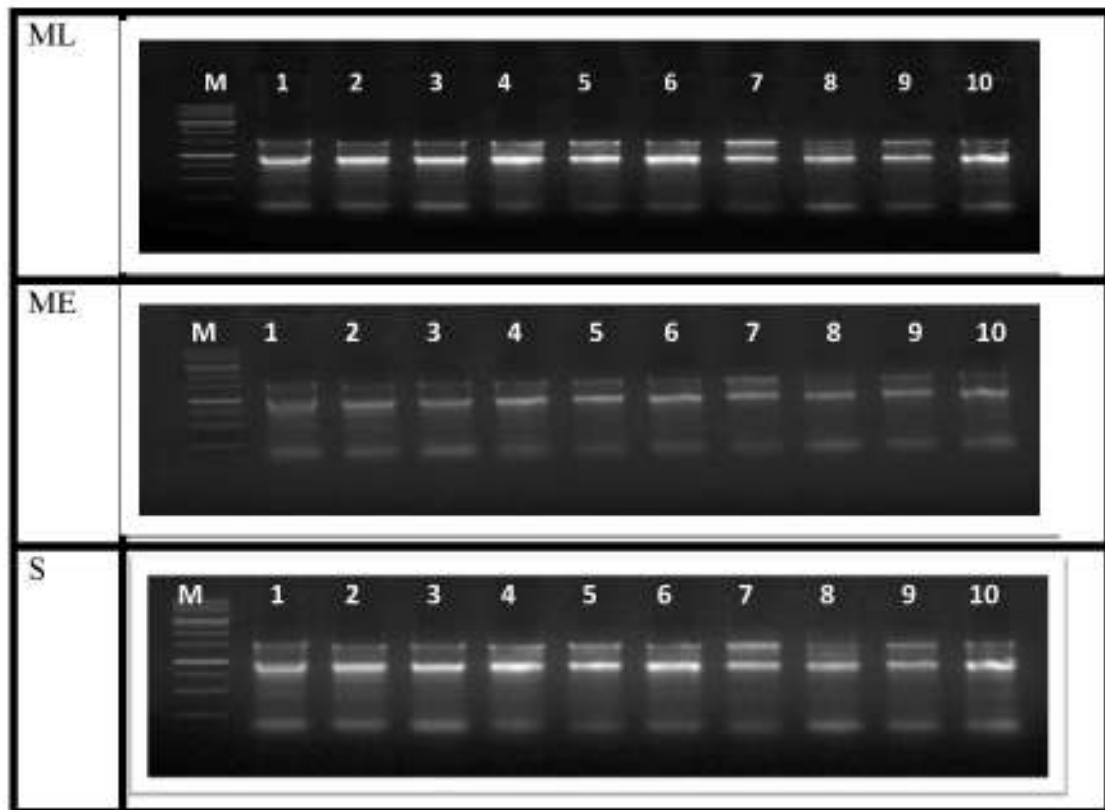


Figure (1): The isolated total RNA of the mature leaves(ML), mesocarp(ME) and seeds(S) of ten olive varieties on agarose gel (1%) and voltage (100 V) for (20 minutes). M = Marker Leader: 1 = Khaderi, 2 = Qaysi 3 = Manzenillo, 4 = Baashiqi, 5 = Arabqween, 6 = Nabali, 7 = Labeeb 8 = Dahkan, 9 = Shami and 10 = Sorani.

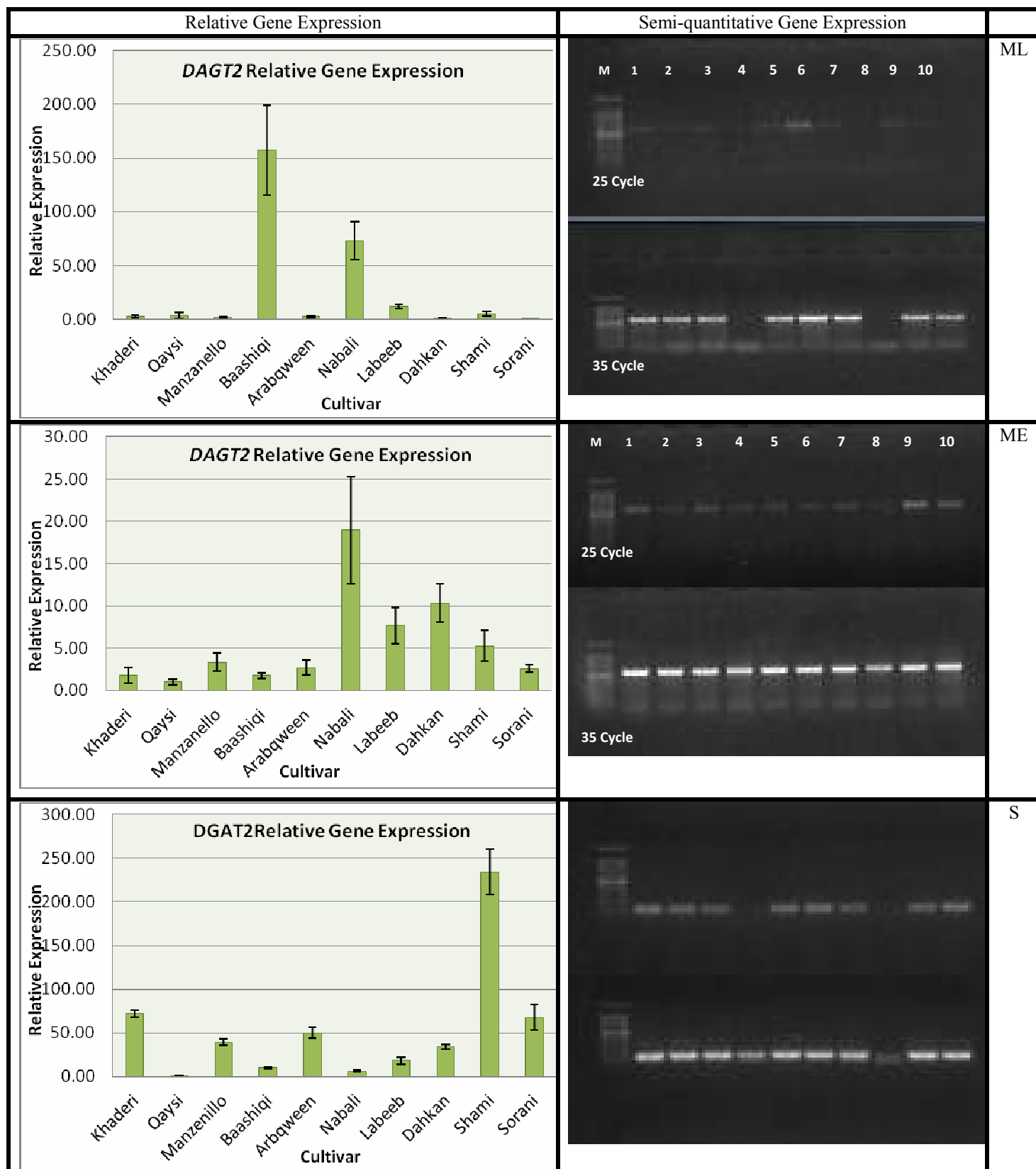


Figure (2): the Semi-quantitative measurement and Relative quantitative of *DGAT2* Gene expression to the mature leaves (ML), mesocarp (ME) and seeds (S) of ten olive varieties semi-quantitative were on agarose gel (1%) and voltage (100 V) for (20 minutes). M = Marker Leader: 1 = Khaderi, 2 = Qaysi 3 = Manzanillo, 4 = Baashiqi, 5 = Arabqween, 6 = Nabali, 7 = Labeeb 8 = Dahkan, 9 = Shami and 10 = Sorani.

Results of chemical analysis:

Chemical analysis of the fruits of olive varieties showed highest moisture percentage in Dahkan variety fruits with significant difference reached (71.3%), while the lowest moisture percentage in Khaderi variety fruit. Arabqween variety fruit contained high percentage of oil in dry weight reached (57.5%) and Baashiqi fruit had low percentage of oil dry weight reached (15.5%). Percentage of oil in fresh weight showed which highest significant value in Khaderi variety which was (37.4%) , while the lowest percentage in Iraqi varieties (Baashiqi and Dahkan) reached (4.9 and 6.6%) respectively. Table (2) .

Table (2): analysis of moisture and oil in olive fruits varieties

Varieties	Moisture (%)	Oil.dw (%)	Oil.fw (%)
Khaderi	30.4 f	53.7 c	37.4 a
Qaysi	36.4 e	56.3 ab	35.4 b
Manzanello	38.8 de	38.9 e	23.8 e
Baashiqi	68.4 b	15.5 g	4.9 f
Arabqween	41.6 c	57.5 a	33.6 c
Nabali	39.5 d	49.8 d	30.1 d
Labeeb	39.6 d	55.8 b	33.7 c
Dahkan	71.3 a	23.2 f	6.6 f
Shami	37.8 e	49.8 d	31.5 d
Sorani	38.8 de	38.6 e	24.2 e

*Similar letters refer to non-significant difference

*Dissimilar letters refer to significant difference

*This analysis of variance and means were separated by Duncan's multiple range test at the 5% level

In this study, *DGAT2* gene expression in leaves, mesocarp and seeds had been done by two methods (semi- quantitative and relative quantity) to get the convergent and clear results. Comparing these results with chemical analysis showed that the best varieties were Shami, Arabqween, Khaderi, Qaysi and Labeeb. Results indicated that the varieties Shami and Khaderi then contained in fruits desirable qualities of olive oil, low moisture and high oil percentages ratios. While it were Nabali, Manzanello, Shami and Sorani varieties middle desirable qualities and both varieties Baashiqi and Dahkan were undesirable because it were low oil quantity and high moisture in fruits contain. Some varieties have little intensity in semi- quantitative and little fold in relative quantity but it's have high oil contain in fruits that maybe indicate to that varieties were complete gene expression and begin to accumulation and save oil in tissue. Therefore, particular emphasis was given to the temporal regulation of olive DGATs during drupe development. In olive fruit, TAGs are formed and stored in both the mesocarp and the seed .Two drupe compartments that have different physiological functions and roles, in addition to display difference in the mode of TAG accumulation. Storage TAGs in seeds is proposed to provide energy for germination. They are present in small 0.5-2 mm diameter subcellular-oil bodies complete covered by oleosins to prevent them from coalescence (36).The fleshy

olive mesocarp possesses much larger (about 30mm diameter) lipid particles TAGs which are devoid of surface oleosins (37, 38).Accumulation of TAG in olive seeds is relatively fast,if compared with the mesocarp,being completed within a relatively short period (39). Although massive TAG storage in seeds starts at about 11 WAF ,coinciding with endocarp lignification, DGATI transcripts were present as early as 5 WAF, albeit at low levels. By contrast, DGAT2 transcripts were almost undetectable until 11 WAF, pointing to a principal role of DGATI in early TAG accumulation in olive drupes, especially in the seed (40). As the drupe grows further, the rate of oil synthesis in seed tissues accelerates reaching a plateau at about 22 WAF (39). The relative expression of DGAT2 was barely detectable.In oilseed a transient increase of DGAT activity occurs at the stage of active oil accumulation, but when the lipid content reaches plateau the activity decreases markedly(41, 42).The present results suggest a prominent role of DGAT2 in seed olive oil accumulation. This is in contrast to oleogenic seed crops that contain unusual fatty acids where, DGAT2 may play a central role in oil production (16, 43-45). Olive oil does not contain unusual fatty acids and olive is one of the few exceptions of commercially important oil producing crops in that most of the oil is produced in the mesocarp. Oil accumulation in the mesocarp follows a typical sigmoidal curve (39). The major proportion of oil generally starts to accumulate at 16-19 WAF and reaches a plateau at about 28 WAF. However, the pattern of accumulation may vary due to environmental conditions, different agricultural practices and/or the olive variety (46).

Huang *et al.* (47) showed that oil bodies, primarily composed of steryl esters and triacylglycerols, were abundant in the *Physcomitrella* photosynthetic vegetative gametophyte. In this study, relatively high levels of transcription of *OeDGAT2* were detected in olive leaves of varieties, where the regulation of expression was clearly developmentally regulated. Accumulating data, as stated above, suggest that DGAT2 gene also play roles other than its 'classical' role to synthesize TAGs in the storage organs (22). The present results point to a differential contribution of each DGAT gene in various organs in a temporal-related manner.

In conclusion, DGAT2 share overlapping but distinct transcription patterns during vegetative growth, suggesting that they are differentially regulated in a developmental and cellular manner. They probably have similar functions but they also serve different purposes. Distinct expression patterns of DGAT2 were observed between the leave, mesocarp and seed with DGAT2 contributing most of the TAG deposition in seeds, reflecting the large differences in the mode of TAG accumulation among the varieties fruit compartments. Important differences between the expression profiles of the gene was also apparent during drupe ripening.

Acknowledgements

Many thanks for Dr. Abeer Bawab, Dr. Ayed Al-Abdallat, Shireen Qasraawi, Samer Musbah from Hamdi Mango Center for Scientific Research/ University of Jordan) for their helpful suggestions and recommendations.

REFERENCES

- Alagna F.; D'Agostino N.; Torchia L.; Servilli M.; Rao R.; Pietrella M.; Giuliano G.; Chiusano M.L.; Baldoni L. and Perrotta G. (2009). Comparative 454 Pyrosequencing of transcripts from two olive genotypes during fruit development. BMC Genomic. 10:399-403.
- Hatzopoulos P.; Banilas G.; Giannoulia K.; Gazis F.; Nikoloudakis N. and Haralampidis K. (2002). Breeding molecular markers and molecular biology of the Olive tree. Euro. J. Lip. Sci. Technol. 104 : 547-586.
- Rugini E.; Biasi R. and Muleo R. (2000). Oliv. (*Olea europaea* L.) var. sativa) transformation in : Moahn, JS, Minocha Sc, eds. Molecular biology of woody plants. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers : 245-279.
- Mannina L.; Fortanazza G.; Patumi M.; Ansanelli G. and Segre A. (2001). Italian and Argentine olive oils : A NMR and gas chromatographic study. Grasas Y Aceites, 52 : 380-388.
- D'Angeli S.; Malho` R. and Altamura MM. (2003). Low-temperature sensing in olive tree: calcium signalling and cold acclimation. Plant Sci. 165: 1303-1313.
- Ohlrogge J. and Browse J. (1995). Lipid biosynthesis. Plant Cell. 7: 957-970.
- Weber H. (2002). Fatty acid – derived signals in plants. Trends Plant Sci. 7 : 217-224.
- Marquez-Ruiz G.; Garcés R.; Leon-Camacho M. and Mancha M (1999). Thermoxidativ stability of triacylglycerols from mutant sunflower seeds. J.Am.Oil Chem.Soc.76:1169-1174.
- Cunnane S. (2003). Problems with essential fatty acids :time for a new paradigm? Prog. Lipid Res.42: 544-568.
- Bao X. and Ohlrogge J. (1999). Supply of fatty acid is one limiting factor in the accumulation of triacylglycerol in developing embryos. Plant Physiol. 120: 1057-1062.
- Jako C.; Kumar A.; Wei YD.; Zou JT.; Barton DL.; Giblin EM.; Covello PS. and Taylor DC. (2001). Seed-specific over-expression of an Arabidopsis cDNA encoding a diacylglycerol acyltransferase enhances seed oil content and seed weight. Plant Physiol. 126: 861-874.
- Weslake RJ. (2005). Storage lipids in : Murphy, D.J. ed. Plant Lipids : biology , Utilization , and manipulation. Oxford : Blackwell Publishing : 162-225.
- Lung SC. and Weslake RJ. (2006). Diacylglycerol acyltransferase: a key mediator of plant triacylglycerol synthesis. Lipids. 41:1073-1088.
- Doveri S. and Baldoni L. (2007). Genome mapping and molecular breeding in plants. Volume 4 : Olive fruits and Nuts: 253-264. Springer – Verlag, Berlin Heidelberg.
- Banilas G. and Hatzopoulos P. (2009). Developmental perplexity of oil biosynthesis gene expression in olive. In: Berti, L. Maury, J. eds. Advances in olive resources. Kerala, India: Transworld Research Network, 1-22.
- Shockey JM.; Gidda SK.; Chapital DC.; Kuan JC.; Dhanoa PK.; Bland JM.; Rothstein SJ.; Mullen RT. and Dyer JM. (2006). Tung (*Vernicia fordii*) DGAT1 and DGAT2 possess different affinities for eleostearic acid-containing substrates and are localized to different subdomains of the endoplasmic reticulum. The Plant Cell 18: 2294-2313.
- Kennedy EP. (1961). Biosynthesis of complex lipids. Federation Proceedings 20: 934-940.
- Browse J. and Somerville C. (1991). Glycerolipid synthesis: biochemistry and regulation. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42: 467-506.
- Ichihara K.; Takahashi T. and Fujii S. (1988). Diacylglycerol acyltransferase in maturing safflower seeds: its influences on the fatty acid composition of triacylglycerol and on the rate of triacylglycerol synthesis. Biochimica et Biophysica Acta 958: 125-129
- Dahlqvist A.; Stahl U.; Lenman M.; Banas A.; Lee M.; Sandager L.; Ronne H. and Stymne S. (2000). Phospholipid: diacylglycerol acyltransferase: an enzyme that catalyses the acyl-CoA-independent formation of triacylglycerol in yeast and plants. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 97: 6487-6492.
- Stahl U.; Carlsson AS.; Lenman M.; Dahlqvist A.; Huang B.; Banas W.; Banas A. and Stymne S. (2004). Cloning and functional characterization of a phospholipid:diacylglycerol acyltransferase from Arabidopsis. Plant Physiol. 135:1324-1335.
- Zhang M.; Fan J. Taylor DC. and Ohlrogge JB. (2009). DGAT1 and PDAT1 acyltransferases have overlapping functions in Arabidopsis triacylglycerol biosynthesis and are essential for normal pollen and seed development. Plant Cell. 21: 3885-3901.
- Zou J.; Wei Y.; Jako C.; Kumar A.; Selvaraj G. and Taylor DC. (1999). The *Arabidopsis thaliana* TAG1 mutant has a mutation in a diacylglycerol acyltransferase gene. Plant J. 19: 645-653.
- Kaup MT. Froese CD. and Thompson JE. (2002). A role for diacylglycerol acyltransferase during leaf senescence. Plant Physiol. 129: 1616-1626.
- Zhang FY.; Yang MF. and Xu YN. (2005). Silencing of tobacco causes a reduction in seed oil content. Plant Sci. 169: 689-694.
- Lu C. and Hills MJ. (2002). Arabidopsis mutants deficient in diacylglycerol acyltransferase display increased sensitivity to abscisic acid, sugars, and osmotic stress during germination and seedling development. Plant Physiol. 129:1352-1358.
- Lu CL.; de Noyer SB.; Hobbs DH.; Kang J.; Wei Y.; Krachtus D. and Hills MJ. (2003). Expression pattern of diacylglycerol acyltransferase-1, an enzyme involved in triacylglycerol biosynthesis, in Arabidopsis thaliana. Plant Molec. Biol. 52: 31-41.

28. Giannoulia K.; Haralampidis K.; Poghosyan Z.; Murphy DJ. and Hatzopoulos P. (2000). Differential expression of diacylglycerolacyltransferase (DGAT) genes in olive tissues. *Biochem. Soci. Transact.* 28: 695–697.
29. Lardizabal KD.; Mai JT.; Wagner NW.; Wyrick A.; Voelker T. and Hawkins DJ. (2001). DGAT2 is a new diacylglycerolacyltransferase gene family: purification, cloning, and expression in insect cells of two polypeptides from *Mortierellaramanniana* with diacylglycerolacyltransferase activity. *J. Biol. Chem.* 276: 38862–38869.
30. Cases S.; Stone SJ.; Zhou P.; Yen E.; Tow B.; Lardizabal KD.; Voelker T. and Farese Jr RV. (2001). Cloning of DGAT2 a second mammalian diacylglycerolacyltransferase, and related family members. *J. Biol. Chem.* 276: 38870–38876.
31. Kroon JT.; Wei W.; Simon WJ. And Slabas AR. (2006). Identification and functional expression of a type 2 acyl-CoA:diacylglycerolacyltransferase (DGAT2) in developing castor bean seeds which has high homology to the major triglyceride biosynthetic enzyme of fungi and animals. *Phytochem.* 67: 2541–2549.
32. Saha S.; Enugutti B.; Rajakumari S. and Rajasekharan R. (2006). Cytosolic triacylglycerol biosynthetic pathway in oilseeds: molecular cloning and expression of peanut cytosolic diacylglycerolacyltransferase. *Plant Physiol.* 141:1533–1543.
33. Perry HJ.; Bligny R.; Gout E. and Harwood JL. (1999). Changes in Kennedy pathway intermediates associated with increased triacylglycerol synthesis in oil-seed rape. *Phytochem.* 52:799–804.
34. Weselake RJ.; Shah S. and Tang M. (2008). Metabolic control analysis is helpful for informed genetic manipulation of oilseed rape (*Brassica napus*) to increase seed oil content. *J. Exper. Bot.* 59:3543–3549.
35. Katavic V.; Haughn GW.; Reed D.; Martin M. and Kunst L. (1994). *In planta* transformation of *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* 245: 363–370.
36. Hsieh K. and Huang AHC. (2004). Endoplasmic reticulum, oleosins, and oils in seeds and tapetum cells. *Plant Physiol.* 136:3427–3434.
37. Murphy DJ. (2001). The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants, and microorganisms. *Progress Lipid Res.* 40: 325–438.
38. Giannoulia K.; Banilas G. and Hatzopoulos P. (2007). Oleosin gene expression in olive. *J. Plant Physiol.* 164: 104–107.
39. Sanchez J. (1994). Lipid photosynthesis in olive fruit. *Progress Lipid Res.* 33: 97–104.
40. Banilas G.; Karampelias M.; Makariti I.; Kourti A. and Hatzopoulos P. (2011). The olive DGAT2 gene is developmentally regulated and shares overlapping but distinct expression patterns with DGAT1. *J. Expe. Bot.* 62 (2): 521–532.
41. Tzen JTC.; Cao YZ.; Laurent P.; Ratnayake C. and Huang AHC. (1993). Lipids, proteins, and structure of seed oil bodies from diverse species. *Plant Physiol.* 101:267–276.
42. Weselake RJ.; Pomeroy MK.; Furukawa TL.; Golden JL.; Little DB. And Laroche A. (1993). Developmental profile of diacylglycerolacyltransferase in maturing seeds of oilseed rape and safflower and microspore-derived cultures of oilseed rape. *Plant Physiol.* 102:565–571.
43. Yu K.; McCracken CTJ.; Li R. and Hildebrand DF. (2006). Diacylglycerolacyltransferases from *Vernonia* and *Stokesia* prefer substrates with vernolic acid. *Lipids* 41: 557–566.
44. Bursal J.; Shockey J.; Lu C.; Dyer J.; Larson T.; Graham I. and Browne J. (2008). Metabolic engineering of hydroxy fatty acid production in plants: RcDGAT2 drives dramatic increases in ricinoleate levels in seed oil. *Plant Biotechnol.* 6:819–831.
45. Li R.; Yu K. and Hildebrand DF. (2010). DGAT1, DGAT2, and PDAT expression in seeds and other tissues of epoxy and hydroxy fatty acid accumulating plants. *Lipids* 45: 145–157.
46. Connor DJ. and Fereres E. (2005). The physiology of adaptation and yield expression in olive. *Hort. Rev.* 31: 155–229.
47. Huang CY.; Chung CI.; Lin YC.; Hsing YI. and Huang AH. (2009). Oil bodies and oleosins in *Physcomitrella* possess characteristics representative of early trends in evolution. *Plant Physiol.* 150: 1192–1203.

Genotyping based on *aflr1* gene sequencing in local Iraqi isolates of phylopathogenic-aflatoxigenic *Aspergillus flavus*

Batool I. Dheeb (1), Nemat J. Al- Judy (2), Zeina S.M. Al-Hadeithi (3), Safa M. Abdulateef (4), Farooq I. Mohammad (3) and Ghofran M. Hasan (2)

(1) Iraqia University (2) Dept. of Biology / College of Sciences / University of Baghdad (3) Biotechnology Research Centre / Al- Nahrain University (4) Dijla University College/ Republic of Iraq

ABSTRACT

The current study was conducted to examine the ability of 11 isolates of *Aspergillus flavus* to produce aflatoxin B1 using molecular method, the regulatory gene AFLAR1 gene. All the examined isolates were successfully amplified and sequenced.

These PCR results suggested that the aflR gene is present in the studied isolates. The sequenced aflR1 genes from the 11 positive strains had greater than 99.7% similarity, based on sequencing and Cluster analysis, which was particularly conserved in the zinc-finger DNA-binding domain.

In this study, rapid assessment of 11 isolates of *A. flavus* were accomplished using an indigenously designed primer pair for the Aflatoxin B1 regulatory gene *aflR1* in polymerase chain reaction (PCR).

Key words: Aflatoxin B1, *Aspergillus flavus*, Sequencing, AFLAR1

الملخص باللغة العربية

هدفت الدراسة الحالية إلى اختبار قدرة 11 عزلة من فطريات الرشاشيات الخضراء على إنتاج السم الفطري الأفلاتوكسين B1 بتطبيق الطريقة الجزيئية والتنظيمية للجين *aflr1* المسؤول عن إنتاج السم الفطري ، حيث تم تضخيم الجين ومضاعفته في 11 من العزلات باستخدام تقنية PCR، تلتها خطوة معرفة تسلسل الجين في كل عينة من العينات المدروسة ، وقد أشارت النتائج إلى وجود نسبة تشابه كبيرة بين العينات المدروسة كما تطابقت النتائج مع قاعدة البيانات حول الجين في NCBI وبلغت نسبة التشابه 99.7% ، وتعد هذه نسبة كبيرة رغم أن العزلات المدروسة هي عزلات مدروسة محليا ، وقد بين اختبار تحليل النتائج الشجري وجود اختلافات وتجمع بين العزلات في مجاميع مختلفة ، ويعود هذا الاختلاف إلى إصبع الزنك والحمض النووي ملزم المجال.

تم في هذه الدراسة إنجاز التقييم السريع للعزلات المدروسة من فطر الرشاشيات الخضراء باستخدام الزوج التمهيدي المصمم محليا لأفلاتوكسين AFLAR1 الجينات التنظيمية في تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR).

INTRODUCTION

Aspergillus flavus mainly infect maize, cotton, peanuts, tree nuts (1), figs (2) and spices (3,4). The contamination of foods by aflatoxigenic fungi, especially in tropical countries may occur during preharvesting, processing, transportation and storage (1).

The toxic effects of aflatoxins have adverse consequences for human health and agricultural economics. The *aflR* gene, a regulatory gene for aflatoxin biosynthesis, encodes a protein containing a zinc-finger DNA-binding motif (5). Although *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sojae*, which are used in fermented foods and in ingredient manufacture, have no record of producing aflatoxin, they have been shown to possess an *aflR* gene (6).

Aflatoxin contamination of agricultural commodities, such as maize, peanuts and cottonseed, is a serious risk to human and animal health, and has a significant economic impact. Over 30 years of investigations into the aflatoxin, biosynthetic pathway had identified more than 20 enzymes involved. Most of the aflatoxin-related genes are clustered within a 75 kb region of the genome (2,7,8). The *aflR* gene, which regulates these clustered genes had been identified in *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. sojae* and *A. oryzae*. The predicted AFLR protein contains a GAL4-type zinc-finger motif that transcriptionally activates most of the structural pathway genes, such as *ver-1* and *nor-1* (7-9).

The *aflR* gene is the principal regulator of the aflatoxin production pathway (8,10). Previous researches had demonstrated that the AFLR protein can bind the promoter region of each aflatoxin synthesis gene and activate gene expression. In addition, the *aflR* gene has an autoregulation function (10). The absence of the *aflR* gene or the presence of an abnormal *aflR* gene would be a strong indicator that a strain cannot produce aflatoxin.

The aim of this study was to investigate the presence of the aflatoxin B1 regulatory gene and study the similarity and polymorphism between the studied isolates based on *aflR1* gene sequencing for the first time in Iraq.

MATERIALS AND METHODS

Fungal strains and culture conditions:

The eleven samples used in this investigation were isolated from locally stored *Zea mays*. Maize was randomly collected from silo (grainers), twenty eight grains from each cereal sample were surface-sterilized by immersion in 2% sodium hypochlorite solution and washed three times with sterilized distilled water. The grains were dried with sterilized filter paper in a laminar flow hood and placed on potato-dextrose agar medium to isolate *Aspergillus flavus* as the most pollutant of crops and grains.

All fungal isolates were cultivated at 28±1°C on potato dextrose agar (PDA), stored at 4°C and given identity numbers (AFL1, AFL2, AFL3, AFL4, AFL5, AFL6, AFL7, AFL8, AFL9, AFL10, AFL11) for using it in molecular study (11).

Preparation of fungal genomic DNA:

DNA was extracted from 0.5 g (wet weight), fungal mycelia / spores harvested from 3 days growing cultures in potato dextrose broth (PDB). The mycelium/ spores were transferred to a mortar, frozen in liquid nitrogen and were ground well. Steps of extraction had been completed using EZ-10 Spin Column Fungal Genomic DNA Mini-preps Kit, BIO BASIC INC., Markham Ontario, Canada.

PCR amplification of *AFLR1* gene fragments:

PCR primers were designed using primer 3 software and were purchased from CinnaGen, Germany, CinnaGen 5X PCR Master Mix, ready to Load (Green) had been used in this work.

The polymerase chain reaction was used to amplify the Aflatoxin regulatory gene fragments of aflatoxigenic fungal genomic DNA. The sequence of the forward and reverse primers *AFLAR1* of the Aflatoxin regulatory gene was (5'-AACCGCATCCACAATCTCAT 3') and (5'-AGTGCAGTTCGCTCAGAACA 3'). The primers that cover the region from 540 to 1338 of Aflatoxin regulatory gene with product size of 798 base pairs (bp) have been patented (12).

The polymerase chain reaction was performed in 25 µl; each reaction mixture was heated to 95°C for 10 min. A total of 30 PCR cycles, each cycle at 0.3 min at 94°C for denaturation, 0.45 min at 55°C for annealing, 1.15 min at 72°C for extension and a 10 min final extension at 72°C. The PCR products were analyzed by electrophoresis on a 1.5% agarose gel in (1x) TBE buffer (50 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA, pH 8.0) stained in 0.5 mg/ml ethidium bromide.

DNA sequencing and analysis:

The PCR products were purified with a High Pure PCR Product Purification kit (Boehringer Mannheim). Sequence reactions of *AFLAR1* gene were done by First Base Company /Malaysia for sequencing of products through using individual sense and antisense primer, were used in each sequencing reactions. Homology researches were conducted between the sequence of standard gene BLAST program which is available at the national center biotechnology information (NCBI) online at (<http://ncbi.nlm.nih.gov>) and using Bio Edit program. Sequence ambiguities were identified by comparison with their opposite strand sequences. Sequences of the fragment (R1) were assembled to yield the entire *AFLAR1* gene sequence; the *AFLAR1* sequences of each strain were aligned using CLUSTAL X 1.83 (12). The alignment of all sequences was visually assessed and optimized when necessary. Phylogenetic evaluation was accomplished by applying neighbor-joining program from the PHYLIP 3.63 package (13). Phylogenetic trees were rooted with *Aspergillus flavus*. Finally, a bootstrap analysis with 1000 replications was performed. Trees were viewed using Tree View (14).

Statistical analysis:

Statistical analysis showed no significant difference in the sequencing of forward and reversed *AFLAR1* gene $p \geq 0.001$.

RESULTS

Amplification of *AFLAR1* gene:

The DNA extracts was subjected to PCR analysis to confirm the possible presence of aflatoxigenic gene. As expected, DNA from all aflatoxigenic *Aspergilli* produced clean bands upon amplification with *AFLAR1* set of specific primers. The gene responsible for the synthesis of aflatoxin was found in all studied *A.flavus* isolates.

Sequencing of *AFLAR1* Gene:

Sequencing of coding regions of amplified product for all samples included in our local study into *A.flavus* were done to detection the similarity, difference and presence of any mutation within these sequences related to regulatory gene of aflatoxin B1 were assembled to yield the entire aflR gene sequence the aflR sequences of each strain were aligned using CLUSTAL X 1.83 (13).

Alignment of *AFLAR1* Gene of all samples with data published for known sequence seeking for enough homology. Ahomology with *AFLAR1* Gene of *Aspegillusflavus* from Gene Bank was done using the BioEdit software. Compatibility 100% of the forward gene was found with *AFLAR1* (flank DNA sense and antisense of the gene) with standard *AFLAR1* of Gene Bank results as shown in figure (1).

Moreover, we also found that reversed *AFLAR1* gene (flank DNA sense and antisense of the gene) match entirely with standard *AFLAR1* of Gene Bank results as shown in figure (1).

In addition, result of sequencing analysis did not detect any mutations in exon of regulatory gene *AFLAR1* for 11 *A.flavus* isolates.

Cluster analysis:

Dendrogram was constructed based on Nei and Li's (15) genetic distance using UPGMA cluster analysis and depicted genetic relationships among 11 *A. flavus* isolates based on *AFLAR1* gene sequencing, showing three major clusters I, II, III (Figure 1). As expected all introduced isolates: the isolate numbers "6,1,4,3,5,11,7" were grouped into a cluster, including three sub clusters, and other isolate with numbers "2,11,9". The third major clusters including the isolate number "8" only. These three main groups finally link together as shown in figure (1).

Cluster analysis has placed most of the *Aspegillusflavus* isolates isolated from maize grain together, showing a high level of genetic relatedness and some were distinct from those isolates (table 1).

The dendrogram indicates a clear pattern of division among the *Aspegillusflavus* based on *AFLAR1* gene sequences. Therefore, cluster analysis grouped the 11 isolates into three main clusters which correlated with their origin. The cluster analysis was done based on similarity and relationship between the genomic isolates as shown in appendix (1).

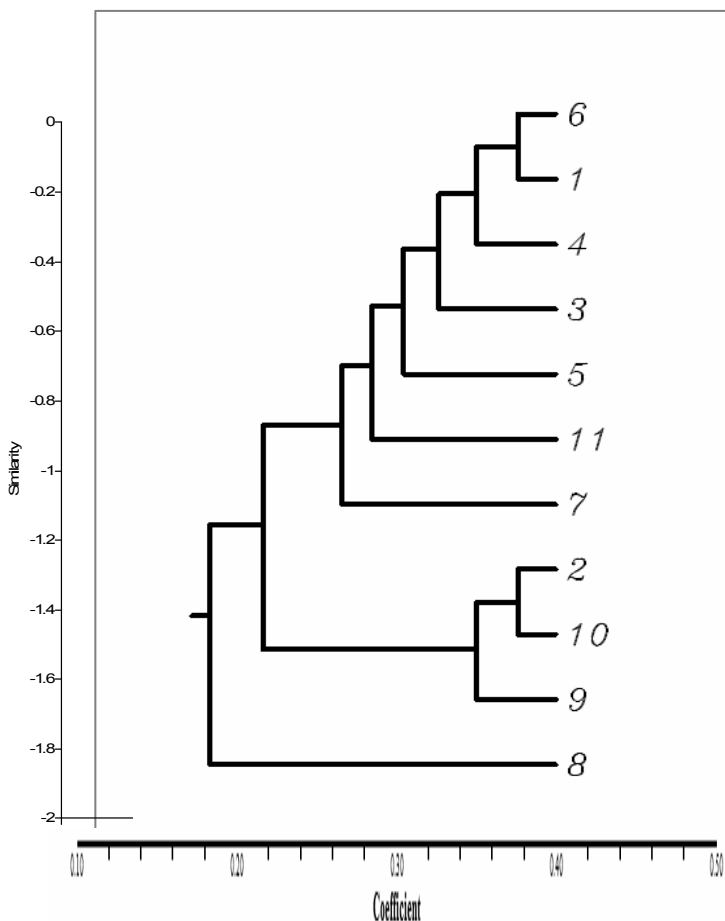


Figure (1): Neighbor-joining trees of *AFLAR1* gene sequences for *Aspergillusflavus* isolates (AFL1, AFL2, AFL3, AFL4, AFL5, AFL6, AFL7, AFL8, AFL9, AFL10, AFL11) based on *AFLAR1* gene sequences

Table (1): Similarity, difference and relationships matrix for Jaccard's coefficients for 11 *A. flavus* isolates developed from *AFLAR1* gene sequencing

Seq	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0	575	574	594	594	518	575	572	575	558	575
2	575	0	544	538	538	566	545	548	1	536	545
3	574	544	0	550	550	517	1	11	545	499	1
4	594	538	550	0	0	533	549	561	539	566	549
5	594	538	550	0	0	533	549	561	539	566	549
6	518	566	517	533	533	0	516	528	567	549	516
7	575	545	1	549	549	516	0	12	546	499	0
8	572	548	11	561	561	528	12	0	547	502	12
9	575	1	545	539	539	567	546	547	0	537	546
10	558	536	499	566	566	549	499	502	537	0	499
11	575	545	1	549	549	516	0	12	546	499	0

DISCUSSION

It was able to detect Aflatoxin producing strains of *A. flavus* contaminated Crops by performing a nonnumeric PCR, and by multiplex PCR after spiking and incubating the peanuts after 7 days (16). It is reported that genes involved in the Aflatoxin biosynthetic pathway may form the basis for an accurate, sensitive, and specific detection system, using PCR, for aflatoxigenic strains in grains and foods (17). In this study, using primer designed to Aflatoxin regulatory pathway gene, *aflR*, the presence of aflatoxigenic fungi was easily detected compared to conventional plating techniques.

Variation of DNA sequence can be detected by PCR – based methods in order to discriminate between Aflatoxin producer strains and non – producers by using detailed comparison of PCR products of *aflR* gene fragment (Genbank accession number *A. flavus* (AY197608) (18).

PCR in the present study did not show any false priming results due to the presence of food components or any other contamination.

This technique is able to screen many, suspected samples in a time, resource saving manner in fine and expensive products of foods with highest possible accuracy (11).

Previous researches demonstrated that the AflR protein can bind the promoter region of aflatoxin synthesis gene and activate *aflR* gene expression (11,13). The sequence variability of a region of the *aflR1* gene has been studied in an eleven strains of *A. flavus*, our present study have not achieved a high degree of differentiation for *Aspergillus flavus* isolates this result because all the studied isolates defiantly have the section Flavi (9, 11,14).

The analysis used in the present study had been clearly distinguished among studied *A. flavus* isolates.

CONCLUSION

In conclusion, by using amplification and sequencing of the AFLAR1 gene, we have demonstrated that the AFLAR1 gene can be amplified from some strains of contaminated *A. flavus*, therefore it is likely to be missing or highly abnormal. In the strains it is necessary to study the gene expression and use it in control of Aflatoxin B1 since it showed difference based on gene expression.

REFERENCES

1. Pane B.; Ouattara-Sourabie U.; Philippe AN.; Nicolas B. and Alfred S T. (2012). Aflatoxigenic potential of *Aspergillus* spp. isolated from groundnut seeds, in Burkina Faso, West Africa. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6(11):2603-2609.
2. Yu J.; Chang PH.; Cary JW.; Wright M.; Bhatnagar D.; Cleveland TE. *et al.* (1995). Comparative mapping of Aflatoxin pathway gene clusters in *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(6):2365-2371.

3. Llewellyn GC.; Mooney RI.; Chearle TF. and Flannigan B. (1992). Mycotoxin contamination of spices, an update. *Biotechnol. Bioeng.* 29:111-121.
4. Doster MA.; Michailides TJ. And Morgan DP. (1996). *Aspergillus* species and mycotoxins in figs from California orchards. *Plant Dis.* 80:484-489.
5. Cary JW.; Dyer JM.; Ehrlich KC.; Wright MS.; Liang SH. and Linz JE. (2002). Molecular and functional characterization of a second copy of the aflatoxin regulatory gene, *aflR-2*, from *Aspergillus parasiticus*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1576: 316-323.
6. Matsushima K.; Chang PK.; Yu J.; Abe K.; Bhatnagar D. and Cleveland TE. (2001). Pre-termination in *aflR* of *Aspergillus sojae* inhibits aflatoxin biosynthesis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55:585-589.
7. Trail F.; Chang PK.; Cary J. and Linz J. E. (1994). Structural and functional analysis of the *nor-1* gene involved in the biosynthesis of aflatoxins by *Aspergillus parasiticus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 4078-4085.
8. Woloshuk CP.; Foutz KR.; Brewer JF.; Bhatnagar D.; Cleveland TE. and Payne GA. (1994). Molecular characterization of *aflR*, a regulatory locus for aflatoxin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(7):2408-2414.
9. Ehrlich KC.; Cary JW. and Montalbano BG. (1999). Characterization of the promoter for the gene encoding the aflatoxin biosynthetic pathway regulatory protein AFLR. *Biochem. Biophys. Acta.* 1444:412-417.
10. Chang PK.; Cary JW.; Bhatnagar D.; Cleveland TE.; Bevvett JE.; Line J E.; Woloshuk CP. and Payne GA. (1993). Cloning of the *Aspergillus parasiticus* *apa-2* gene associated with the regulation of aflatoxin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:3273-3279.
11. Hashim AJ. ; Al-Kazaz A. and Abdulmalek HW. (2013). PCR detection of *Aspergillus flavus* Isolates for Aflatoxin B1 producer. *J. Biotechnol. Res. Cen.* 7(3):81-89.
12. Farber P.; Geisen R. and Holzapfe WH. (1997). Detection of aflatoxigenic fungi in figs by a PCR reaction. *Int. J. Food. Microbiol.* 36:215-220.
13. Thompson JD.; Gibson TJ.; Plewniak F.; Jeanmougin F. and Higgins DG. (1997). The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* 25:4876-4882.
14. Felsenstein J. (2004). PHYLIP – Phylogenetic Inference Package, version 3.6. Distributed by the author. Seattle, USA: University of Washington.
15. Nei M. and Li W. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Nat. Acad. Sci.(USA)* 76(10): 5269-5273.
16. Chen RS.; Tsau J G.; Huang YF.; and Chiou RYY. (2002). Polymerase Chain Reaction mediated characterization of molds belonging to the *A. flavus* group and detection of *A. parasiticus* in peanut kernels by multiplex polymerase chain reaction. *J. food Prot.* 65:840-844.
17. Shapira R.; Pasti NR.; Fyai O.; Minastherov M.; Mett A. and Salomon R. (1996). Detection of aflatoxigenic moulds in grains by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:3270-3273.
18. Noorbacash R.; Ahmed RB.; Mortazavi SA.; Forghani B. and Bahreini N. (2009). PCR – based identification of Afltoxicogenic fungi associated with Iranian Saffron. *Food Sci. biotechnol.* 18:1038-1040

Appendix (1): Sequencing of sense and antisense flanking the AFLAR1 gene for *Aspergillus flavus* isolates(AFL1, AFL2, AFL3, AFL4, AFL5, AFL6, AFL7, AFL8, AFL9, AFL10, AFL11)

Score= 725 bits (344), Expect= 0.0 , identities = 344/344 (100%), Gaps= 0/344 (0%) Strand= plus/Minus

1	GGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGAGTCCGC CGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATCTGGCTG GTCAGGAGCAAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGTCGATTCCG AATTCGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAAACCATG TCGATTTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGACGCGTT TTTGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTTCTCTCGAGTC GGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCTTTTCG CTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGCCCCG TGGGCTGTCAACTACGGTGACGGACGGTGAGGACAGTTCGT GCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGAACAAGA GGGTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTCGTGCG CGCAGGATGGCTACTTCTGAGCATGGTCGTCCTTATCTGTTCT CAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGCAGGCACCCAGTG TACCTCAACGGCGCGGGTGGAGAAACCAACAGTGGCAGCTG TAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTGACGGA AGAGCGCGTGTGACCTCCCTAGTATGATGGCGGAGATTG TGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTGGCGG	2	CCCAATGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAG AGTCCGCCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGA TCTGGCTGGTCAGGAGCAAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGT CGATTCCGAATTCGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGG AAACCATGCCGATTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTT CGACGCGTTTTCGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTT CCTCGAGTCGGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTG CTGCTTTTCGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCC CACGCCCCGCTGGGCTGTCAACTACGGTGACGGACGGTGAG GACAGTTCGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCG GGGAACAAGAGGGGTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGG GTGTTCTGTCGCGCAGGATGGCTATGCTGAGCATGGTCTGT CCTTATCGTTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGC AGGCACCCAGTGTACCTCAACGGCGCGCGGTGGAGAAACCA ACAGTGGCAGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTG ACAGTGTGACGGAAGAGCGCTGCTGACCTCCCTAGTATGA TGGGCGAGGATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTG GCGGCACAGCTTGT
3	AACTTAAACCCACACGCTCTGCCACCCCAATGGTAGCAGT AGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGAGTCCGCCGCCACCCG TGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATCTGGCTGGTCAGGAGC AAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGTCGATTCCGGAATTCGGGG GCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAAACCATGTGCAATTCTT GGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGACGCGTTTTCGGAAGT AGGGACCCCATGATGACCCGTTCTCTGAGTCGAGCCCCACT ACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCTTTTCGCTAGCACTA CAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGCCCCGCTGGGCTGTC AACTACGGGTGACGGACGGTGAGGACAGTTCGTGCAACCTGA TGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGAACAAGAGGGCTACCG ATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTCGTGCGCGCAGGATG GCTACTTGTGAGCATGGTCGTCCTTATCGTTCTCAAGGTGCT GGCATGGTATGCTGCGGCAGCAGGCACCCAGTGTACCTCAAC GGCGCGGGTGGAGAAACCAACAGTGGCAGCTGTAGCAACA GTCCCGCCACCGTGTCTGAGTGTCTGACGGAAGAGCGCG TGCTGCACCTCCCTAGTATGATGGGCGAGGATTGTGTGGATG AGGAAGACCAGCCGCGAGTGGCGGCACAGCTTGTGTA	4	TGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGAGTCCG CCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATCTGGCT GGTCAGGAGCAAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGTCGATTTCG GAATTCGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAAACCAT GTCGATTTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGACGCG TTTTTGGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTTCTCTCGAG TCGGCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCTTTT CGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGCC CGCTGGGCTGTCAACTACGGGTGACGGACGGTGAGGACAGTT CGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGAACA AGAGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTCGT GCGCGCAGGATGGCTACTTGTGAGCATGGTCGTCCTTATCG TTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGCAGGCACCC AGTGTACCTCAACGGCGCGCGGTGGAGAAACCAACAGTGGC AGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTG ACGGAAGAGCGCGTGTGCACTCCCTAGTATGATGGGCGA GGATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTGGCG
5	CCCAATGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGA GTCCGCCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATC TGGCTGGTCAGGAGCAAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGTCG ATTCCGAATTCGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAA ACCATGTGCAATTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGA CGCGTTTTCGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTTCTC GAGTCGGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCT TTTCGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGC CCCGCTGGGCTGTCAACTACGGGTGACGGACGGTGAGGACAG TTCGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGA CAAGAGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTC GTGCGCGCAGGATGGCTACTTGTGAGCATGGTCGTCCTTATC GTTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGCAGGCACC CAGTGTACCTCAACGGCGCGGGTGGAGAAACCAACAGTGGC AGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTG ACGGAAGAGCGCGTGTGCACTCCCTAGTATGATGGGCGAG GATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTGGCGG	6	TGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGAGTCCG CCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATCTGGCT GGTCAGGAGCAAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGTCGATTTCG GAATTCGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAAACCAT GTCGATTTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGACGCG TTTTTGGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTTCTCTCGAG TCGGCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCTTTT CGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGCC CGCTGGGCTGTCAACTACGGGTGACGGACGGTGAGGACAGTT CGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGAACA AGAGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTCGT GCGCGCAGGATGGCTACTTGTGAGCATGGTCGTCCTTATCG TTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGCAGGCACCC AGTGTACCTCAACGGCGCGGGTGGAGAAACCAACAGTGGC AGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTG ACGGAAGAGCGCGTGTGCACTCCCTAGTATGATGGGCGA GGATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTGGCG
7	CCCAATGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGA GTCCGCCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATC TGGCTGGTCAGGAGCAAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGTCG ATTCCGAATTCGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAA ACCATGTGCAATTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGA CGCGTTTTCGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTTCTC GAGTCGGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCT TTCGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGC CCCGCTGGGCTGTCAACTACGGGTGACGGACGGTGAGGACAG TTCGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGA CAAGAGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTC GTGCGCGCAGGATGGCTACTTGTGAGCATGGTCGTCCTTATC GTTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGCAGGCACC CAGTGTACCTCAACGGCGCGGGTGGAGAAACCAACAGTGGC AGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTG ACGGAAGAGCGCGTGTGCACTCCCTAGTATGATGGGCGAG GATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTGGCGG	8	CCCAATGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAG AGTCCGCCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGA TCTGGCTGGTCAGGAGCAAAGCACCTGTCTTCCCTAACAGT CGATTCCGAATTCGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGG AAACCATGTGCAATTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTT CGACGCGTTTTCGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTT CCTCGAGTCGGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTG CTGCTTTTCGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCC CACGCCCCGCTGGGCTGTCAACTACGGGTGACGGACGGTGAG GACAGTTCGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCG GGGAACAAGAGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGG GTGTTCTGTCGCGCAGGATGGCTACTTGTGAGCATGGTCGT CCTTATCGTTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGC AGGCACCCAGTGTACCTCAACGGCGCGGGTGGAGAAACCA ACAGTGGCAGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGT GCTGTCTGACGGAAGAGCGCGTGTGCACTCCCTAGTATGA TGGGCGAGGATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTG GCG

9	TGCCACCCCCAATGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGAGTCCGCCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATCTGGCTGGTCAGGAGCAAAGCACCCGTGTCTTCCCTAACAGTCGATTTCGGAATTCGGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAACCATGTCGATTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGACGCGTTTTTGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTTCTCGAGTCGGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCTTTTCGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTCCCCACGCCCCGCTGGGCTGTCAACTACGGGTGACGGACGGTGAGGACAGTTCGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGAACAAGAGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTCTGTGCGCGCAGGATGGCTACTTGCTGAGCATGGTCGTCTTATCGTTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCA GCAGGCACCCAGTGTACCTCAACGGCGGCGGGTGAGAGAAACC AACAGTGGCAGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTGACGGAAGAGCGCGTGTCTGCACCTCCCTAGTATGATGGGCGAGGATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTGG	10	CTGCCACCCCCAATGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGAGTCCGCCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATCTGGCTGGTCAGGAGCAAAGCACCCGTGTCTTCCCTAACAGTCGATTTCGGAATTCGGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAACCATGTCGATTCTTGGCCGAGTCGACGGGGA GTCTTTTCGACGCGTTTTTGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCCGTTCTCGAGTCGGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCTTTTCGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGCCCCGCTGGGCTGTCAACTACGGGTGACGGA CCGTGAGGACAGTTCGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCTCGGGGAACAAGAGGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGA TCCTCGGGTGTTCTGTGCGCGCAGGATGGCTACTTGCTGAGCA TGGTCGTCTTATCGTTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCGACAGGCACCCAGTGTACCTCAACGGCGGCGGGTGAGAG AAAACCAACAGTGGCAGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTGACGGAAGAGCGCGTGTCTGCACCTCCCTA GTATGATGGGCGAGGATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTG
11	TGCCACCCCCAATGGTAGCAGTAGCGTCTCCGCCATCTTTTCTCATCAGAGTCCGCCGCCACCCGTGGAGACCCAGGGCCTTGGAGGAGATCTGGCTGGTCAGGAGCAAAGCACCCGTGTCTTCCTAACAGTCGATTTCGGAATTCGGGGGGCTCTTTGCAGTCAATGGAACACGGAACCATGTCGATTCTTGGCCGAGTCGACGGGGAGTCTTTTCGACGCGTTTTTGGAAGTAGGGACCCCATGATCGACCCGTTCTCGAGTCGGCCCCACTACCACCGTTTCAGGCGCGCTATTGCTGCTTTTCGCTAGCACTACAAACACTGACCCACCTCTTCCCCACGCCCCGCTGGGCTGTCAACTACGGCTGACGGACGGTGAGGACAGTTCGTGCAACCTGATGACGACTGATATGGTCATCTCGGGGAACAAGAGGGGCTACCGATGCGGTCCGGAAGATCCTCGGGTGTTCTGTGCGCGCAGGATGGCTACTTGCTGAGCATGGTCTGCTTATCGTTCTCAAGGTGCTGGCATGGTATGCTGCGGCAGCAGGCACCCAGTGTACCTCAACGGCGGCGGGTGAGAGAAACCAACAGTGGCAGCTGTAGCAACAGTCCCGCCACCGTGTCCAGTGGCTGTCTGACGGAAGAGCGCGTGTCTGCACCTCCCTAGTATGATGGGCGAGGATTGTGTGGATGAGGAAGACCAGCCGCGAGTGGC		

Using cubic spline mathematical functions application in evaluating antioxidant and antimitotic activity of *Loranthus europaeus* and *Vitis vinifera* L medicinal plants

Hatem N. Mohaisen, Ghaidaa S. Challob, Sundus H. Ahmed and Ahlam N. Jasim

Ministry of Sciences and Technology / Baghdad/ Republic of Iraq

ABSTRACT

The approximation functions that have been used to estimate the complex curve fitting are transformed into slices of curve, and have properties easy to use and processes. The aim of current study was to build and design a graphical software for 2D shapes using these functions to represent the complex shapes. The main method used was cubic spline. In this study, both *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas* extracts were capable of preventing the formation of MDA. *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas* extracts reduced significantly root length in increasing extracts concentrations when compared with control group.

Key words: *Vitis Vinifera*, *Loranthus europeas*, cubic spline, antioxidant, antimitotic

الملخص باللغة العربية

المعادلات الرياضية التقريبية المستخدمة في تقريب المنحنيات المعقدة وتحويلها إلى منحنيات مجزأة لها خواص تمكن من سهولة معالجتها، والهدف من هذه الدراسة هو بناء وتصميم برمجيات رسومية للأشكال الثنائية الأبعاد باستخدام هذه الدوال لتمثيل الأشكال المعقدة. ومن الطرق الرئيسية التي تم استخدامها هي طريقة الشريحة الثلاثية. في هذه الدراسة، كانت مستخلصات العنب *Vitis Vinifera* وحب الديق *Loranthus europeas* تختزل معنويا طول الجذر بزيادة تراكيز المستخلصات بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

INTRODUCTION

In computation, people work with a finite number of digits and carry out finitely many steps. The methods of numerical analysis are finite processes and a numerical result is an approximate value of the unknown exact result, except for the rare cases, where the exact answer is a sufficiently simple rational number and we can use a numerical method that gives the exact answer(1).

Since the development of numerical analysis is strongly influenced and determined by the advent and use of the computer, which is now indispensable in the mathematical work of every engineer, this development includes the creation of new methods, modification of existing methods to make them more effective in automatic calculation. A theoretical and practical analysis of algorithms for the standard computational processes are used for pointing out those algorithms, which are satisfactory in various situations. Error analysis is part of the task for the numerical analyst and he must try to characterize and eliminate arithmetic traps of all kinds, which are ready for the unwary.

Method of cubic spline

Cubic Spline one of Curve Fitting methods It is often of interest to see if curve of a given type can be made to pass through certain given points. When it can be done, we want to know the equation of the curve. Of course, the given points do not uniquely determine the equation of the curves of different types might also go through the same points.

Oxygen-derived free radicals, mainly superoxide anion and hydroxyl radical, may cause damage to cellular molecules and present a severe threat to cellular integrity. The peroxidation of structurally important poly unsaturated fatty acids within the phospholipid structure of the cell membrane itself is an example of direct free radical-induced injury (1). The production of oxygen-derived free radicals has been associated with different pathological processes, such as ischemiarepeffusion syndrome, toxic effects of certain drugs and of molecular oxygen, atherosclerosis, cancer, etc. (2). In the case of cancer cells, the role of oxygenderived free radicals in the cause or the consequence of the neoplastic process is controversial (3,4). *Loranthus* is a genus of parasitic plants that grow on the branches of woody trees. It belongs to the family *Loranthaceae*, the showy mistletoe family (5). In most earlier systematic treatments it contains all mistletoe species with bisexual flowers, though some species have reversed to unisexual flowers, while most modern systematists treat it as a monotypic genus with the only species *Loranthus europaeus* Jacq. - the summer mistletoe or European yellow mistletoe. In contrast to the well known European or Christmas mistletoe (*Viscum album* L., *Santalaceae* or *Viscaceae*) this species is deciduous. The systematic situation of *Loranthus* is not entirely clear, and some showy mistletoes in Asia may be true parts of this genus. *L. ferrugineus* is traditionally used for the management of hypertension (6). Moreover, it has been found that particularly this species has blood pressure lowering properties in normotensive rats (7). In addition, enhancement of vascular endothelium derived nitric oxide function reflected by its cholinergic, prostaglandin agonistic activity (8). Research also has shown that the plant

possesses a sufficient antioxidant activity and a wide range of oxidative factors (9).

Vitis vinifera L. (Common Grape Vine) belongs to *Vitaceae* family. Its fruits have been used as a food and for wine or beverage production. Flavonoids present are comparatively larger amount in leaves than in berries and may be processed commercially (10).

The rich and varied chemical composition of *V. vinifera* leaves appears to contribute to their biological potential. Previous chemical investigations have shown the presence of several organic acids (malic, oxalic, fumaric, ascorbic, citric, tartaric acids) phenolic acids, flavonols, tannins, procyanidins, anthocyanins, lipids, enzymes, vitamins, carotenoids, terpenes, and reducing or non-reducing sugars. Most of the therapeutic properties of the plant are attributed to phenolic compounds that have received considerable attention due to their pharmacological effects namely antioxidant activity(11).

The objectives of the current study were:

1. To build and design a graphical software for 2D shapes using these functions to represent the complex shapes. The main methods that been used was Cubic Spline for computer graphics.
2. To evaluate the antioxidant activity in the water and ethanol extracts obtained from *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas in vitro* chemical assays.
3. To measure the total phenolic, flavonoid and contents in the water and ethanol extracts of *Vitis Vinifera* & *Loranthus europeas*.
4. To evaluation the anti cancer activity by using *Allium cepa* root.

MATERIALS AND METHODS

Algorithm for Natural Cubic Spline:

The development of a systematic procedure for determining the formula for a natural cubic spline is needed to give a table of interpolating values (12).

Since S'' is continuous, the numbers can be obtained from:

$$z_i \equiv S''(t_i) \quad 1 \leq i \leq n \quad \dots\dots(1)$$

And are unambiguously defined. yet , the values z_2, z_3, \dots, z_{n-1} is unknown.

If the z_i 's were unknown, we could construct S as

now described. On the interval $[t_i, t_{i+1}]$. S'' is a linear polynomial taking the values

$$z_i \text{ and } z_{i+1} \quad \dots\dots (2) \quad \text{at the endpoints.}$$

Thus :

$$S''_i(x) = \frac{z_{i+1}}{6h_i}(x - t_i) + \frac{z_i}{h}(t_{i+1} - x) \quad \dots\dots\dots(3)$$

With $h_i = t_{i+1} - t_i$. Clearly, $S''_i(t) = z_i$, $S''_i(t_{i+1}) = z_{i+1}$, and S''_i is linear in x .

If this is integrated twice, we obtain S_i itself:

$$S_i(x) = \frac{z_{i+1}}{6h_i}(x - t_i)^3 + \frac{z_i}{6h_i}(t_{i+1} - x)^3 + cx + d$$

Where c and d are constants of integration. By adjusting the integration constants, we obtain a form for S^i that is easier to work with namely,

$$S_i(x) = \frac{z_{i+1}}{6h_i}(x-t_i)^3 + \frac{z_i}{6h_i}(t_{i+1}-x)^3 + C(x-t_i) + D(t_{i+1}-x) \dots \dots \dots (4)$$

Where C and D are constants. If we differentiate equation (4) twice, we obtain equation (3).

The interpolation conditions $S_i(t_i) = y_i$ and $S_i(t_{i+1}) = y_{i+1}$ can be imposed now to be determine the appropriate values of C and D .

$$S_i(x) = \frac{z_{i+1}}{6h_i}(x-t_i)^3 + \frac{z_i}{6h_i}(t_{i+1}-x)^3 + \left(\frac{y_{i+1}}{h_i} - \frac{h_i}{6}z_{i+1}\right)(x-t_i) + \left(\frac{y_i}{h_i} - \frac{h_i}{6}z_i\right)(t_{i+1}-x) \dots \dots \dots (5)$$

When the values z_1, z_2, \dots, z_n have been determined, the spline function $S(x)$ is obtained from equation of this form $S_1(x), S_2(x), \dots, S_{n-1}(x)$. We have from equation (5):

$$S'(x) = \frac{z_{i+1}}{2h_i}(x-t_i)^2 - \frac{z_i}{2h_i}(t_{i+1}-x)^2 + \frac{y_{i+1}}{h_i} - \frac{h_i}{6}z_{i+1} - \frac{y_i}{h_i} + \frac{h_i}{6}z_i \dots \dots \dots (5.1)$$

This gives

$$S'_i(t_i) = -\frac{h_i}{6}z_{i+1} - \frac{h_i}{3}z_i + b_i \dots \dots \dots (6)$$

Where

$$b_i = \frac{1}{h_i}(y_{i+1} - y_i)$$

Analogously, we have

$$S'_{(i-1)}(t) = \frac{h_{i-1}}{6}z_{i-1} + \frac{h_{i-1}}{3}z_i + b_{i-1} \dots \dots \dots (6.1)$$

When these are set equal to each other, the resulting can be rearranged as

$$h_{i-1}z_{i-1} + 2(h_{i-1} + h_i) + h_i z_{i+1} = 6(b_i - b_{i-1})$$

For $2 \leq i \leq n-1$.

By letting

$$u_i = 2(h_{i-1} + h_i) \text{ and } v_i = 6(b_i - b_{i-1})$$

We obtain a tridiagonal system of equations:

$$\begin{cases} z_i & = 0 \\ h_{i-1}z_{i-1} + u_i z_i + h_i z_{i+1} & = v_i \quad 2 \leq i \leq n-1 \dots \dots \dots (7) \\ z_n & = 0 \end{cases}$$

to be solved for the z_i 's. The simplicity of the first and last equation is a result of the natural cubic spline conditions $S''(t_1) = S''(t_n) = 0$.

Algorithm for solving the natural cubic spline tridiagonal system directly

Given the interpolation points (t_i, y_i) for $i=1, 2, \dots, n$:
1. step 1: Compute for $i=1, 2, \dots, n-1$

$$\begin{cases} h_i = t_{i+1} - t_i \\ b_i = \frac{1}{h_i}(y_{i+1} - y_i) \end{cases}$$

2. step 2:

$$\begin{cases} u_2 = 2(h_1 + h_2) \\ v_2 = 6(b_2 - b_1) \end{cases}$$

And compute inductively for $i=3, 4, \dots, n-1$

$$\begin{cases} u_i = 2(h_i + h_{i-1}) - \frac{h_{i-1}^2}{u_{i-1}} \\ v_i = 6(b_i - b_{i-1}) - \frac{h_{i-1}v_{i-1}}{u_{i-1}} \end{cases}$$

3. step 3:

$$\begin{cases} z_n = 0 \\ z_1 = 0 \end{cases}$$

And compute inductively for $i=n-1, n-2, \dots, 2$

$$z_i = \frac{v_i - h_i z_{i+1}}{u_i}$$

This algorithm conceivably could fail because of division by 0 in step 2 and 3. Therefore, let us prove that $u_i \neq 0$ for all i . It is clear that $u_2 > h_2 > 0$.

that $u_i \neq 0$ for all i . It is clear that $u_2 > h_2 > 0$.

If $u_{i-1} > h_{i-1}$, then $u_i > h_i$ because:

$$u_i = 2(h_i - h_{i-1}) - h_{i-1} \frac{h_{i-1}}{u_{i-1}} > 2(h_i + h_{i-1}) - h_{i-1} > h_i$$

Then by induction, $u_i > 0$ for $i=2, 3, \dots, n-1$.

Equation (5) is not the best computational form for evaluating the cubic polynomial. We would prefer to have it in the form

$$S_i(x) = A_i + B_i(x-t_i) + C_i(x-t_i)^2 + D_i(x-t_i)^3 \dots \dots \dots (8)$$

Since nested multiplication can then be utilized.

Notice that equation (8) is the Taylor expansion of S_i about the point t_i . Hence

$$A_i = S_i(t_i), B_i = S_i'(t_i), C_i = \frac{1}{2}S_i''(t_i), D_i = \frac{1}{6}S_i'''(t_i)$$

Therefore, $A_i = y_i$ and $C_i = \frac{z_i}{2}$. The

coefficient of x^3 in equation (8) is D_i , While the

coefficient of x^3 in equation (5) is $\frac{(z_{i+1} - z_i)}{6h_i}$. Therefore

$$D_i = \frac{1}{6h_i}(z_{i+1} - z_i)$$

Finally, equation (6) provides the value of $S_i'(t_i)$. Which is

$$B_i = -\frac{h_i}{6}z_{i+1} - \frac{h_i}{3}z_i + \frac{1}{h_i}(y_{i+1} - y_i)$$

Thus the nested form of $S_i(x)$ is

$$S_i(x) = y_i + (x - t_i) \left(B_i + (x - t_i) \left(\frac{z_i}{2} + \frac{1}{6h_i}(x - t_i)(z_{i+1} - z_i) \right) \right) \dots \dots \dots (9)$$

Preparation of the water and ethanol extracts:

For water extract, 20 g of the dried sample of *Vitis Vinifera* & *Loranthus europeas* were extracted separately by refluxing for 1 h with 200 ml of distilled water according to the method described by (13). The obtained extracts were cooled and filtered over Whatman No. 1 paper. The residues were re-extracted and filtered by the same method as mentioned above. The filtrates were pooled and concentrated under vacuum at 40°C and then lyophilized to obtain a water extract. A part of the water extract obtained was diluted and prepared with distilled water at different concentrations for analysis. For ethanol extracts, 20 g of the dried samples were extracted with 200 ml of ethanol (95%, v/v) by the same method used for water extract, and the obtained ethanol extracts were diluted and prepared in a mixture of ethanol and water (7:3) at different concentrations for analysis.

Determination of total phenolics:

Total phenolic contents in the water and ethanol extracts of *Vitis Vinifera* & *Loranthus europeas* were determined spectrophotometrically according to the method of Lim *et al.* (13) with a slight modification based on the use of Folin-Ciocalteu reagent (14). Aliquots of 0.1 ml of extracts at different

concentrations of 50, 200, 800, 1600, and 3200 ppm ($\mu\text{g/ml}$) were transferred into the test tubes, and their volumes were made up to 8 ml with distilled water (7.9 ml). Folin-Ciocalteu phenol reagent (0.5 ml) was added, and the contents were mixed thoroughly. After 1 min, 1.5 ml of 20% sodium carbonate solution was added and the mixture was mixed thoroughly and then allowed to stand for 1 hr. The absorbance of the blue color produced was measured at 750 nm. Phenolic content was expressed in micrograms per milliliter of extract at different concentrations based on a standard curve of tannic acid (TA), which was expressed as milligrams per liter of tannic acid equivalent (TAE).

Determination of flavonoids:

Flavonoid contents in the water and ethanol extracts of citrus fruit peel were determined using a method described by (13) with a slight modification. Aliquots of 10 ml of extract solution prepared at different concentrations of 50, 200, 800, 1600, and 3200 ppm ($\mu\text{g/ml}$) were mixed with 2 ml of distilled water and 5 ml of AlCl_3 reagent (133 mg crystalline aluminum chloride and 400 mg crystalline sodium acetate dissolved in 100 ml of water). The absorbance was recorded at 430 nm. The flavonoid contents were expressed in micrograms per milliliter of extract at different concentrations based on a standard curve of quercetine, which was expressed as milligrams per liter of quercetine equivalent.

Anti-Lipid peroxidation assay (TBARS)

A modified thiobarbituric acid-reactive species (TBARS) assay (15) was used to measure the lipid peroxide formed, using egg yolk homogenate as lipid rich medium. Egg homogenate (0.5ml of 10% v/v) and 0.1ml of extract were added to a test tube and made up to 1ml with distilled water. 0.005ml of FeSO_4 (0.07M) was added to induce lipid peroxidation and incubated for 30 min. Then 1.5ml of 20% acetic acid (pH adjusted to 3.5 with NaOH) and 1.5ml of 0.8% (w/v) TBA in 1.1% sodium dodecyl sulphate and 0.5ml 20% TCA were added and the resulting mixture was vortexed and then heated at 95°C for 60 min. if the sample have high amount of anthocyanin then to eliminate this non-MDA interference, another set of samples were treated in the same way, incubating without TBA. After cooling, 5.0ml of butanol were added to each tube and centrifuged at 3000 rpm for 10 min. The absorbance of the organic upper layer was measured at 532nm. Incubation of lipid peroxidation (%) by the extract was calculated according to $[(1 - E/C) \times 100]$ where C is the absorbance value of the fully oxidized control and E is $(\text{Abs}_{532} + \text{TBA} - \text{Abs}_{532} - \text{TBA})$.

Antimitotic activity:

Allium cepa was used for evaluating cytotoxic properties of *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas*. Small onion bulbs are carefully un-scaled and cultivated on top of test tubes filled with the water and ethanolic solutions of different extracts concentration (0, 0.1, 1, 10, 20(mg/ml)). Water was used as a control. The test tubes were kept in an incubator at 24°C and the test samples were changed daily. After 5 days the roots were counted and their lengths were measured for each onion. When the newly emerged roots measured 2.0 – 3.0 cm, they were fixed. The fixative solution was glacial acetic acid/absolute alcohol (1/3 v/v). The root tips were kept in aceto-alcohol solution

for 24 hrs. After fixation, the slides were prepared for examination or the roots were transferred to 70% ethyl alcohols and stored in a refrigerator. For examination, the root tips were put into a watch glass to which 9 drops of aceto-orcein and 1 drop of 1 M HCl were added and warmed over a flame of spirit lamp for 2-3 min (16). These tips were kept at room temperature for 15-30 min. After removing the root caps from well stained root tips, 1 mm of the mitotic zones were immersed in a drop of 45% acetic-acid on a clean slide and squashed under a cover glass. In order to spread the cells evenly on the surface of the slide, squashing was accomplished with a bouncing action by striking the cover glass with a matchstick. Mitotic index (MI) was expressed in terms of divided as follows:

Mitotic Index = Number of dividing cells/Total number of cells x 100

RESULTS AND DISCUSSION

In recent years, natural polyphenolic compounds, one of the ubiquitous groups of plant metabolites, become a major area of health and medical related research due to their oxidative stress associated diseases (6). Preliminary phytochemical analysis revealed that polyphenols were present in all ethanolic and water extracts of medicinal plants used in the present study. Therefore, the total phenol content was evaluated using gallic acid standard curve (Table 1), showed total phenolic and flavonoid contents of the water and ethanol extracts of *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas* at different concentrations showed a similar trend in a concentration- dependent mode, which indicated the increasing of total phenolic and flavonoid, depending on the increasing concentration of the extracts. Total phenolic contents were measured by Folin Ciocalteu reagent in terms of Galic Acid equivalent (GAE) by reference to standard curve ($y = 0.001x - 0.008$, $r^2 = 0.998$). The total phenolic contents and flavonoids of the water and ethanol extracts at different concentrations ranged from (1314.01 to 5920.24) and (241.05 to 6052.5) (mg GAE/L), respectively in *Vitis Vinifera*, while in *Loranthus europeas* were (1921.21 to 71320) and (260.16 to 7642.33) (mg GAE/L).

Most of the pharmacological effects can be explained by the phenolic compounds including flavonoids, stilbenoids, aryl benzofurans present in all parts of the plant (17). It was reported that the leaves of *V.vinifera* contains catechin, epicatechin resveratrol, trans-piced, caftaric acid, and tryptophan (18). Lipid peroxidation is a free radical mediated process in which oxidative damage leads to destabilization and disintegration of the cell membrane. This causes liver injury, atherosclerosis, kidney damage, aging and increased susceptibility to cancer (19). The most widely used model to evaluate lipid peroxidation is the use of TBARS such as malondialdehyde (MDA) (20). The TBARS assay has been used to measure the degree of lipid peroxidation. TBA reacts specifically with malondialdehyde (MDA), a secondary product of lipid peroxidation to give a red chromogen, which may then be determined spectrophotometrically (21). In this study, both *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas* extracts were capable of preventing the formation of MDA in a dose dependent manner. But the highest anti-lipid peroxidation activity was revealed by the ethanolic extracts of *Vitis Vinifera* and *Loranthus*

europeas by reducing the absorbancy at 532 nm as shown for rats brain at 5- to 20 mg/ml concentrations of extracts ranged from 0.082- 0.000nm for (*Vitis*) 0.0531- 0.000nm for (*Loranthus*) and for rats liver 0.009- 0.001nm (*Vitis*), while for (*Loranthus*) 0.071- 0.002nm in compare with the water extracts of them the result showed that vitis and *Loranthus* extracts effect on brain by reducing absorbancy as shown 0.181 to 0.05nm (*Vitis*) and 0.181- 0.032nm (*Loranthus*) (Figures 1 and 2). This assay revealed that the extracts might prevent reactive radical species from damaging biomolecules such as lipoprotein, DNA, amino acids, sugar, proteins in biological and food systems.

Antimitotic activity:

The compound isolated from *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas* extracts were found to show antimitotic activity. Both plants extract concentrations used in the experiment caused inhibition of mitotic activity depending on the time of incubation 1- 3 hrs. Lower concentrations in 0.1mg/ml was found to be less effective in reducing cell division and caused significant decrease in mitotic index value only after 3 hrs as compared to control. When the highest concentrations were increased up to 20 mg/ml, there were significant reduction of mitotic index values proportional to the time period, which finally decreased to 32.09 for (*vitis*) ethyl extract and 0.19 (*Loranthus*) ethyl extract after 3hrs in compare with water extract (figures 3 and 4). The inhibition of mitotic index and reduction in percentage of mitotic phases indicate that the treatments interfered with the normal sequence of cell division, thus preventing or reducing the number of cells entering the prophase stage at high concentrations. A lowered cell division index suggests an inhibitory effect at the interphase stage (22).

Thus, a common effect of medicinal plant extracts on root tip mitosis of *A. cepa* is an inhibition of spindle mechanism leading to the scattering of the chromosomes, stickiness of chromosomes, anaphase bridge and diverse kinds of abnormalities (23). *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas* extracts reduced significantly root length in increasing extracts concentrations when compared with control (tap water). *Vitis* and *Loranthus* ethyl extracts were more effective on root lengths 0.3 and 0.7 cm than the water extract of both plants under study 1.5 and 2.1 cm at 1000mg/ L concentration of all extracts after five days at room temperature (figure 5). The results of this study indicated that the cytotoxic effect of *Vitis Vinifera* extracts depend on their concentration rather than the time period, with even the low doses demonstrating a considerable rate of inhibition in root growth rate. Moreover, the detractive effect of *Vitis* and *Loranthus* extracts on mitotic index of *A. cepa* show that it has a cytotoxic effect on root tip cells. It is known that the *Allium* test shows a good correlation with mammalian test systems (24) For this reason it is possible that *Vitis* and *Loranthus* plants can have a therapeutic effect to destroy the cancerous cells as reported by (25).

Table (1): Total phenolics and flavonoids in the water and ethanol extracts of *Loranthus europeas* and *Vitis Vinifera*

Concentration (mg GAE/L)	<i>Vitis Vinifera</i>				<i>Loranthus europeas</i>			
	Ethanol extract		Water extract		Ethanol extract		Water extract	
	Total phenolics	Flavonoids	Total phenolics	Flavonoids	Total phenolics	Flavonoids	Total phenolics	Flavonoids
100	1954.21	492.12	1314.01	241.05	2310.67	352.32	1921.21	260.14
250	18305.35	513.65	16257.51	428.44	20604.06	1709.32	18026.01	451.28
500	59206.24	6052.5	44914.11	4306.80	71320.35	7642.33	65461.54	7982.52

CONCLUSION

The curve produced by the cubic spline function must be passed through all the control points of the object. We have to determine the no. sub points between each two control points of the original curve. increase no. of sub points leads to good accurate and smooth curve. Medicinal plants are good source of natural antioxidants. However, the nature and amount of antioxidant compounds extracted is varied from solvent to solvent. Different solvent extracts of medicinal plants ethanol and water were evaluated by using inhibiting lipid peroxidation test. The ethanolic extracts of medicinal plants used in the present study exhibited significant inhibiting lipid peroxidation activity. Among, the water extracts showed potent total antioxidant activities. It was also found to have highest phenolic and flavanoid contents which might be responsible for its antioxidant activity. *Allium cepa* has been used for evaluating cytotoxic properties.

This method is an easy and sensitive tool for measuring the total toxicity caused by chemical treatments as expressed by growth inhibition of the roots of onion bulbs. We found that *Vitis Vinifera* and *Loranthus europeas* extracts reduced root length and mitotic index. Therefore, further research on isolation of antioxidant compounds from this plants might be helpful in the development of drugs or functional foods for the prevention and treatment of diseases caused by oxidative stress.

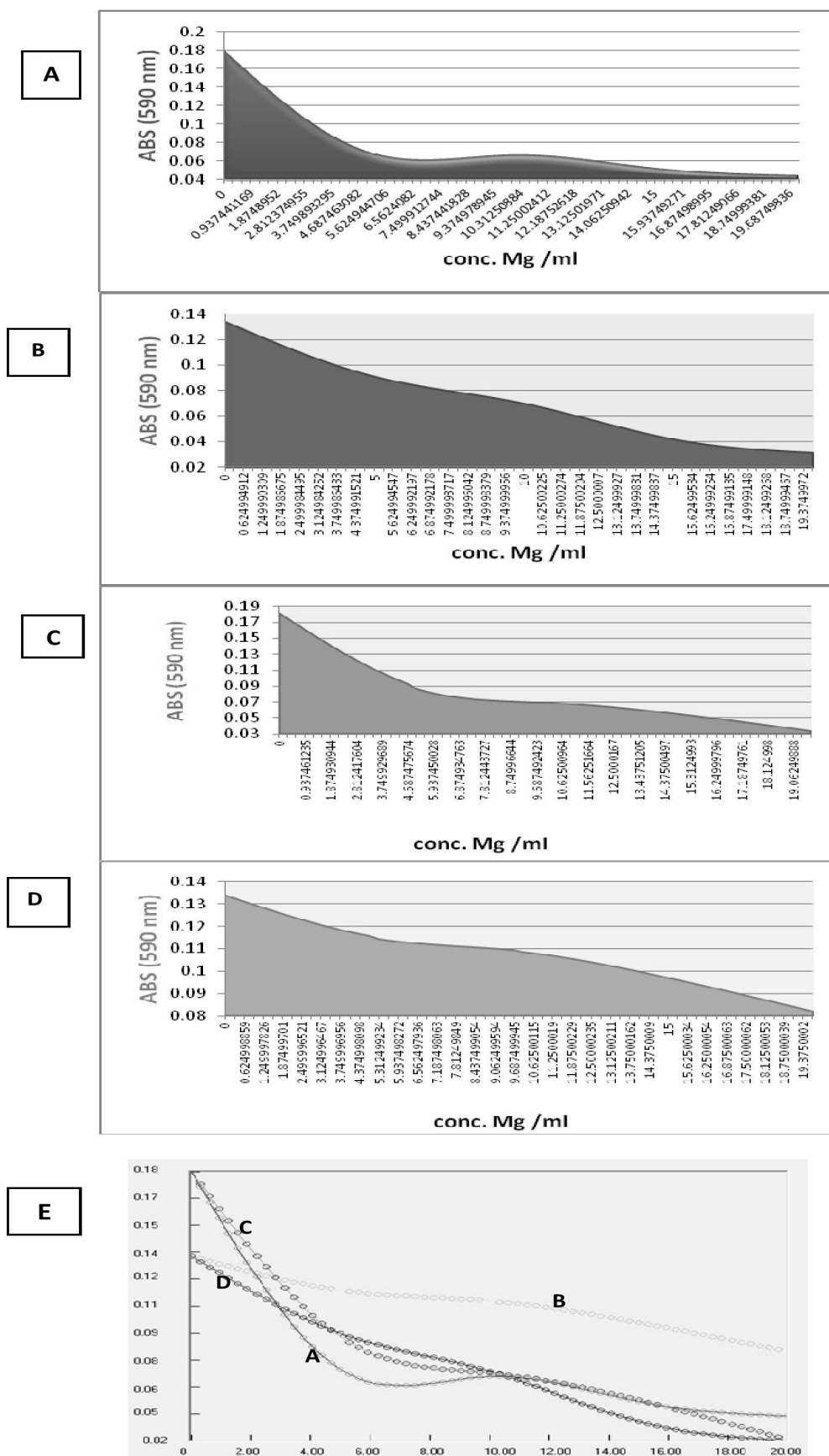


Figure (1): Inhibition of lipid peroxidation induced by Fe^{+2} *louranthus* [A: Rat's liver (Alcoholic extract), B: Rat's Brain (Alcoholic extract) C: Rat's liver (Water extract), D: Rat's Brain (Water extract), E: Comparison between all treatment]

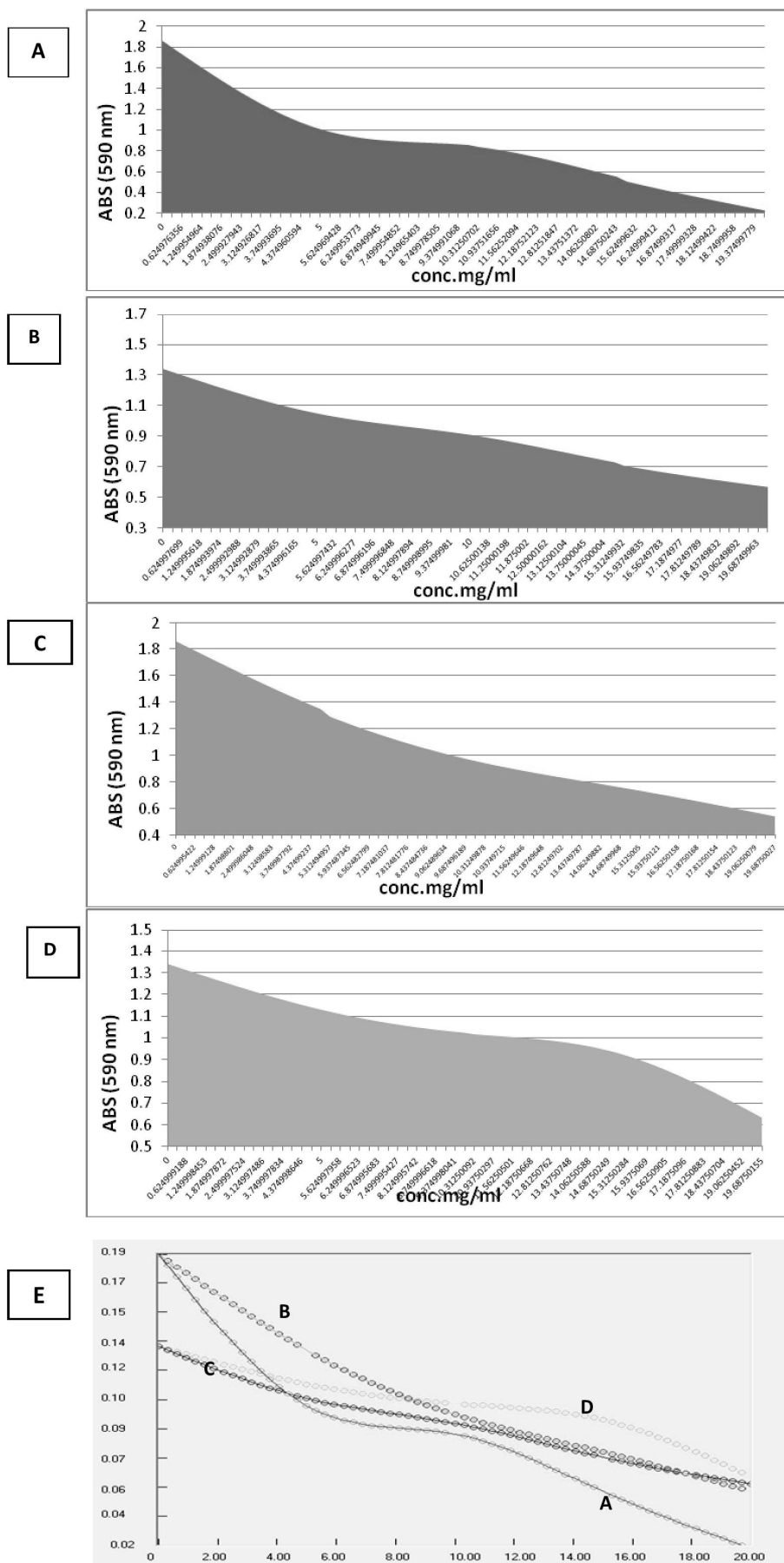


Figure (2): Inhibition of lipid peroxidation induced by Fe^{+2} Vitis [A: Rat's liver (Alcoholic extract), B: Rat's Brain (Alcoholic extract) C: Rat's liver (Water extract), D: Rat's Brain (Water extract), E: Comparison between all treatment]

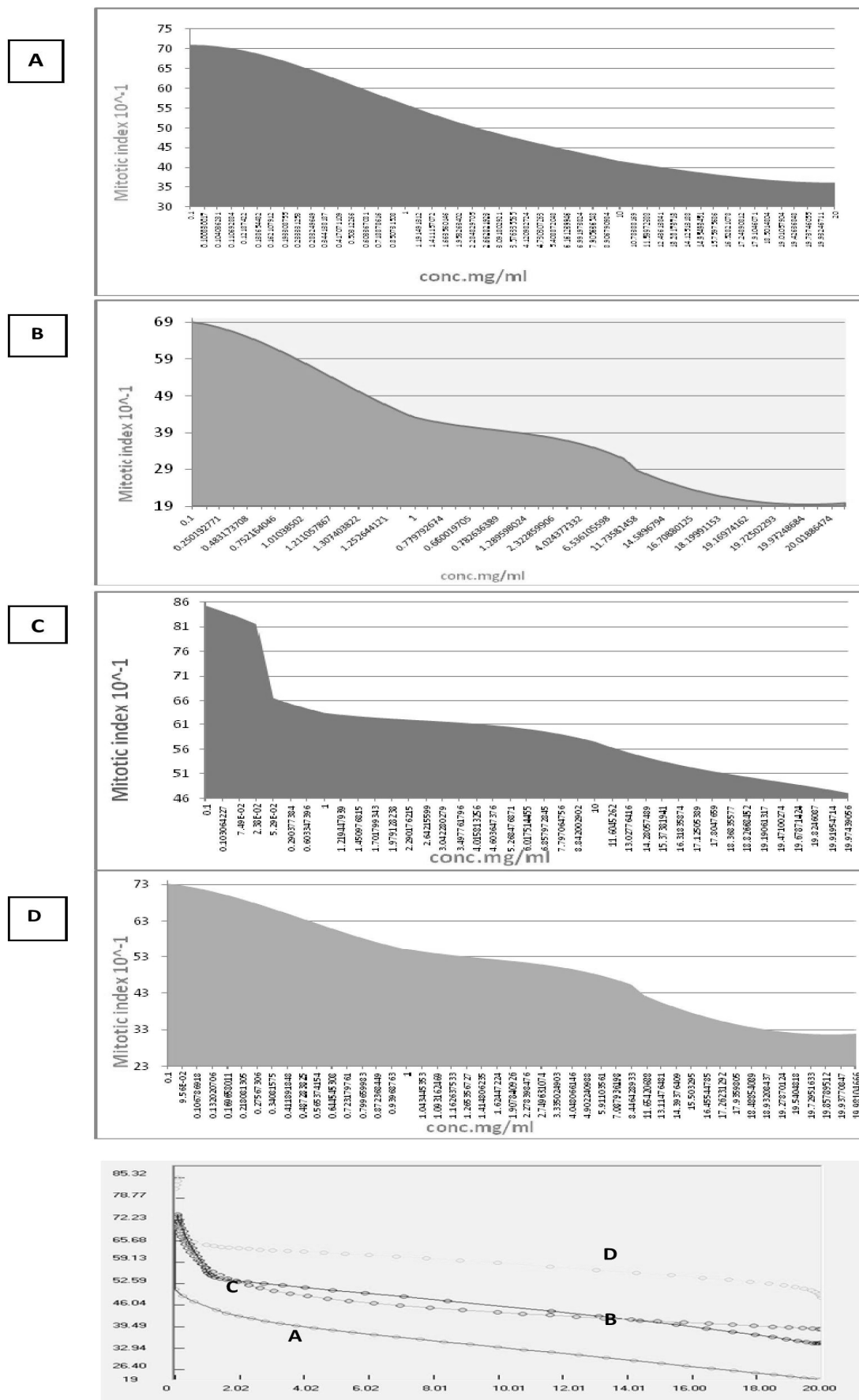


Figure (3): Mitotic Index for (*Louranthes*): [A: Rat's liver (Alcoholic extract), B: Rat's Brain (Alcoholic extract) C: Rat's liver (Water extract), D: Rat's Brain (Water extract), E: Comparison between all treatment]

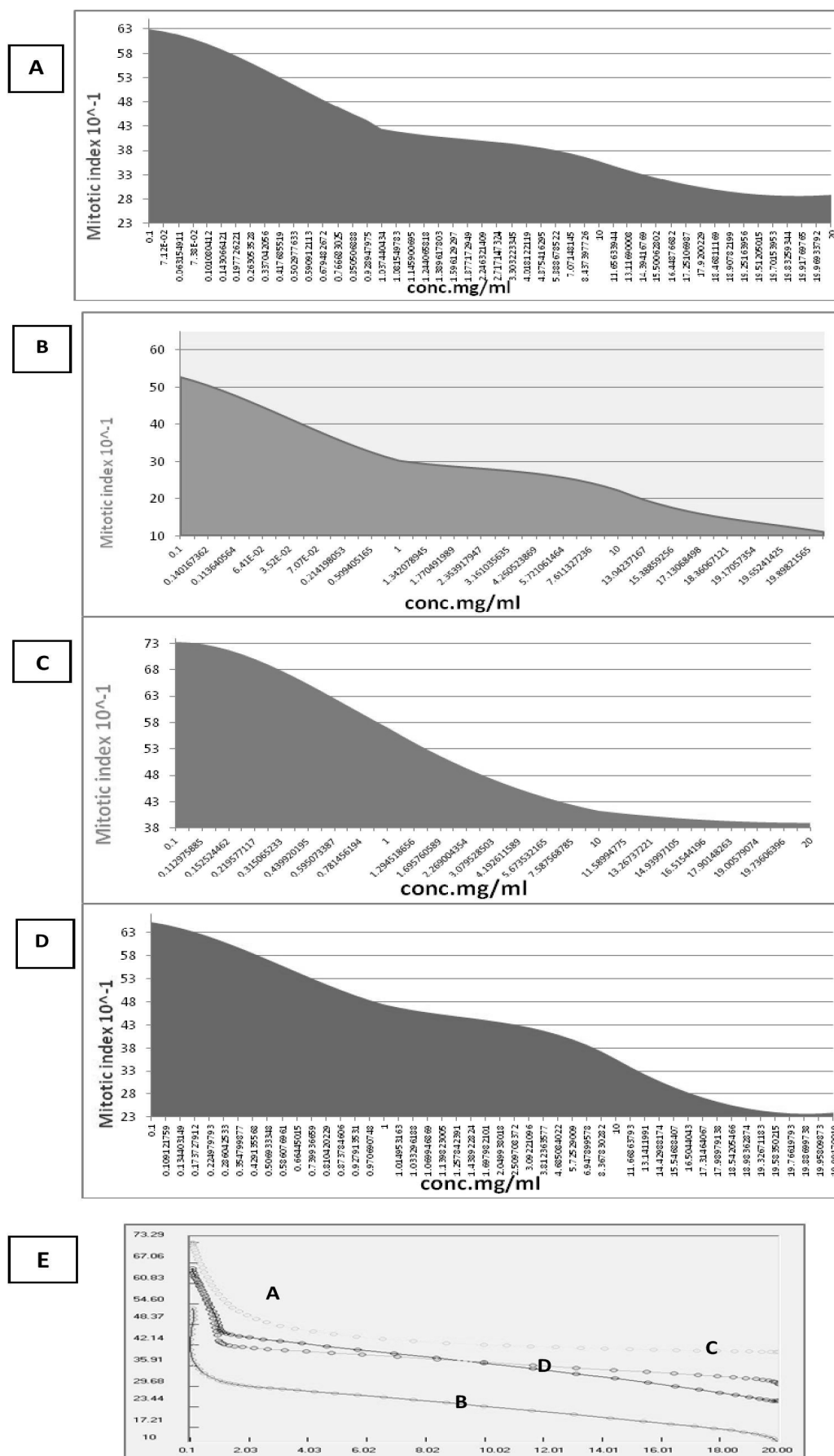


Figure (4): Mitotic Index for (*Vitis*): [A: Rat's liver (Alcoholic extract), B: Rat's Brain (Alcoholic extract) C: Rat's liver (Water extract), D: Rat's Brain (Water extract), E: Comparison between all treatment]

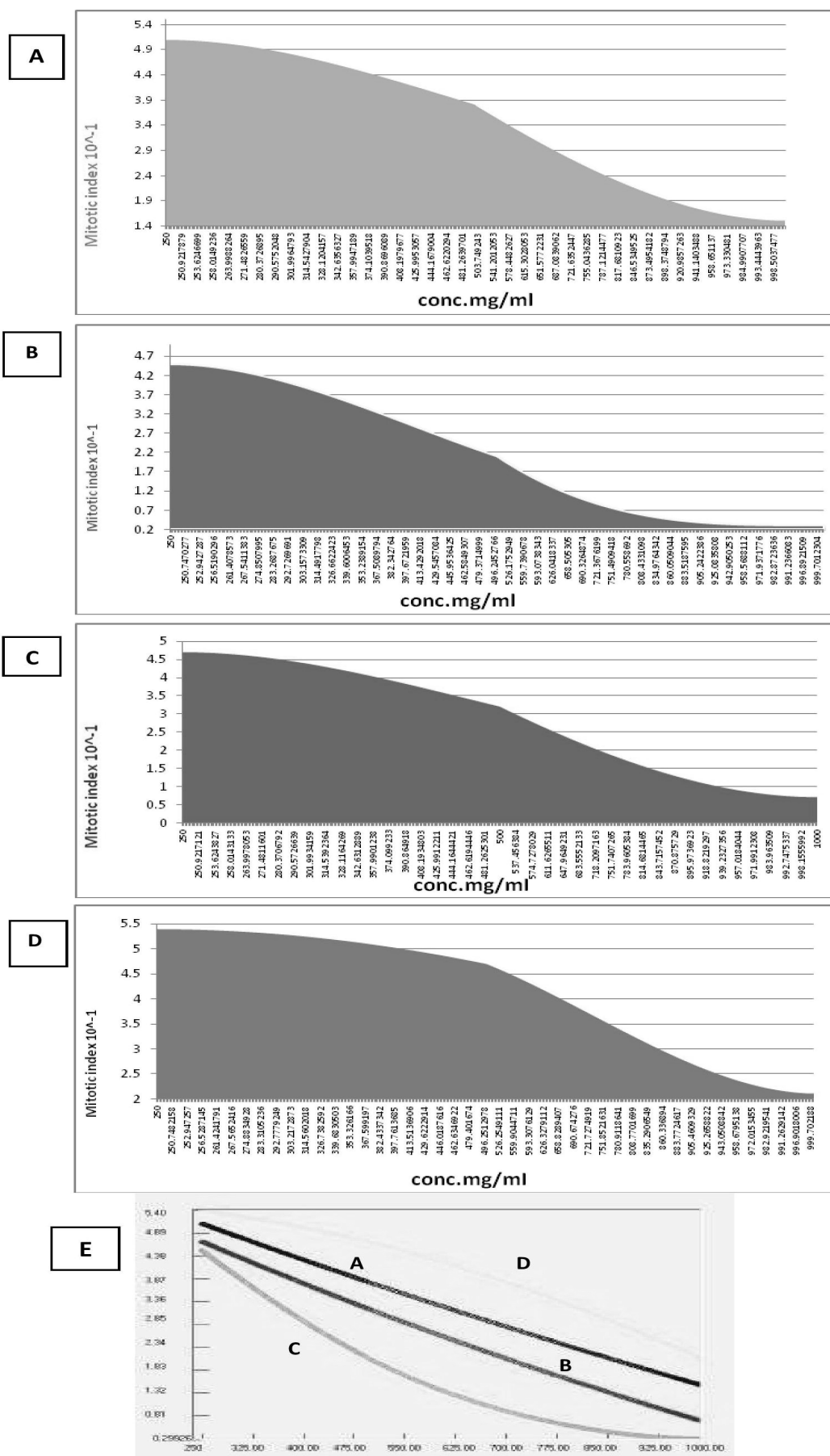


Figure (5): Root length of *Vitis* : [A: Rat's liver (Alcoholic extract), B: Rat's Brain (Alcoholic extract) C: Rat's liver (Water extract), D: Rat's Brain (Water extract), E: Comparison between all treatment]

REFERENCES

- McCord JM. (1983). The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. *Surgery* 94: 412-414.
- Duncan CJ. (1990). Biochemical events associated with rapid cellular damage during the oxygen and calcium paradoxes of the mamalian heart. *Experient*. 46:41-48.
- Halliwell B. (1987). Oxydants and human disease: some new concepts. *FASEB. J.* 1:358-364.
- Sun Y. (1980). Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Rad. Biol. Med.* 8:583-599.
- Ameer OZ.; Salman IM.; Yam MF.; Abdullah HH.; Abdulla MH.; Shah AM. *et al.* (2009). Vasorelaxant properties of *Loranthus ferrugineus* Roxb. methanolic extract. *Int. J. Pharmacol.* 5:44-50.
- Ameer OZ.; Salman IM.; Siddiqui MJA.; Yam MF.; Sriramaneni RN.; Mohamed AJ. *et al.* (2010). Pharmacological mechanisms underlying the vascular activities of *Loranthus ferrugineus* Roxb. in rat thoracic aorta. *J. Ethnopharmacol.* 127:19-25.
- Ameer OZ.; Salman IM.; Siddiqui MJA.; Yam MF.; Sriramaneni RN.; Sadikun A. *et al.* (2010). Cardiovascular activities of n-butanol fraction of *Loranthus ferrugineus* methanol extract. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 43:186-194.
- Ameer OZ.; Salman IM.; Siddiqui MJA.; Yam MF.; Sriramaneni RN.; Sadikun A. *et al.* (2009). Characterization of the possible mechanisms underlying the hypotensive and spasmogenic effects of *Loranthus ferrugineus* methanolic extract. *Am. J. Clin. Med.* 37:991-1008.
- Ameer OZ.; Salman IM.; Siddiqui MJA.; Yam MF.; Sriramaneni RN.; Sadikun A. *et al.* (2009). In vitro cholinomimetic effect of *Loranthus ferrugineus* in isolated guinea pig ileum. *J. Acup. Merid. Stud.* 2:288-293.
- Anonymous, The Wealth of India Raw materials (2005). Sp-W, Vol X, New Delhi, National Institute of Science communication and information resources (NISCAIR), CSIR; 527-558.
- Udenigwe CC.; Ramprasath VR.; Aluko RE. and Jones PJH.(2008). Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nut. Rev.* 66(8):445-454.
- Tang JC.; Zhang YT. and Wu ZX. (2006). Effect of the Water Extract and Ethanol Extract from Traditional Chinese Medicines *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, *Ligusticum chuanxiong* Hort. and *Rheum palmatum* L. on Rat Liver Cytochrome P450 Activity. *Phytother. Res.* 20(12): 1046-1051.
- Lim SN.; Cheung PCK.; Ooi VEC. and Ang PO. (2002). Evaluation of Antioxidative Activity of Extracts from a Brown Seaweed *Sargassum siliquastrum*. *J. Agri. Food Chem.* 50(13):3862-3866.
- Julkunen-Tiitto R. (1985). Phenolic Contents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *J. Agri. Food Chem.* 33(2): 213-217.
- Maksimović Z.; Malenčić D. and Kovačević N. (2005). Poly-phenol contents and antioxidant activity of *maydis stigma* extracts. *Bioresource Technol.* 96 (8): 873-877.
- Grant WF. (1982). Chromosome aberration assays in *Allium cepa*. *Mut. Res.* 99: 273-291.
- Hakim A. (2010). Diversity of secondary metabolites from Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Nusantara Bio. Sci.* 2(3):146-156.
- Balik J.; Kyselakova M.; Vrchotova N.; Triska J.; Kumsta M.; Veverka J.; Hic P.; Totusek J. and Lefnerova D. (2008). Relations between polyphenols content and antioxidant activity in vine grapes and leaves. *Czech J. Food Sci.* 26: S25-S32.
- Garcia YJ.; Rodriguez-Malaver AJ. and Penaloza N. (2005). Lipid Peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. *J. Neurosci. Method.* 144: 127-135.
- Benzie FF. and Strain JJ. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* 239 (1): 70-76.
- Coppen PP. (1983). Rancidity in foods. In: Allen JC. and Hamilton RJ. (Eds.). *Applied Science Publishers, New York, USA.* P. 67.
- Ene-Obong EE. and Amadi OC. (1987). Contributions to the cytological effects of medicinal plants II. Effects of water extracts of *Cassia alata* L. on *Allium cepa* root tip mitosis. *Proceedings of international workshop on evaluation of traditional medicines, University of Nigeria, Nsukka.* P. 183.
- Ene-Obong EE. and Osuala C L. (1990). Contributions to the cytological effects of medicinal plant III. The mutagenic potentials of water extracts of *borreria filiformis* (Hiern) Hutch and Dalz. *Vinca rosea* Linn. *Niger. J. Botan.* 3: 35-40.
- El-Ghamery AA.; El-Nahas A. and Mansour MM. (2000). The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytol.* 65:277-287.
- El-Shabbaby OA.; Abdel Migid HM.; Soliman MI. and Mashaly IA.(2003). Genotoxicity screening of industrial waste water using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *Pakistan. J. Biol. Sci.* 6: 23-28.

A comparative study of 8-epi-prostaglandin f2 alpha, selenium levels in preterm and term Iraqi infants and their mothers

Maryam Q. A. Al- Qaisi (1), Firyal H. Abdul- Jalil (1) and Hala S. Arif (2)

(1) Dept. of Biochemistry / College of Medicine/ Al- Nahrain University (2) Dept. of Pediatric / College of Medicine/ Al- Nahrain University / Republic of Iraq

ABSTRACT

Free radical injury is thought to be one of the common mechanisms for several diseases in preterm infants. Lipid peroxidation plays a vital role in the pathogenesis of many neonatal complications because the antioxidant system of preterm infants is highly stressed and incompletely developed. The aim of study is determination of the oxidative stress [8-epi-prostaglandin F2alpha [(8-epi-PGF2α)] and nutrient antioxidants [Selenium (Se)] in cord blood of preterm (n=31), term LBW infants (n=27), term NBW infants (30) and in the blood of their mothers. In preterm infants and their mothers, selenium levels were low as compared to term infants and their mothers. In preterm infants and their mothers, 8-epi-prostaglandin F2 alpha were high as compared to term infants and their mothers. Therefore, it is possible to postulate that preterm infants and their mothers are more susceptible to oxidative stress than term infants and their mothers.

Key words: 8-epi-prostaglandin F2alpha, Preterm infants, Term infants, Selenium

الملخص باللغة العربية

من المعتقد أن إصابة الجذور الحرة تشكل واحدة من مجموعة آليات تشترك في التسبب بعدة أمراض في الخدج، حيث تلعب الدهون فوق المؤكسدة دوراً حيوياً في التسبب في مضاعفات كثيرة لدى حديثي الولادة والتوتر الشديد والنمو غير المكتمل، والهدف من الدراسة هو تحديد قيمة الجهد التأكسدي 8-epi-PGF2α ومضادات الأكسدة مغذية (السلينيوم) في الحبل السري لأطفال الولادة المبكرة و أطفال الولادة الكاملة وأمهاتهم. بينت نتائج الدراسة أن مستوى السلينيوم في أطفال الولادة المبكرة وأمهاتهم منخفض مقارنة بأطفال الولادة الكاملة وأمهاتهم، بينما مستوى الجهد التأكسدي كان مرتفعاً في أطفال الولادة المبكرة وأمهاتهم مقارنة بأطفال الولادة الكاملة وأمهاتهم، وبذلك من الممكن استنتاج أن الخدج وأمهاتهم هم أكثر عرضة للجهد التأكسدي من أطفال الولادة الكاملة وأمهاتهم.

INTRODUCTION

Pregnancy is a stressful physiological condition and it has been associated with oxidative stress injury (1). Oxidative stress occurs when an imbalance between reactive oxygen species production and antioxidants capacity, has been implicated in suboptimal reproductive performance from the earliest stages of development pregnancy to labor and delivery (2). Oxidative stress during pregnancy yields free radicals and other oxidative molecules exceeding the available antioxidant buffering capacity in the mother and growing fetus, which are resulting in cellular damage. Causes of oxidative stress activity changes are intensively investigated during experimental modeling of the processes that take place in the uterus and the placenta.

Oxidative stress are considered to be responsible for the initiation or development of pathological processes, and they have been associated not only with Preterm labour and delivery, but also several pregnancy-related disorders are preeclampsia, intra-uterine growth restriction (IUGR), premature rupture of membrane and gestational diabetes as well as several serious post-delivery issues for the premature infant (3-4). If not buffered, the excess of free radicals attack the endothelial lining cells of blood vessels and many organ systems by acquiring electrons from nucleic acids, lipids, proteins and carbohydrates, thus denaturing DNA in these cells (5). Oxidative stress is part of pregnancy physiology and, according to literature data, it is an important factor for embryogenesis (6). It has been reported that oxidative stress in pregnant women is well correlated with newborn (7,8), also that newborn through the stress of labor.

Free radical may have their internal generated to cause oxidative stress.

Furthermore, antioxidant capacity may not have been fully developed in them.

Studies have suggested that an impairment of fetal growth was a consequence of higher maternal oxidative stress as increased oxidative DNA damage was found in women who gave birth to LBW babies when compared to women with babies with normal birth weights (9,10). Isoprostane is a product formed when phospholipids, which plays an important role in the body, and subjected to oxidative stress.

The weight of the infant at birth is a powerful predictor of infant growth and survival. Birth size is the result of fetal growth; low birth-weight may be due to a variety of factors, which can be divided into parental, placental, and fetal factors (figure 1).

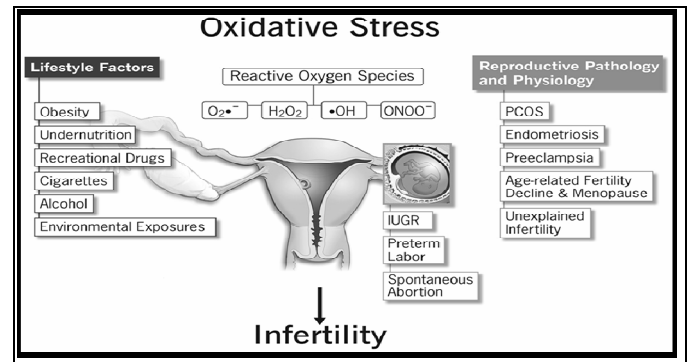


Figure (1): Factors contributing to the development of oxidative stress and their impacts on female reproduction. (15).

There are complex interactions between genetic and environmental factors of parental, placental, and fetal origin. Maternal nutrition is an important factor from a public health point of view because it is modifiable and therefore susceptible to public health interventions, nutritional status during pregnancy has a direct influence upon birth weight of newborn and adequate supply of micronutrient is known to be very important in pregnancy (11). Maternal nutritional status, diet and exposure to environmental factors are increasingly acknowledged as potential factors affecting fetal growth both by altering nutrient availability to the fetus and by modulating placental gene expression, thus modifying placental function (12).

Selenium is nutritionally an essential trace element in human body. Selenium deficiencies may lead to gestational complications, miscarriages and the damaging of the nervous and immune systems of the fetus.

A low concentration of selenium in blood serum in the early stage of pregnancy has been proved to be a predictor of low birth weight of a newborn (13).

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted at the Department of Obstetrics and Gynecology at Al-Yarmouk Teaching, Al- Imamain kadhmain medical city (PBUH).and Fatima El -Zahraa (PBUH) Hospitals and Biochemistry at AL-Nahrain University, College of Medicine, Baghdad in Iraq.

The study protocol was approved by the ethical committee of college of medicine / AL-Nahrain University, and an informed signed consent was obtained from the expectant mothers. Patients studied were admitted between October 2013 to June 2014 on 88 pregnant women with gestational age from 25th to 41th weeks, which were either calculated by the first day of last menstrual period and/or by ultrasound scan obtained before 20 weeks of gestation. Pregnant women age ranged between (18-34) years. The subjects in this study were divided into three main groups:

- 1- Term normal birth weight includes 30 neonates and their mothers.
- 2- Term low birth weight includes 27 neonates and their mothers.
- 3- Preterm includes 31 neonates and their mothers.

Women with an established medical risk factor for having reduced or excessive birth weight of the neonate such as, extremes of age (< 18 or > 44 years), hypertension, toxemia of pregnancy, renal disease, heart disease, diabetes, urinary tract infection, metabolic disorder, tuberculosis, smoking, and alcohol or chronic drug intake were excluded from both the groups.

Infants were excluded if they had history of difficult delivery, fetal distress, congenital malformations, birth injury or any complication-requiring special care e.g. sepsis, seizure, respiratory distress, congenital heart disease, hypothermia, hypoglycemia and hyperbilirubinemia. Infants born to mothers who received sedatives /anesthesia within 4 hours prior to delivery were also excluded. All included newborns were delivered by vaginal route, with vertex presentation.

Concentration of 8-epi-prostaglandin f2 alpha in serum was determined by specific ELISA Kit for human (8-epi-PGF2 α) of CUSABIO Chemical Company, China. Atomic absorption spectrometry technique is used in estimation of selenium and this test was conducted in Ibn Sina state, company of ministry of industry and minerals.

Statistical analysis:

Data were analyzed by statistical packages of SPSS 18 (statistical packages for social sciences-version 18). All data were presented as a mean \pm Sd.

Statistical differences among groups were carried out by one-way analysis of variance (ANOVA). Correlation between the variables was performed by spearman correlation coefficient. *P* values were significant if <0.05, the receiver operating characteristic (ROC) curve as used to define the diagnostic value and best cutoff points of each cord and maternal oxidative stress.

RESULTS

In the current study, the cases were compared regarding the maternal age range 18-34 year, gestational age ranged from 25-41 weeks and parity ranged from 1-3.

There was no significant among study groups in mean of maternal age and parity (*P* value > 0.05), while there was significant difference in mean gestational age (*P* value < 0.001). Neonates showed significant differences in means of weight, head circumference and length among study groups, while maternal was no significant difference in means height, Pre-pregnancy BMI and significant difference in means of BMI at delivery, weight gain

among study groups by using one-way ANOVA test (Table 1).

Table (1): Anthropometric and demographic characteristics of studied groups

Characteristic	Preterm (n=31) Mean \pm SD	Term-LBW (n=27) Mean \pm SD	Term -NBW (n=30) Mean \pm SD	<i>P</i> value
Neonatal				
Gestational age (weeks)	30.86 \pm 3.5	38.93 \pm 1.32	39.49 \pm 1.5	0.001
Birth weight (gm)	1408 \pm 564.1	2146.7 \pm 152.53	3180 \pm 289.7	0.001
Birth Head circumference (cm)	31.73 \pm 0.6	32.49 \pm 0.89	34.27 \pm 1.86	0.004
Birth length (cm)	44.12 \pm 0.85	47.56 \pm 1.7	49.13 \pm 4.13	0.001
Parity	1.936 \pm 0.9	2.04 \pm 0.76	1.867 \pm 0.9	0.75
Maternal				
Maternal age (years)	24.38 \pm 4.43	25.43 \pm 4.45	25.1 \pm 3.82	0.627
Maternal Height (cm)	157.75 \pm 6.01	158.46 \pm 8.06	160.4 \pm 7.96	0.355
Pre-pregnancy BMI(Kg/m2)	21.08 \pm 3.9	22.5 \pm 5.42	23.87 \pm 4.71	0.072
BMI(Kg/m2) at delivery	24.49 \pm 4.16	25.25 \pm 3.86	27.7 \pm 2.31	0.003
Gestational weight gain (kg)	8.45 \pm 1.76	9.1 \pm 2.2	12.135 \pm 3.47	0.001

Table (2) revealed that there was significant differences in means of cord and maternal 8-epi-PGF2 α in Preterm, Term-LBW and Term-NBW, *p* value <0.001 by doing one-way ANOVA test showed there is a significant decrease in the serum cord selenium levels of preterm and Term -LBW as compared toTerm-NBW, with (*P* value 0.002), while there was no significant difference in means of maternal selenium levels.

Table (2): Comparison of 8-epi-PGF2 α and selenium in studied groups

Parameters	Preterm (n=31) Mean \pm SD	Term - LBW (n=27) Mean \pm SD	Term - NBW (n=30) Mean \pm SD	<i>P</i> value
Lipid Peroxidation				
Cord 8-epi-PGF2 α (pg/ml)	674.44 \pm 226.2	142.37 \pm 25.44	102.3 \pm 10.17	< 0.001
Maternal 8-epi-PGF2 α (pg/ml)	489.1 \pm 160.72	200.23 \pm 53.63	124.07 \pm 10.55	< 0.001
Trace elements				
Cord Se (ppm)	0.034 \pm 0.014	0.042 \pm 0.028	0.066 \pm 0.019	0.002
Maternal Se (ppm)	0.073 \pm 0.029	0.077 \pm 0.012	0.081 \pm 0.016	0.167

Table (3) showed that the results in low birth weight were statistically significant negative correlations that were observed between the levels of cord and maternal 8-epi-PGF2 α and statistically significant positive correlations were observed between the levels of cord and maternal selenium, maternal (BMI at delivery , gestational weight gain) and no statistical significant correlation with maternal height.

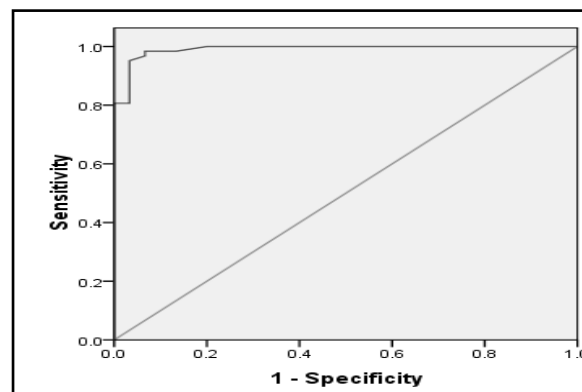
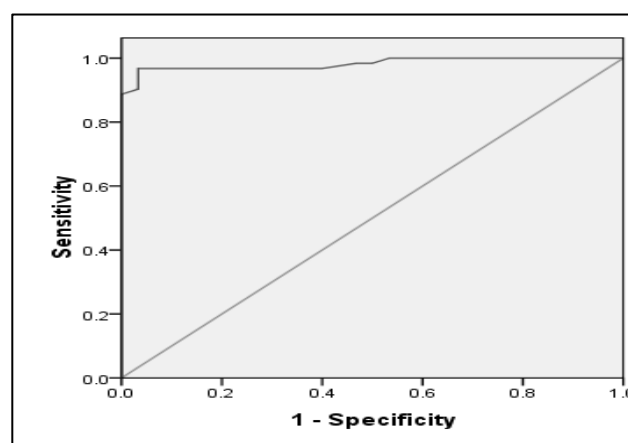
Table (3): Correlation between levels of the studied parameters and fetal outcome (birth weight)

Maternal nutritional marker		Fetal outcome (Birth weight)	
		LBW N=58	NBW N=30
Maternal height	r	0.146	0.138
	p	0.821	0.274
Pre-pregnancy BMI	r	0.220	0.186
	p	0.094	0.395
BMI at delivery	r	0.452	0.213
	p	0.016	0.146
Weight gain	r	0.483	0.272
	p	0.023	0.210
Maternal Se	r	0.274	0.236
	p	0.042	0.07
Cord Se	r	0.314	0.134
	p	0.03	0.15
Oxidative stress markers			
Cord 8-epi-PGF2 α	r	-0.642	-0.268
	p	0.001	0.092
Maternal 8-epi-PGF2 α	r	-0.317	-0.184
	p	0.004	0.256

DISCUSSION

This study would focus on one of those factors that affect preterm delivery and low birth weight which is maternal nutrition, which is one of the important determinants of birth weight (14). Extra nutrition is needed during the pregnancy and adequate intake of minerals and vitamins is advisable to interfere with the incidence of adverse effects in the mother and the fetus.

Level of oxidative stress is important factor in embryogenesis, as well as in pregnancy and normal birth (15). In this study, the association of peripartum lipid peroxidation with gestational age was evaluated cord and maternal levels of 8- epi-PGF2 α were significant higher in preterm infants as compared with term -LBW and term- NBW infants as shown in table (2). There were significant an inverse correlation with increasing gestational age, which were in accordance with other studies reported by (16). Therefore, lipid peroxidation in preterm birth, and the relative influence of accompanying peripartum factors, appears to vary according to degree of prematurity. The cord and maternal levels of 8-epi-PGF2 α as a marker for lipid peroxidation was assessed by an ROC curve analysis (figures 2,3).

**Figure (2): ROC curve for cord 8-epi-PGF2 α between all cases according to birth weight subgroups****Figure (3): ROC curve for maternal 8-epi-PGF2 α between all cases according to birth weight subgroups**

The best cut off values of 8-epi-PGF2 α between all cases according to birth weight subgroups for cord was 122 pg/ml the optimal combination of sensitivity and specificity for cord (95.2% and 96.7%) respectively, area under the curve was 0.991, and the maternal optimal combination of sensitivity and specificity were (96.8% and 96.7%) respectively, area under the curve was (0.982)was determined at a cutoff value of 118 pg/ml. Those findings suggest that factors play important role in the preterm infant than in LBW-term and NBW-term. This would imply that although still immature, infants born ≥ 37 w have relatively effective antioxidant defense capacity that might protect against early lipid peroxidation and its consequences.

Cord serum level of 8-epi-PGF2 α were higher than those found in maternal serum and could reflect the oxidative challenge presented at birth, when there is transition from a relatively low intrauterine oxygen environment to a significantly higher extrauterine oxygen environment.

Study findings suggest that the route of delivery has an effect on oxidative stress in newborns exposed to oxidative stress during delivery. It can be suggested that the antioxidant system works more efficiently to overcome oxidative stress in newborns delivered via cesarean section. (17). In this study found that decrease in cord selenium concentrations is observed in preterm and term-LBW compared with term-NBW. A statistically significant positive relationship was found between cord Se serum concentrations and birth weight, maternal Se serum concentration were stable throughout gestation, and maternal Se was non-significant positive correlated with birth weight, which were in accordance with other studies reported by (18).

Study has been indicated that maternal serum Se concentration was an independent predictor of birth weight (19). Multiple factors, including maternal nutritional status, can influence birth weight. BMI before pregnancy is often used as a marker of the mother's nutritional status, and can affect the birth weight of neonates (20-22). However, in the current study, maternal pre-pregnancy BMI was normal and it was found no significant correlation with low birth weight but maternal gestational weight gain is significant positively influenced with LBW. Similar to the findings of the current study showed that according to normal pre-pregnancy BMI, gestational weight gain can predict intrauterine fetal weight as well as infant birth weight (23).

It is accepted that there is a linear correlation between maternal prepregnancy BMI and the mean birth weight of the infant (24). The current study found that maternal gestational weight gain was lower in preterm compared with LBW-term and NBW-term, this suggest that mothers with low gestational weight gain were at increased risk of preterm delivery. A study performed has demonstrated that a higher weight gain in females during pregnancy resulted in a large baby and an increased frequency of cesarean section, risk of PIH, gestational diabetes (25,26). In this study maternal height was found to be no significant correlation with neonatal birth weight, which might be due to less number of women having height less than 153 cm in the study.

The importance variable was the mother's age, maternal age is one of the high risk factor that may face one or more problems during their reproductive period (27).

A study showed that mothers with age under 16 year were at high risk to get SGA babies (28). Another study suggests that the older mothers (> 35 years) are at a higher risk of having low birth weight babies when compared with women of ages (20 – 29) years (29). Young or old maternal age is associated with LBW (30). In the current study, maternal age ranges 18-34 year, the mean of maternal age showed no significant differences among studied groups (P value > 0.05). In addition, various other factors have been observed to affect the birth weight of the infant, as follows: the gender

of the infant, gestational age, smoking, obstetric history and genetic predisposition (31,32).

CONCLUSION

Out of the results of the current study, it can be concluded that:

1. There was an imbalance between oxidants and antioxidants levels resulting in an increase oxidative stress in Preterm infants and their mothers than in term infants. Lipid peroxidation at birth is the highest in extremely premature infants and decreased with increasing GA. Elevated umbilical venous isoprostane levels suggested that oxidative injury to the mother predispose to adverse neonatal outcomes (low birth weight).
2. Low weight occurred in pregnancy was associated with the increased risk of preterm delivery. Neonatal birth weight was positively correlated with maternal weight gain.
3. Cord Se serum concentration increased and the maternal Se difference declined with gestation progression, probably reflecting fetal accretion of Se.

RECOMMENDATION

It is recommended to improve maternal weight by increasing caloric intake, reduce energy expenditure, and reduce caloric depletion. Improvement of micronutrient status could increase food intake if underweight.

REFERENCES

1. Sharma J.; Sharma A.; Bahadur A.; Vimala N.; Satyam A. and Mittal S. (2006). Oxidative stress markers and antioxidant levels in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 94: 23-27.
2. Al-Gubory KH.; Fowler PA. and Garrel C. (2010). The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcome. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42(10):150-163.
3. Joshi SR.; Mehendale SS.; Dangat KD.; Kilari AS.; Yadav HR. and Taralekar VS. (2008). High maternal plasma antioxidant concentrations associated with preterm delivery. *Ann. Nutr. Metab.* 53:276-282.
4. Mert I.; Oruc A.; Yuksel S.; Cakar E.; Buyukkagnici U. and Karaa A. (2012). Role of oxidative stress in preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 38(4): 658-664.
5. Clerici G.; Slavescu C.; Fiengo S.; Kanninen TT.; Romanelli M.; Biondi R. and Di Renzo GC. (2012). Oxidative stress in pathological pregnancies. *J. Obstet. Gynaecol.* 32(2):124-127.

6. Burton GJ. and Jauniaux E. (2010). Oxidative stress. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. P. 569-577.
7. Webster RP.; Roberts VH. and Myatt L. (2008). Protein nitration in placenta – functional significance. Placenta. 29:985–994.
8. Erdem M.; Harma M.; Harma I.; Arikani I. and Barut A. (2012). Comparative study of oxidative stress in maternal blood with that of cord blood and maternal milk. Arch. Gynecol. Obstet. 285(2): 371-375.
9. Şahinli A.; Marakoğlu K. and Kiyici A. (2012). Evaluation of the levels of oxidative stress factors and ischemia modified albumin in the cord blood of smoker and non-smoker pregnant women. J. Matern. Fetal Neon. Med. 25(7): 1064-1068.
10. Hsieh TT.; Chen SF.; Lo LM.; Li MJ.; Yeh YL. and Hung TH. (2012). The association between maternal oxidative stress at mid-gestation and subsequent pregnancy complications. Reprod. Sci. 19(5):505-512.
11. Relton CL.; Pearce MS. and Parker L. (2005). The influence of erythrocyte folate and serum vitamin B12 status on birth weight. Brit. J. Nutr. 93: 593-599.
12. Cetin I.; Mandò C. and Calabrese S. (2013). Maternal predictors of intrauterine growth restriction. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 16(3):310-319.
13. Pieczyńska J. and Grajeta H. (2014). The role of selenium in human conception and pregnancy. Adv. Clin. Exp. Med. 23(4):657-663.
14. Sebayang SK.; Dibley MJ.; Kelly PJ.; Shankar AV. and Shankar AH. (2012). Determinants of low birthweight, small-for-gestational-age and preterm birth in Lombok, Indonesia: analyses of the birthweight cohort of the SUMMIT trial. Trop. Med. Int. Health. 17(8):938-950.
15. Clark K. and Myatt L. (2008). Prostaglandins and the Reproductive Cycle. Glob. Libr. Women's Med. DOI 10.3843/GLOWM.10314.
16. Comporti M.; Signorini C.; Leoncini S.; Buonocore G.; Rossi V. and Ciccoli L. (2004). Plasma F2-isoprostanes are elevated in newborns and inversely correlated to gestational age. Free Radic. Biol. Med. 37(5):724-732.
17. Inanc F.; Kilinc M.; Kiran G.; Guven A.; Kurutas EB. and Cikim IG. (2005). Relationship between oxidative stress in cord blood and route of delivery. Fetal Diagnos. Ther. 20(5):450-453.
18. Makhoul IR.; Sammour RN.; Diamond E.; Shohat I.; Tamir A. and Shamir R. (2004). Selenium concentrations in maternal and umbilical cord blood at 24-42 weeks of gestation: basis for optimization of selenium supplementation to premature infants. Clin. Nutr. 23(3):373-381.
19. Masters ET.; Jedrychowski W.; Schleicher RL.; Tsai YW.; Tu YH.; Camann D.; Tang D. and Perera FP. (2007). Relation between prenatal lipid-soluble micronutrient status, environmental pollutant exposure, and birth outcomes. Am. J. Clin. Nutr. 86:1139–1145.
20. Shin YH.; Choi SJ.; Kim KW.; Yu J. Ahn KM. *et al.* (2013). Association between maternal characteristics and neonatal birth weight in a Korean population living in the Seoul metropolitan area, Korea: A birth cohort study (COCOA). J. Korean Med. Sci. 28: 580–585.
21. Xinxo S.; Bimbashi A Z.; Kakarriqi E. and Zaimi E. (2013). Association between maternal nutritional status of pre pregnancy, gestational weight gain and preterm birth. Mater Sociomed. 25: 6–8.
22. Abdel Moety GAG. and Hassan M. (2013). Maternal pre-pregnancy BMI and gestational weight gain: which correlates more with neonatal birth weight? Evid. Based Women's Health J. 3(3): 122–126.
23. Lertbunnaphong T.; Talungjit P. and Titapant V. (2012). Does gestational weight gain in normal pre-pregnancy BMI pregnant women reflect fetal weight gain? J. Med. Assoc. Thailand. 95(7):853-858.
24. Getahun D.; Ananth CV.; Peltier MR.; Salihu HM. and Scorza WE. (2007). Changes in prepregnancy body mass index between the first and second pregnancies and risk of large for gestational age birth. Am. J. Obstet. Gynecol. 196: 530-538.
25. Bhattacharya S.; Campbell DM.; Liston WA. and Bhattacharya S. (2007). Effect of body mass index on pregnancy outcomes in nulliparous females delivering singleton babies. BMC Pub. Health 7: 168.
26. Crane JM.; White J.; Murphy P.; Burrage L. and Hutchens D. (2009). The effect of gestational weight gain by body mass index on maternal and neonatal outcomes. J. Obstet. Gynaecol. Can. 31: 28–35.
27. Jeid SS. and Abbas IM. (2006). Impact of maternal risk factors on birth weight of newborn in two maternity hospitals in Baghdad City. Sci. J. Nurs. 18: 55-66.
28. Bae J.; Park JH.; Park YK.; Kim JY.; Lee SW. and Park SW. (2011). Changes in the distribution of maternal age and parity and increasing trends in the low birth weight rate in Korea between 1995 and 2005. J. Prev. Med. Pub. Health. 44: 111–117.
29. Yadav H. and Lee N. (2013). Maternal factors in predicting low birth weight babies. Med. J. Malaysia. 68(1): 44- 47.
30. Ganesh KS.; Harsha HN.; Jayaram S. and Kotian MS. (2010). Determinants of low birth weight: A case control study in a district hospital in Karnataka. Indian J. Pediatr. 77:87-89.
31. Thame M.; Osmond C.; Bennett F.; Wilks R. and Forrester T. (2004). Fetal growth is directly related to maternal anthropometry and placental volume. Eur. J. Clin. Nutr. 58: 894-900.
32. Frederick IO.; Williams MA.; Sales AE.; Martin DP. and Killien M. (2008). Pre-pregnancy body mass index, gestational weight gain, and other maternal characteristics in relation to infant birth weight. Matern. Child. Health. J. 12:557-567.

Diabetic polyneuropathy: impact of disease duration and glycemic control

Qassim H. Abdullah (1) Sherwan H. Omar (2) and Mohammed O. Mohammed (3)

(1) Dept. of Physiology / School of Medicine / Faculty of Medicine/ University of Duhok (2) Dept. of Physiology / School of Medicine / Faculty of Medicine/ University of Sulaimani (3) Dept. of Medicine / School of Medicine / Faculty of Medicine/ University of Sulaimani / Kurdistan Region / Republic of Iraq

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a debilitating chronic disease, peripheral neuropathy is one of the most common, early and devastating complications of diabetes in 60 % of these patients and results in pain, decreased motility, and amputation.

The current study was conducted to investigate the relation of duration of diabetes and glycemic control with diabetic polyneuropathy and its clinical symptoms.

A cross-sectional study involved 103 patients with type 2 diabetes mellitus and 50 apparently healthy control subjects. The entire subjects completed a questionnaire followed by physical and neurological examination. Nerve conduction studies (NCS) for both upper and lower limbs were done for patients and controls, in addition the following biochemical parameters were measured: Blood glyated hemoglobin (HbA1c %), fasting blood glucose and serum lipid profile.

The nerve conduction study (NCS) results showed 56 (54.4%) of diabetic patients had symmetrical peripheral polyneuropathy, patients with polyneuropathy have significantly longer duration of disease and higher plasma HbA1c% compared with other diabetic groups. Duration of the disease and plasma HbA1c are of high validity to predict polyneuropathy in diabetic patients with areas under the curve (AUC) of 0.864 and 0.775, $P < 0.001$, there were significant correlations between disease duration and glyated hemoglobin with nerve conduction study parameters in diabetic patients with polyneuropathy. Moreover, numbness and paresthesia were associated with highest accuracy, specificity and sensitivity for diagnosing polyneuropathy in patient with diabetes mellitus.

The study concluded that distal symmetrical polyneuropathy is the commonest type of neuropathy in diabetic patients, Hyperglycemia and duration of the disease are important determinants in the development of diabetic neuropathic complication.

Key words: diabetes mellitus, peripheral neuropathy, nerve conduction study (NCS).

المخلص باللغة العربية

يعتبر مرض السكري من الأمراض المزمنة والمنهكة ، ويقدر عدد المصابين بهذا المرض بحوالي مليون شخص حول العالم، ويشكل اعتلال الأعصاب المحيطية إحدى أكثر المضاعفات شيوعاً وقد تظهر بنسبة 60% من مجموع المرضى منذ بداية المرض وينتج من هذا الاعتلال شعور المرضى بالألام ، والخمول في الحركة وقد يتسبب ببتز الأطراف. هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم العلاقة بين حالة السكري الغير منضبط ومدة المرض في الإصابة بحالة اعتلال الأعصاب المحيطية لدى المصابين بمرض السكري من النوع الثاني.

شملت هذه الدراسة المقطعية (50) شخصاً طبيعياً و(103) شخصاً مصاباً بمرض السكري من النوع الثاني، وتم اختيار المرضى بعد استبعاد بعض الأسباب الأخرى لاعتلال الأعصاب وأجريت دراسة توصيل العصب والتقييم السريري لكل من مرضى السكري والأشخاص الطبيعيين. تم إجراء الفحوصات التالية: مستوى الهيموجلوبين المتسكر (HbA1c) في الدم، مستوى السكر في دم الصائم، ومستوى دهون الدم (الكوليسترول و ثلاثي الجليسريد) ، و مستوى الكرياتينين في مصل الدم.

أظهرت دراسة توصيل العصب أن 56% من مرضى السكري يعانون من اعتلال الأعصاب المحيطية، وكانت مستويات الهيموجلوبين المتسكر (HbA1c) في الدم و مدة المرض في مرضى السكري ذوي الاعتلال الأعلى معنوياً مقارنةً بمجاميع السكري، مدة المرض، ومستوى الهيموجلوبين المتسكر (HbA1c) في الدم كان أعلى صحةً للتنبؤ باعتلال الأعصاب لدى مرضى السكري مع المناطق الواقعة تحت المنحني ($P < 0.001$, AUC = 0.864, 0.775)، ويرتبط كل من مدة المرض و مستوى الهيموجلوبين المتسكر (HbA1c) في الدم ارتباطاً معنوياً مع متغيرات دراسة توصيل العصب. علاوةً على ذلك فإن مستويات الاعتلال الحسي كانت أعلى صحةً للتنبؤ باعتلال الأعصاب لدى مرضى السكري.

وقد استنتجت الدراسة أن اعتلال الأعصاب المحيطي المتجانس يعد الأكثر شيوعاً بين مرضى السكري من النوع الثاني، والسكري الغير المنضبط ومدة المرض هما من أهم العوامل المحفزة لاعتلال الأعصاب المحيطي السكري.

INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) refers to a group of common metabolic disorders that share the phenotype of hyperglycemia with disturbances of carbohydrate, fat and protein metabolism resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both (1).

The metabolic deregulation associated with diabetes mellitus causes secondary pathophysiological changes in multiple organs and systems that impose a tremendous burden on the individual with diabetes mellitus and on health care system (2).

Diabetes is associated with a number of complications including: heart disease, stroke, blindness, kidney disease, and neuropathy. Diabetic neuropathy is the most common complication of diabetes, with 60-70% of diabetic patients reporting mild to severe forms of peripheral nerve dysfunction. Diabetic neuropathy is characterized by a number of neural symptoms including numbness, sensory loss, and stabbing or burning pain typically experienced in the hands and feet (3).

This study aimed to provide information about the association of duration of diabetes and glycemic control with diabetic polyneuropathy and its symptoms.

PATIENTS AND METHODS

This is across-sectional study conducted at the Department of Medical Physiology, School of Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Sulaimani and Sulaimani Diabetic Center during the period of March 2012 – February 2013. The study include Fifty apparently healthy subjects (29) males and (21) females, their age ranged from 44 to 72 years (mean \pm SE= 55.5 \pm 0.96 years) and one hundred three patients diagnosed as type 2 diabetes mellitus (T2DM), (80 females, 23 males), with an age ranging from 38 to 72 years (mean \pm SE =55.14 \pm 0.67 years). Patients diagnosed as type 2 diabetes mellitus regardless of the duration of illness were included in the study. However, Patients with the following conditions were excluded: rheumatoid arthritis, thyroid disease, alcoholism, liver and kidney disease, drugs known to cause neuropathy or myopathy, pregnancy, positive family history of neuropathy or myopathy (4,5). The study had been approved by Local Research Ethics Committee of the School of Medicine. All patients and controls gave their informed consent. A detailed questionnaire was completed for each included subject. Information obtained included age, gender, smoking history, history of alcohol consumption, duration of DM, hypertension or cardiovascular diseases, and symptoms related to peripheral neuropathy. In addition height, weight, body mass index, neurologic physical examinations were obtained. Laboratory investigations included fasting blood glucose (FBG), glycosylated hemoglobin (HbA1c %), serum creatinine, and lipid profiles.

Physical examinations were performed to assess knee and ankle jerk, muscle power and perception to vibration. Nerve Conduction Study examinations were performed according to the standard method recommended by the American Diabetes Association (6), using Micromed EMG/EP measuring machine (Model 171 S, code GH17ESSM/EDC, Italy) at 20 to 25°C room temperature, The following nerves were examined in both control and patients: a- Motor nerve conduction study of posterior tibial, peroneal, femoral, median, ulnar and musculocutaneous nerves, b- Median, ulnar, radial and sural sensory nerve conduction study, c- F waves minimum latency (Fmin) of posterior tibial, peroneal, median and ulnar nerves. Bilateral nerve conduction studies were performed for patients to improve the sensitivity of detecting possible mononeuropathy among them. Standard techniques of supramaximal stimulation with rings and surface recording electrodes were used (7).

Statistical analysis:

Statistical analyses were done using SPSS version 13-computer software (Statistical Package for Social Sciences).The statistical significance of difference in mean of a continuous response (outcome) variable which is known or assumed to be normally distributed between 2 groups was assessed by independent samples t-test, while the statistical significance of difference in mean between more than 2 groups were assessed by ANOVA.

RESULTS

According to the results of NCS, the diabetic patients were subdivided into 3 groups; group A, included 26 diabetic patients with normal nerve conduction study, group B consisted of 56 diabetic patients with polyneuropathy, and group C comprised 21 patients with entrapment mononeuropathy. There was no significant difference in the mean age among studied groups. The body mass index in the diabetic patients was significantly higher than that of the control group, duration of the disease showed significant difference between the patients groups ($P < 0.001$) with longer disease duration (12.4 years) among diabetes with polyneuropathy (table 1).

In table (2), the mean fasting blood sugar of all diabetic groups were significantly higher compared to the controls (190.6, 227.9, 185.6 Vs 108.6, $P < 0.001$) respectively. In addition, the mean glycated hemoglobin of all diabetic groups showed highly significant increases compared to the control group (9.2, 11.5 and 10.2 Vs 5.2, $P < 0.001$) respectively. Diabetic with polyneuropathy showed significantly higher levels of glycated hemoglobin compared to other diabetic groups. (11.5%, $P < 0.001$) (figure 1).

Table (1) :Demographic parameters of the studied groups

Parameters	Studies groups				P value (ANOVA)
	Healthy controls N=50	Diabetic with normal nerve conduction study N=26	Diabetic with polyneuropathy N=56	Diabetic with entrapment neuropathy N=21	
Age in years					
Mean ± SE	55.5 ± 0.96	53.2 ± 1.4	56.6 ± 0.88	53.7 ± 1.46	0.13 [NS]
Body Mass Index (Kg/m2)					
Mean ± SE	25.7 ± 0.48	29 ± 0.86	28.8 ± 0.7	30.3 ± 0.94	<0.001
Duration of the Disease (years)					
Mean ± SE	---	4.9 ± 0.53	12.4 ± 0.9	7.8 ± 1.07	<0.001

Table (2): Mean Values of Fasting blood sugar and plasma HbA1C% of Studied Groups

Parameters	Studies groups				P value (ANOVA)
	Healthy controls N= 50	Diabetic normal nerve conduction (A)N= 25	Diabetic polyneuropathy (B) N= 53	Diabetic entrapment neuropathy (C) N= 21	
Fasting Blood sugar mg/dl					
Mean ± SE	108.6 ± 1.54	190.6± 8.04	227.9 ± 8.51	185.6±10.47	<0.001
Plasma HbA1c %					
Mean ± SE	5.2 ± 0.04	9.2 ± 0.4	11.5 ± 0.32	10.2 ± 0.41	<0.001

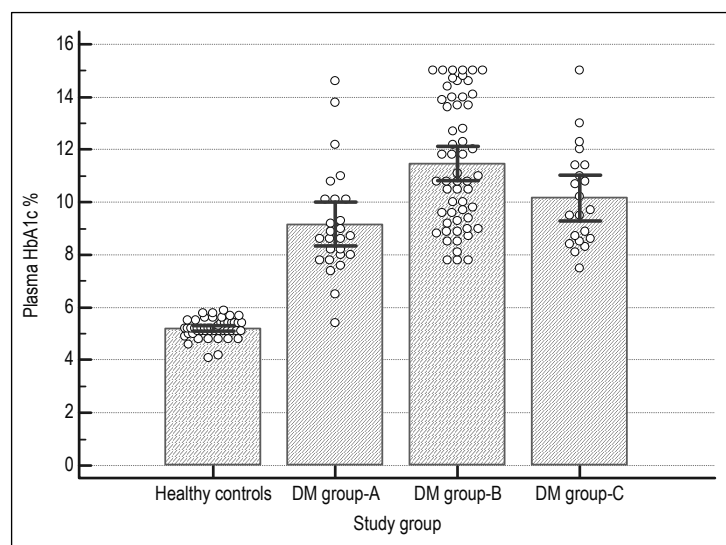


Figure (1): The Mean of HbA1c (Glycated hemoglobin) % in the Studied Groups

Receiver Operating Curve (ROC) analysis showed that duration of the disease and plasma HbA1c were of very high validity to predict polyneuropathy in diabetic patients with areas under the curve (AUC) of 0.864 and 0.775, $P < 0.001$, respectively (table 3). Validity parameters showed that optimum (typical) cut-off value for the duration of the disease which associated with a sensitivity of (83.9%) and specificity of (73.1 %) is 6.5 year. Testing positive at this cut-off value may establish the diagnosis of peripheral polyneuropathy in clinically suspected

cases with (96.6 %) confidence (table 4). The optimum cut-off value for the glycated hemoglobin, which is associated with 87.5% sensitivity and 53.8 % specificity, is 8.8%. Testing positive at this cut off value may establish the diagnosis of peripheral polyneuropathy in clinically suspected cases with (94.5 %) confidence.

Table (3): ROC area for selected quantitative indices when used as a test to predict polyneuropathy among diabetics

	ROC area	P
Duration of the Disease	0.864	<0.001
Plasma HbA1c %	0.775	<0.001

Table (4): Validity parameters for selected quantitative parameters indices when used as a test to predict polyneuropathy among diabetics

Positive if ≥ cut-off value	Sensitivity	Specificity	Accuracy	PPV at pretest probability = 90%	NPV at pretest probability = 10%
Duration of the Disease in year					
6.5	83.9	73.1	80.5	96.6	97.6
Plasma HbA1c %					
8.8	87.5	53.8	76.8	94.5	97.5

Among sensory nerve conduction study indices all the selected parameters were of high validity to predict polyneuropathy in diabetic patients, but the nerve sensory conduction velocity was of highest validity (AUC = 0.88, $P < 0.001$), followed by median nerve sensory action potential amplitude (AUC = 0.878, $P < 0.001$), while Among the F wave latencies, tibial minimum F wave latency was of highest validity (AUC = 0.891, $P < 0.001$) to predict polyneuropathy. However, among motor nerve conduction study parameters, peroneal nerve motor conduction velocity was of best validity (AUC = 0.82, $P < 0.001$), followed by femoral nerve distal motor latency (AUC = 0.813, $P < 0.001$) (table 5).

Table (5): ROC area for selected sensory and motor nerve conduction indices when used as a test to predict polyneuropathy among diabetics

	ROC area	P
Sural nerve sensory conduction velocity in meter / second	0.88	<0.001
Median nerve sensory nerve action potential amplitude in microvolt	0.878	<0.001
Tibial nerve minimum F wave latency	0.891	<0.001
Peroneal nerve motor conduction velocity in meter/ second	0.82	<0.001
Femoral nerve distal motor latency in millisecond	0.813	<0.001

There were interesting and significant correlations between disease duration and glycated hemoglobin with nerve conduction study parameters. Disease duration was significantly positively correlated with ulnar sensory latency ($r = 0.31$, $P = 0.024$), ulnar and peroneal distal motor latency ($r = 0.294$, $P = 0.033$, $r = 0.288$, $P = 0.036$), and median, peroneal and tibial minimum F wave latency ($r = 0.359$, $P = 0.008$, $r = 0.0347$, $P = 0.011$, $r = 0.316$, $P = 0.021$) whereas negatively correlated with median, ulnar and radial sensory nerve action potential amplitude ($r = -0.349$, $P = 0.01$, $r = -0.411$, $P = 0.002$, $r = -0.312$, $P = 0.023$). Moreover, median and femoral compound muscle action potential amplitude ($r = -0.335$, $P = 0.014$, $r = -0.449$, $P = 0.047$) respectively and tibial and femoral motor nerve conduction velocity ($r = -0.476$, $P < 0.001$, $r = -0.465$, $P = 0.039$) are also significantly negatively correlated with duration of the disease (table 6).

In addition to that, Plasma HbA1c% was significantly positively correlated with radial and sural sensory latency ($r = 0.31$, $P = 0.029$, $r = 0.36$, $P = 0.003$) and tibial minimum F wave latency ($r = 0.385$, $P = 0.026$) whereas negatively correlated with median, sural sensory nerve action potential amplitude ($r = -0.244$, $P = 0.047$, $r = -0.414$, $P = 0.001$), peroneal motor nerve conduction velocity ($r = -0.479$, $P = 0.002$) and femoral, musculocutaneous compound muscle action potential amplitude ($r = -0.331$, $P = 0.018$, $r = -0.367$, $P = 0.024$) respectively (table 7).

All The diabetic patients with positive history of (numbness, parathesia, muscle cramp or pain and decreased muscle power) showed significantly higher plasma HbA1c and longer disease duration compared to those without these clinical findings (tables 8-11). Numbness and paresthesias were associated with highest accuracy, specificity and sensitivity for diagnosing polyneuropathy in patient with diabetes mellitus followed by absent vibration sensation test.

Table (6): Correlations between selected parameters in diabetic patients with polyneuropathy

Parameter	Median nerve Fmin latency in milisecond	Median nerve sensory action potential amplitude in microvolt	Ulnar nerve sensory nerve action potential amplitude in microvolt	Ulnar nerve sensory latency in milisecond	Peroneal nerve distal motor latency in milisecond	Proneal nerve Fmin latency in milisecond	Tibial nerve Fmin latency in milisecond	Tibial nerve motor conduction velocity in meter / second	Femoral nerve motor conduction velocity in meter / second	Femoral nerve motor compound action potential amplitude in microvolt
Duration of the disease	r= 0.359 P = 0.008	r=-0.349 P = 0.01	r=-0.41 P=0.002	r=0.31 P=0.024	r=-0.288 P=0.036	r=-0.347 P=0.011	r=0.316 P=0.021	r=-0.476 P<0.001	r=-0.465 P=0.039	r=-0.449 P=0.047

Table (7): Correlations between selected parameters in diabetic patients with polyneuropathy

Parameter	Median nerve sensory action potential amplitude in microvol	Radial nerve sensory latency in millisecond	Sural nerve sensory nerve action potential amplitude in microvolt	Sural nerve sensory latency in milisecond	Peroneal nerve motor conduction velocity in meter / second	Tibial nerve Fmin latency in milisecond	Femoral nerve compound muscle action potential amplitude in microvolt	Musculocutaneous nerve motor compound action potential amplitude in microvolt	Median nerve sensory action potential amplitude in microvol	Radial nerve sensory latency in millisecond
Plasma HbA1c	r = -0.244, P = 0.047	r = 0.31, P = 0.029	r = - 0.414 P = 0.001	r = 0.36, P = 0.003	r = -0.479, P = 0.002	r = 0.385, P = 0.026	r = - 0.331, P = 0.018	r = - 0.367, P = 0.024	r = -0.244, P = 0.047	r = 0.31, P = 0.029

Table (8): Mean values of duration of disease, plasma HbA1c in diabetic patients with positive and negative history of paresthesia

	Parathesia		P (t-test)
	Negative (N = 35)	Positive (N= 68)	
Duration of the Disease (Years)			
Mean ± SE	4.6 ± 0.58	10.9 ± 0.73	<0.001
Plasma HbA1c %			
Mean ± SE	9.5 ± 0.46	10.9 ± 0.27	0.013

Table (9): Mean values of duration of disease, plasma HbA1c, in diabetic patients with decreased and normal muscle power

	Muscle power		P (t-test)
	Normal (N= 53)	Decreased (N=51)	
Duration of the Disease (Years)			
Mean ± SE	7.2 ± 0.67	12.7± 1.04	<0.001
Plasma HbA1c %			
Mean ± SE	9.9 ± 0.28	11.5 ± 0.37	<0.001

Table (10): Mean values of duration of disease, plasma HbA1c in dDiabetic patients with positive and negative history of muscle cramp or pain

	Muscle cramp or pain		P (t-test)
	Negative (N = 58)	Positive (N= 53)	
Duration of the Disease (Years)			
Mean ± SE	7.9 ± 0.72	11.7 ± 1.05	<0.001
Plasma HbA1c %			
Mean ± SE	9.2 ± 0.22	12.1 ± 0.34	<0.001

Table (11): Validity parameters for selected tests or criteria when used to diagnose polyneuropathy among diabetics

	Normal nerve conduction	Polyneuropathy	Total	Sensitivity %	Specificity %	Accuracy %
	N	N	N			
Numbness				100.0	76.9	92.7
Negative	20	0	20			
Positive	6	56	62			
Total	26	56	82			
Paresthesia				98.2	80.8	92.7
Negative	21	1	22			
Positive	5	55	60			
Total	26	56	82			
Absent Vibration test				72.7	96.2	80.2
Negative	25	15	40			
Positive	1	40	41			
Total	26	55	81			

DISCUSSION

The sample of the present study included 103 patients with type 2 diabetes mellitus; proper NCS was performed and showed that 56 (54.4%) of them had diabetic peripheral polyneuropathy (DNP). This finding is consistent with finding of Omer *et al.* (8). There were no significant difference in the mean age of studied groups, this indicates that the changes in different parameters observed in the current study were not due to age variability. In addition, diabetic patients had higher body mass index (BMI), which confirms that obesity is an index of insulin resistance and accounts for poor glycaemic control and predispose to peripheral neuropathy and other diabetic complications (5). Interestingly, patients with diabetic polyneuropathy had longer disease duration (table 1). These results are in line with the observation of previous studies (9-11), which showed that incidence of polyneuropathy increases with the increase in the duration of diabetes. However, the current observation is not consistent with result of others (8,12,13). Moreover, diabetic polyneuropathy can be diagnosed as early as with the diagnosis of diabetes at first time or even could be the presenting feature of diabetes (8, 14). Current study was directed towards finding the symptoms, signs and electrophysiological parameters of polyneuropathy that are influenced by these measurable factors: HbA1c and duration of diabetes. Patients with longer duration of diabetes had a greater number of sensory and motor disorders; they had more often the feeling of numbness, paresthesia, muscle cramp or pain a finding consistent with that reported by Kovac *et al.* (15), although sultana *et al.* (13) showed significantly and predominantly early motor nerve involvement rather than sensory fiber in diabetic with neuropathy. The duration of disease also influences the neuropathy pain to appear more often. All clinical signs of polyneuropathy appear more often in patients with longer diabetes duration (Tables 8-11); they develop weakness and decrease of muscle power in legs and arms more often, their

walk is unstable. Moreover result of the present work showed significant positive and inverse correlation of the disease duration with different median, ulnar, sural, peroneal, tibial & femoral nerve electrophysiological parameters, NCS testing reveals axon damage of peripheral motor nerve fiber, as well as the reduced conduction velocity of the peripheral motor and sensory nerves due to the loss of myelin, these important correlation point to the importance of glycemic control and duration of the diabetes in the development of neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus.

In this study, the higher levels of glycemia determined by HbA1c influenced the nerve conduction study parameters specially in diabetic with polyneuropathy, the values of HbA1c showed statistically significant positive and inverse correlation with different sensory, motor and F wave parameters of the studied nerves (tables 6, 7), a finding consistent with that reported by (8, 16) while Kovac show no significant correlation, moreover the plasma level of HbA1c was significantly higher in diabetic patients complaining from sensory and motor symptoms of peripheral nerve dysfunction like (Numbness, parathesia, decrease sense of vibration, pain and decrease in muscle power).

Several studies had been carried out to estimate the value of different electrophysiological parameters in the diagnosis and follow up of diabetic neuropathy (11,17). Among the sensory nerve conduction studies sural nerve sensory conduction velocity (SNCV) was of the highest validity to predict polyneuropathy among diabetic patients with area under the curve (AUC = 0.88, P < 0.001). Similar result were reported by other authors (19,20). While other researchers found that sural nerve sensory nerve action potential (SNAP) amplitude but not the SNCV is the most sensitive parameter (8,21).

Among the F wave latencies, tibial minimum F wave (Fmin) latency was of highest validity (AUC = 0.891, P < 0.001) to predict polyneuropathy a

finding which is in agreement with (22,23) On the contrary, other researcher found that peroneal (Fmin) latency is more sensitive than tibial (F min) latency (17,19), regarding motor nerve conduction study parameters, peroneal nerve motor conduction velocity was of best validity (AUC = 0.82, $P < 0.001$) which is in agreement with others (8,17,24), followed by femoral nerve distal motor latency (AUC = 0.813, $P < 0.001$) (table 5). These results are in accordance to the results of other researchers who reported that some diabetic patients develop proximal neuropathy of the lower limbs, which is characterized by weakness, and pain of proximal parts of lower limb (25).

REFERENCES

1. American Diabetes Association (2011). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabet. care.* 34 (1): 1111-1121.
2. Tesfaye S.; Andrew JM.; Boulton P. Dyck J. *et al.* (2010). Diabetic Neuropathies: Update on Definitions, Diagnostic Criteria, Estimation of Severity, and Treatments. *Diabet. Care.* 33:2285–2293.
3. Wilson NM. and Wright DE. (2011). Inflammatory mediators in diabetic neuropathy. *J. Diabet. Metab.* S5:004.
4. Morkrid K.; Liaquat A. and Hussain K. (2010). Risk factors and prevalence of diabetic peripheral neuropathy: A study of type 2 diabetic outpatients in Bangladesh. *Int. J. Diabet. Dev. Ctries.* 30(1):11-17.
5. Ozgur B. and Saracoglu M. (2010). The effect of obesity on the assessment of diabetic peripheral neuropathy: A comparison of Michigan patient version testand Michigan physical assessment. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 90:256–260.
6. American Diabetes Association. (1988). American Academy of Neurology: Report and recommendations of the San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy (Consensus Statement). *Diabet. Care.* 11:592–597.
7. Bekkelund S.; Torbergesen T. and Omdal R. (1996). Nerve Conduction Studies in Rheumatoid Arthritis. *Scand. J. Rheumatol.* 25: 287-292.
8. Omer Sh H.; Hamdan FB. and Wafi NA (2008). The use of electrophysiological studies in the early diagnosis of subclinical neuropathy in type 2 diabetes mellitus. *Kurd. Acad. J.* 6 A (1): 1-9.
9. Boulton AJ.; Malik RA.; Arezzo JC. and Sosenko JM. (2004). Diabetic somatic neuropathies. *Diabet. Care.* 27: 1458-1486.
10. Harati Y. (2007). Diabetic neuropathies: unanswered questions. *Neurol. Clin.* 25 (1):303-317.
11. Karvestedt L.; Martensson E. and Grill V. (2009). Peripheral Sensory Neuropathy Associates With Micro- or Macroangiopathy. *Diabet. Care.* 32:317–322.
12. Lee OK.; Ji S N.; and Chul W A. (2012). Insulin resistance is independently associated with peripheral and autonomic neuropathy in Korean type 2 diabetic patients. *Acta. Diabetol.* 49:97–103.
13. Kokogul F.; Leventogul A. and Erdemoglu AK. (2009). Dorsal sural nerve conduction study in early diabetic polyneuropathy patients relation ship of adiponectin and high sensitive –C reactive protein levels. *J. Neurol. Sci. (Turkish).* 26 (4):404-415.
14. Sultana S.; Begum N.; Ali L.; Hossain MM.; Bhowmik NB. and Parveen Z. (2009). Electrophysiological changes of motor nerves in patients with type 2 diabetes mellitus. *JAFMC Bangladesh.* 5(2): 14-17.
15. Vavra MW. and Rubin DI. (2011). The Peripheral Neuropathy Evaluation in an Office-Based Neurology Setting. *Semin. Neurol.* 31:102–114.
16. Kovac IB.; Kovac B.; Slavica M.; Sanja S. and Vida D. (2011). Clinical and electrophysiological signs of diabetic polyneuropathy- effect of glycemia and duration of diabetes mellitus. *Acta. Clin. Croat.* 50:149-157.
17. Tkac I. and Brill V. (1998). Glycemic control is related to the electrophysiologic severity of diabetic peripheral sensorimotor polyneuropathy. *Diabet. Care.* 21:1749-1752.
18. Sheki AA. (2006). The role of different electrophysiological parameter in the Differential diagnosis of Diabetes mellitus and Lumbo-Sacral rdiculopathy : A Master Thesis. Department of Clinical Physiology. Al-Nahrain University, Baghdad, Iraq.
19. RotaE.; Quadri R. and Fanti E. (2005). Electrophysiological findings of peripheral neuropathy in newly diagnosed type II diabetes mellitus. *J. Periph. Nerv. Sys.* 10:348–353.
20. Karsidag S.; Moralia S. and Sarginb M. (2005). The electrophysiological findings of subclinical neuropathy in patients with recently diagnosed type 1 diabetes mellitus: *Diabet. Res. Clin. Pract.* 67: 211–219.
21. Mojaddidi M A.; Aboonq M. and Al-Nozha OM. (2011). Early diagnosis of diabetic neuropathy in Almadinah Almunawwarah. *J. T. U. Med. Sci.* 6(2): 122- 131.
22. Donofrio PD. and Albers JW. (1990). AAEM minimonograph #34: Polyneuropathy classification by nerve conduction studies and electromyography. *Mus. Nerv.* 13: 889–903.
23. Anderson H.; Erik S. and Falck B. (1997). F-wave latency, the most sensitive nerve conduction parameter in patients with diabetes mellitus. *Mus. Nerv.* 20(10): 1296-1302.
24. Carlos P.; Virginia I.; Emilio GB. and Dominguez JR. (1999). comparison of electrophysiological tests for the early diagnosis of diabetic neuropathy. *Mus. Nerv.* 22:1667–1673.
25. Baba M. and Ozaki I. (2001). Electrophysiological changes in diabetic neuropathy: from subclinical alterations to disabling abnormalities. *Arch. Physiol. Biochem.* 109(3): 234-240.
26. Said G. Catherine L. and Pierre L. (2003). Inflammatory vasculopathy in multifocal diabetic neuropathy. *Brain.* 126: 376-385.

Impact of diabetes mellitus on pulmonary functions test

Qassim H. Abdullah, Hazhmat A. Ali and Ihsan H. M. Ali

Dept. of Physiology / School of Medicine / Faculty of Medicine/ University of Duhok / Republic of Iraq

ABSTRACT

Diabetes mellitus is an endocrine-metabolic disorder resulting from insulin insufficiency or dysfunction characterized by hyperglycemia associated with a series of macro and micro vascular complications. The study aimed to evaluate the performance of lung functions during diabetes and establish a relationship between them. The study involved 58 patients with diabetes mellitus and 30 apparently healthy subjects as controls. Pulmonary functions were carried out through measuring FVC, FEV1 and FEV1/FVC ratio, with the use of a computerized spirometer (SpiroLap III).

Among diabetic patients 68.8% showed restrictive lung disease, and lung volumes (particularly in type I) represented by FVC (2.43L) and FEV1 (2.32L) were significantly lower ($P=0.03$ and $P=0.02$ respectively) than those of controls ($FVC=2.83L$ & $FEV1=2.73L$) with no significant difference in FEV1/FVC ratio between them. In addition, restrictive lung disease in patients with positive diabetic complications was significantly higher (51.72% Vs 20.68%, $P = 0.005$) than those with negative complications. Restrictive lung disease was significantly higher in patients with poor glycemic control compared to those with fair and good control.

It was concluded that lungs of diabetic patients may undergo a dysfunction during diabetes represented by subclinical restrictive diseases and its severity become more intense particularly in diabetics with poor glycemic control which provide a clue to the idea that the lung can be a target organ for diabetic complications.

Key words: Diabetes mellitus, diabetic complications, pulmonary functions test

المخلص باللغة العربية

داء السكري هو خلل إفرازي أبيض ناتج عن قصور أو عطل لوظيفة الأنسولين يتميز بزيادة مستوى سكر الدم الناجم عن سلسلة من المضاعفات للأوعية الكبيرة و الدقيقة.

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم أداء وظائف الرئة أثناء مرض السكر و بيان العلاقة بينهما، تضمنت هذه الدراسة 58 مريضاً بداء السكري و 30 شخصاً أصحاء كمجموعة ضابطة. تم اختبار الوظائف الرئوية من خلال قياس FVC، FEV1 و نسبة FEV1 / FVC، باستعمال السبايروميتر المحوسب (SpiroLap III).

أظهرت نتائج الدراسة أن ما نسبته 68.8 % من مرضى السكري كانوا مصابين بتضيق الرئة، و أحجام الرئة (خاصة النوع الأول من السكري) و المتمثل ب FVC (2.43L) و FEV1 (2.32L) كانت أقل بشكل ملحوظ ($P=0.03$ و $P=0.02$ على التوالي) مقارنة مع المجموعة الضابطة ($FVC=2.83L$ و $FEV1=2.73L$) مع عدم وجود اختلاف مهم في نسبة FEV1 / FVC بينهم. ، كما بينت النتائج أن تضيق الرئة عند المرضى المصابين بمضاعفات السكري كان أعلى بشكل ملحوظ (51.72% Vs 20.68%, $P = 0.05$) مقارنة مع الذين ليس لديهم مضاعفات، وكان تضيق الرئة عالياً جداً عند المرضى الذين لديهم درجة السيطرة على مستوى سكر الدم رديء مقارنة مع الذين عندهم درجة السيطرة متوسطة و جيدة.

وقد استنتجت الدراسة أن رثنى مرضى السكري قد تعاني اختلالاً وظيفياً أثناء الإصابة بالمرض و هذا الاختلال يتمثل في التضيق تحت السريري، و تكون شدة الاختلال أكثر حدة خصوصاً في المرضى الذين عندهم فقر السيطرة على مستوى السكر في الدم، وبهذا يمكن القول إن الرئة يمكن أن تكون عضواً هدفاً لمضاعفات السكري.

INTRODUCTION

Diabetes Mellitus (DM) is a mixture of metabolic and endocrine disorders and one of the major worldwide health problems nowadays characterized mainly by hyperglycemia associated with a dysregulation in carbohydrate, fat and protein metabolism that results from insufficiency in insulin secretion or function (1). There are two main types of Diabetes Mellitus; type I or insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) and type II. The first form is immune mediated disorder occurs as a result of autoimmune damage of β -cells in Langerhan's islets leading to a severe deficiency of insulin (2). Type II affects approximately 90% of diabetic populations usually after the fourth decade of age characterized by insulin resistance. Although genetics plays a major role in the incidence of DM, environmental factors have influences as well, such as obesity, unhealthy diet, longevity... etc (3, 4). Diabetes has been associated with a series of complications. Microvascular complications including diabetic retinopathy, nephropathy and neuropathy; whereas macrovascular complications such as coronary artery disease and peripheral vascular disease (5). Lung diseases can be classified into two major categories; obstructive diseases that result from obstruction of the airway passage such as chronic obstructive pulmonary disease, whereas restrictive diseases involve fibrosis of interstitial lung tissue (6). Evaluation of pulmonary functions are performed using spirometry to differentiate between obstructive and restrictive diseases depending on FEV1/FVC ratio (7). A variety of research have been conducted in the context of diabetes complications but very few studies were performed examining the effects of diabetes on lung functions through estimating lung capacities in diabetic patients compared with non diabetic controls. These studies concluded that both type I and type II diabetics develop a decline in lung functions particularly 5 years after the onset of diabetes (8, 9) although there is controversy in other studies (10). We hypothesized that, in addition to the ordinary complications that are developed as a result of diabetes, abnormalities in lung functions may be noticed as well, for that reason this study was designed to evaluate pulmonary functions in diabetes mellitus to prove that whether or not the lung is a target of DM.

PATIENTS AND METHODS

This study was conducted at Duhok Diabetic Centre (D.D.C.) from March 2013 to June 2013. Two groups were included in this study. The first group involved 58 patients with known diabetes mellitus, this group was subdivided into two subgroups. The first subgroup composed of 45 patients with non insulin dependent D.M. (type II diabetes mellitus) (16 Male and 29 female, average age of 44.6 ± 1.07 years). The second subgroup

consisted of 13 patients with insulin dependent diabetes mellitus (type I diabetes mellitus) (8 Male and 5 female, average age of 28.6 ± 1.9 years). All patients were selected randomly from Duhok Diabetes Center.

The second group comprised of 30 apparently healthy subjects (19 male and 11 female, average age of 38.9 ± 1.49 years). All members of this group underwent clinical and laboratory assessments by the researchers to confirm they are free of diabetes or inflammatory conditions.

The acquired data at study entry included age, gender, height, weight, blood pressure, and patient's history including type and duration of diabetes mellitus, diabetic complications, respiratory problems, smoking as well as the medications.

Diabetes was defined by self-report of diabetes diagnosis or use of diabetes drug or if fasting plasma glucose >126 mg/dl (11).

Patients were classified according to HbA1c % into three groups (good control < 6.5 %, fair control $\geq 6.5\%$ - $< 7.5\%$, poor control $\geq 7.5\%$) (12). Diabetic patients of both types were selected carefully using the previously mentioned criteria in the definition of diabetes. Then 10 ml of blood sample was taken both from patients and from controls, one part was sent for complete blood count and HbA1c %, another part was distributed into two tubes (EDTA containing tube to obtain plasma and plain tube to obtain serum). Centrifugation was done for each sample then plasma and serum were distributed into labeled epindorff tubes and frozen at -28°C till time of analysis.

Pulmonary function, Percentage of Oxygen Saturation (SpO_2 %) of Blood and pulse rate were carried out using an instrument Spirolap III colour (a computerized Spirometer, 00155 ROME-Italy). Patients were asked to take a rest for at least 15 minutes, then they were made to undergo pulmonary function test for three times at every 15 minutes interval. Mean of three measurements was taken into consideration.

High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) ELISA, Monobind Inc., USA Kit was used for quantitative determination of high sensitivity C-reactive protein in human serum.

Other biochemical tests like Fasting blood sugar, Lipid profile [total cholesterol level, triglyceride, high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL)], Blood urea and Serum creatinine were also measured in this study using chemical autoanalyzer. HbA1c percentage was estimated using commercial kit (StanbioGlycohemoglobin Pre-File procedure No. P350).

Data were translated into a computerized database structure. All statistical analysis were computer assisted using SPSS version 18 (Statistical Package for Social Sciences). All the outcome quantitative variables were described by mean and SE (standard error), and the independent samples t- test was used to test statistical significance of difference in mean between two groups, while more than two groups

one way ANOVA was used. The differences in proportion of population between two groups and more than two groups were assessed by chi-square test.

P value less than the 0.05 level of significance was considered statistically significant (13).

RESULTS

Results showed highly significant increases in the mean HbA1c%, total W.B.C count, F.B.S hs-CRP in diabetic patients compared with control group, associated with significant decrease in Hb level in diabetic patients (table 1).

Table (1): Comparison of blood sugar, inflammatory marker (CRP) and hematological parameters between diabetic patients and control

Parameters	Diabetics Mean \pm SE	Control Mean \pm SE	P value
Hb g/dl	13.61 \pm 0.22	14.42 \pm 0.33	P = 0.04
HbA1c %	8.5 \pm 0.3	4.94 \pm 0.03	P = 0.001
Total WBC cell/ml ³	8.15 \pm 0.24	6.83 \pm 0.31	P = 0.001
FBS mg/dl	177 \pm 9.22	98.9 \pm 1.39	P = 0.001
hs-CRP mg/dl	9.22 \pm 0.23	3.26 \pm 0.6	P = 0.001

The mean level of both forced vital capacity (FVC) (2.43 Vs 2.83) and forced expiratory volume during the first second (FEV1) (2.32 Vs 2.73) showed significant decreases in patient group compared to control (P=0.03 and P=0.02 respectively). On the other hand, FEV1/FVC %, peak expiratory flow and forced expiratory flow 50% showed no significant alterations (table 2).

Table (2): Comparison of pulmonary function parameters between diabetic patients and control

Pulmonary functions Parameters	Diabetics Mean \pm SE	Control Mean \pm SE	P value
FVC (Liter)	2.43 \pm 0.09	2.83 \pm 0.19	P = 0.03
FEV1 (Liter)	2.32 \pm 0.09	2.73 \pm 0.16	P = 0.02
FEV1 / FVC %	85.9 \pm 0.73	87.3 \pm 0.93	P = 0.3 (NS)
PEF (Liter)	4.23 \pm 0.18	4.58 \pm 0.33	P = 0.3 (NS)
FEF 50%	3.41 \pm 0.13	3.92 \pm 0.28	P = 0.07 (NS)

According to results of pulmonary function test (PFT), 14 (24.13%) of patients revealed normal PFT, 2 (3.45%) showed obstructive lung disease. However, and interestingly majority of patients 42 (72.41%) have PFT consistent with restrictive lung disease (Table 3). Moreover, restrictive lung disease were significantly higher in diabetic patients with positive history of diabetic complications compared to those with negative complications (30 (51.72%) Vs 12 (20.68%), P = 0.005) (Table 4). Additionally, patients with poor glycemic control showed significantly higher restrictive lung disease compared to those with fair & good control (51.72%

Vs 12.06% and 8.62% respectively, P = 0.001) (Table 5). According to the type of diabetes, restrictive lung disease were significantly higher in type I diabetes than type II (100% Vs 63.04%, P = 0.039) (Table 6).

Table (3): Categories of patients according to results of pulmonary function test (PFT)

Diabetics population No. = 58	No. of patients	% of patients
Normal PFT	14	24.13 %
Obstructive	2	3.45 %
Restrictive	42	72.41 %

Table (4): Comparison of pulmonary function according to history of diabetic complications

Diabetes complications	Normal PFT	Obstructive	Restrictive
Positive complications	No. = 10 17.24 %	No. = 1 1.72 %	No. = 30 51.72 %
Negative complications	No. = 4 6.89 %	No. = 1 1.72 %	No. = 12 20.68 %
P value	0.1 (NS)	1 (NS)	0.005

Table (5): Comparison of pulmonary function tests according to glycemic control state

Glycemic control (No. = 58)	Normal PFT	Obstructive	Restrictive
Good control	No. = 5 8.62 %	Zero 0 %	No. = 5 8.62 %
Fair control	No. = 2 3.44 %	No. = 1 1.72 %	No. = 7 12.06 %
Poor control	No. = 7 12.06 %	No. = 1 1.72 %	No. = 30 51.72 %
P value	0.2 (NS)	1 (NS)	0.001

Table (6): Comparison of pulmonary function test according to type of diabetes

Diabetes type (No. = 58)	Normal PFT	Obstructive	Restrictive
Type I No. = 13	Zero 0 %	Zero 0 %	No. = 13 100 %
Type II No. = 45	No. = 14 30.43 %	No. = 2 4.35 %	No. = 29 63.04 %
P value			0.039

DISCUSSION AND CONCLUSION

Current results showed a highly significant elevation in the inflammatory markers (hs-CRP and the total WBC count) in diabetic patients compared with control (P = 0.001). Such findings indicate that inflammation is enhanced in diabetes i.e. there is existence of systemic inflammation during the pathogenesis of diabetes which is triggered by hyperglycemia and this statement is strongly approved in previous studies (14-16). In addition,

there is an association between glycemic status and systemic inflammation in diabetic patients (17,18). Previous literature indicated that hyperglycemia can be regarded as an inducer of the inflammatory response in lungs during diabetes (19). Histological examination of biopsies taken from streptozotocin induced diabetes rats showed alterations in the structure of interalveolar septum, Clara cells and alveolar walls, which revealed signs of inflammation in the basal laminae of alveoli and alveolar epithelia (20). Other studies showed an increase in intravascular macrophages suggesting the presence of inflammation (21, 22).

Regarding pulmonary performance in diabetes, this study demonstrated a significant decrease in both FVC and FEV1, although the FEV1/FVC ratio was elevated and statistically not significant. Furthermore, majority of diabetic patients revealed abnormal lung function test of restrictive type. Although there is controversy regarding the impact of diabetes on lung functions (23), previous studies support these findings regarding a remarkable reduction in pulmonary function parameters particularly FEV1 and FVC in diabetic subjects (24-28). In the current study, the restrictive lung disease was significantly higher in diabetic patients with poor glycemic control. The possible mechanism could be due to up regulation of systemic inflammation that may lead to pulmonary inflammation (29), in addition to non enzymatic glycosylation resulting in destruction of connective tissue of the lung (30, 31). In-vitro exposure of endothelial cells to high levels of glucose enhances inflammatory process by stimulating mitochondria to produce high levels of reactive oxygen species (ROS) which subsequently enhances inflammation (32, 33).

In addition to the influences of diabetes on pulmonary functions, the data of this study confirmed that the diabetic patients who have positive complications are at high risk for developing pulmonary dysfunction particularly restrictive lung diseases. These data illustrate that pulmonary dysfunction in general may be considered one of the complications of diabetes (34-37). Moreover, restrictive lung disease was significantly higher in type I diabetics compared with type II ($P=0.03$); although, it has been found in both types. Accordingly, it can be concluded that patients with type I diabetes are more susceptible to restrictive disease than type II.

In summary, it can be concluded that pulmonary dysfunction in general and restrictive lung diseases in particular may be considered another complication of diabetes specifically in type I diabetics, which emphasize the idea that lungs being a target organ in diabetes. Therefore, it is suggested that diabetics and people who are at risk of developing diabetes should be subjected to pulmonary functions test as a screening test.

REFERENCES

1. Shah A. and Kanaya AM. (2014). Diabetes and associated complications in the South Asian population. *Curr. Cardiol Rep.* 16(5):475-476.
2. Alberti KG. and Zimmet PZ. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 15(7):539-553.
3. Kuzuya T.; Nakagawa S.; Satoh J.; Kanazawa Y.; Iwamoto Y. *et al.* (2002). Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 55(1):65-85.
4. Ko GT.; Chan JC.; Yeung VT.; Chow CC.; Tsang LW.; Li JK.; Ko GT. *et al.* (1998). Combined use of a fasting plasma glucose concentration and HbA1c or fructosamine predicts the likelihood of having diabetes in high-risk subjects. *Diabet. Care.* 21(8):1221-1225.
5. Colman PGI.; Thomas DW.; Zimmet PZ.; Welborn TA.; Garcia-Webb P. and Moore MP. (1999). New classification and criteria for diagnosis of diabetes mellitus. The Australasian working party on diagnostic criteria for diabetes mellitus. *N Z. Med. J.* 23 (1086):139-141.
6. Eisenbarth GS. (1986). Type I diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 314:1360-1368.
7. Giugliano D.; Ceriello A. and Paolisso G. (1996). Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabet. Care.* 19(3):257-267.
8. American Diabetes Association. (2008). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabet. Care.* 31: 161-169.
9. Pradhan D.; Manson E.; Rifai N.; Buring E. and Ridker M. (2001). C-Reactive protein, Interleukin 6 and Risk of developing type 2 diabetes mellitus. *J. Am. Med. Assoc.* 286: 227-234.
10. National Diabetes Data Group. (1979). Classification and diagnosis of Diabetes Mellitus and other Categories of Glucose Intolerance. *J. Diabet.* 28: 1039-1057.
11. Larsson H.; Berglund G.; Lindgard F. *et al.* (1998). Comparison of ADA and WHO criteria for diagnosis of diabetes and glucose intolerance. *Diabetol.* 41: 1124-1125.
12. Mehrotra R.; Kalontar-Zadeh K. and Alder S. (2011). Assessment of glycemic control in dialysis patients with diabetes: glycosylated hemoglobin or glycated albumin? *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 6 (7): 1520-1522.
13. Engstrom G.; Hedblad B.; Nilsson P.; Wollmer P.; Berglund G. and Janzon L. (2003). Lung function, insulin resistance and incidence of cardiovascular disease: a longitudinal study. *J. Int. Med.* 253:574-581.
14. King A.; Buchanan T.; Mainous A. and Pearson WC. (2003). Reactive protein and glycemic control in adults with diabetes. *Diabet. Care.* 26: 1535-1539.

15. Souza J.; Oliveira R.; Blotta M. and Coelho O. (2008). Serum Levels of Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-18 (IL-18) and C-Reactive Protein (CRP) in Patients with Type-2 Diabetes and Acute Coronary Syndrome without ST-Segment Elevation. *Arq. Bras. Cardiol.* 90(2) : 86-90.
16. Tong P. and Chan J. (2004). White blood cell count is associated with macro- and microvascular complications in Chinese patients with Type 2 diabetes. *Diabet. Care.* 27:216–222.
17. Preciado-Puga MC.; Malacara JM.; Fajardo-Araujo ME.; Wröbel K.; Wröbel K.; Kornhauser-Araujo C. and Garay-Sevilla ME. (2014). Markers of the Progression of Complications in Patients with Type 2 Diabetes: A One-year Longitudinal Study. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabet.* 122(8): 484-490.
18. Kalnina J.; Jakus V.; Glejkova M.; Kuracka L. and Sandorova E. (2014). Impact of glycemic control on advanced glycation and inflammation in overweight and obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Bratis. Lek. Listy.* 115(8):457-468.
19. Strojek K.; Ziara D.; Sroczynski JW. *et al.* (1992). Pulmonary complications of type 1 diabetic patients. *Diabetol.* 35:1173-1176.
20. Sandler M.; Bunn AE. and Stewart RI. (1986). Pulmonary function in young insulin-dependent diabetic subjects. *Chest.* 90(5):670-675.
21. Francisco V.; Jorge H.; Eduardo M.; Angel G.; Lopez L.; Javier S. *et al.* (2008). Diabetes induces pulmonary artery endothelial dysfunction by NADPH oxidase induction. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 295: L727-L732.
22. Luiz J.; Nelson K.; Marilene P.; Alexandre D. and Norma P. (2009). Experimental diabetes mellitus: oxidative stress and changes in lung structure. *J. Bras. Pneumol.* 35(8):788-791.
23. Haffner SM. (2003). Insulin resistance, inflammation and the prediabetic state. *Am. J. Cardiol.* 18:18-26.
24. Engstrom G.; Hedblad B.; Nilsson P.; Wollmer P.; Berglund G. and Janzon L. (2003). Lung function, insulin resistance and incidence of cardiovascular disease: a longitudinal study. *J. Int. Med.* 253:574–581.
25. Nishikawa T.; Edelstein D.; Du XL.; Yamagishi S.; Matsumura T.; Kaneda Y. *et al.* (2000). Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 404: 787–790.
26. Shravya G.; Sharan M.; Hari B.; Suresh M.; Preetham J. K. and Mallikarjuna N. (2012). Deterioration of pulmonary functions in type 2 diabetes mellitus. *J. Pharm. Biol. Sci.* 1(1): 39-43.
27. Kanya DH.; Nataraj S. M. and Devaraj H. S. (2011). Correlation of duration of diabetes and pulmonary function tests in type 2 diabetes mellitus patients. *J. Biol. Med. Res.* 2(4): 1168 -1170.
28. Irfan M.; Haque A.; Awan H. and Hussain S. (2011). Pulmonary functions patient with diabetes mellitus. *Lung India.* 28: 89-92.
29. Kaparianos A.; Argyropoulou E.; Sampsonas F.; Karkoulas K.; Tsiamita M. and Spiropoulos K. (2008). Chronic complications in diabetes mellitus. *Chron. Resp. Dis.* 5: 101–108.
30. Shravya G.; Sharan M.; Hari B.; Suresh M.; Preetham K. and Mallikarjuna N. (2012). Deterioration of pulmonary functions in type 2 diabetes mellitus. *JPBS.* 1: 39-43.
31. Shah SH.; Sonawani P.; Nahar P.; Vaidya S. and Salvi S. (2013). Pulmonary function tests in type 2 diabetes mellitus and their association with glycemic control and duration of the disease. *Lung India.* 30: 108-112.
32. Augusto L.; Ross L.; David S.; Debbie D. and Scott W. (2005). Lung function in type 2 diabetes: the Normative Aging Study. *Resp. Med.* 99: 1583–1590.
33. Amal A.; Gehan H.; Mohamed A. and Alaa R. (2013). Pulmonary function changes in diabetic lung. *Egypt. J. Chest Dis. Tubercul.* 62: 513–517.
34. Carlos B.; Ervin S.; Mordechai K.; Joseph L.; Ilana B. and Gershon F. (2001). Pulmonary function in patients with diabetes mellitus. *Am. J. Med. Sci.* 322(3):127–132.
35. Kaminsky DA. (2004). Spirometry and diabetes; implications of reduced lung functions. *Diabet. care.* 27(3): 752-757.
36. Gita S.; Mohammad Kh.; Nader R.; Rokhsareh A. and Mojtaba M. (2013). Alteration of pulmonary function in diabetic nephropathy. *J. Diabet. Metab. Disord.* 12: 15-19.
37. Michael G. (2003). Lung dysfunction in diabetes. *Diabet. Care.* 26(6): 1915-1918.

The outcomes of parents' education in control of children with Insulin dependent diabetes mellitus in Baquba – Diyala – Iraq

Dawood S. Al- Azzawi

College of Medicine / University of Diyala / Republic of Iraq

ABSTRACT

The current study was conducted to find the relation between parents' education in children having type one diabetes mellitus (TI DM) up to 15 years old, with the control of the disease as regards to the occurrence and frequency of acute complications and the results of HbA1c. A group of type 1 insulin dependent diabetic children who registered in diabetic center in Baquba city- Diyala-Iraq were studied for some acute complications and their parents' education.

This cross-sectional study included one hundred children having IDDM in the age group of <1 year up to 15 years who attended the diabetic clinic in Baquba city- Diyala –Iraq during the period March.2013 –Feb.2014. Data was collected from patients and their relatives by direct interview and some other data were collected from the case-sheets of the patients. The data included ; the presenting complaint, patient age , sex, number of admissions to hospital, type and number of acute complications (hypoglycemia, attacks of ketoacidosis and UTI) occurred to the patients during this period, level of HbA1c and the level of education of parents.

The total number of patients were 100 males 46 and 54 females, 4% of them were below 2 years, 13% between 2-5 years and 83% were between 5-15 years. The number of complications (diabetic ketoacidosis and hypoglycemic attacks) were high percentages among patients with low-education parents, while there was few to nearly zero % among those with highly educated parents, and it was found that 24% of diabetic males have frequent attacks of urinary tract infections(UTI) while affected diabetic females with UTI was 57%.

It is concluded that there is a clear relationship between parents' education and control of their diabetes, which lead to recommend that parents education should be estimated as part of the management of these patients, and to create group lectures and symposium work shops to parents who have patients with TI DM to educate the parents and to transform the information between them.

Key words: diabetes mellitus, HbA1c, ketoacidosis, hypoglycemic attacks

الملخص باللغة العربية

تمت دراسة مجموعة من الأطفال الذين كانت أعمارهم أقل من سن الخامسة عشر المصابين بمرض السكر المعتمد على الانسولين نوع (1) (TI DM) الذين تم تسجيلهم مسبقاً في مركز السكر في بعقوبة ديالى – العراق ، من حيث حدوث بعض المضاعفات الحادة مع مستوى التعليم لدى والديهم، لغرض البحث عن وجود علاقة بين مستوى تعليم الآباء والأمهات والسيطرة على مجريات المرض ومضاعفاته لدى الأطفال.

شملت الدراسة مائة طفل من الذين حضروا بصورة دورية عيادة السكر في بعقوبة / ديالى خلال الفترة من شهر آذار عام 2013 ولغاية شهر شباط عام 2014، وقد تم جمع البيانات من المرضى و ذويهم من خلال المقابلة المباشرة كما جمعت بعض البيانات الأخرى من ملفاتهم وسجلاتهم المرضية المتوفرة في المركز ، وشملت البيانات : عمر وجنس المريض و عدد مرات الدخول إلى المستشفى، و نوع وعدد المضاعفات الحادة (نقص السكر في الدم والحمضية الكيتونية والتهابات المجاري البولية) التي حدثت للمرضى خلال هذه الفترة ، ومستوى نسبة HbA1c ومقارنتها بمستوى تعليم الوالدين.

بلغ إجمالي عدد المرضى 100، الذكور 46 والإناث 54 . وكان 4 % منهم أقل من عمر 2 سنة، و 13 % اعمارهم تتراوح بين 2-5 سنوات و 83 % تتراوح اعمارهم بين (5-15 سنة) . ومن خلال الدراسة تبين ان عدد من المضاعفات (الحمضية الكيتونية وانخفاض سكر الدم) شكلت نسبة مرتفعة بين المرضى الذين والديهم لا يتمتعون بمستوى تعليم عالي في حين كان عدد قليل إلى ما يقرب من الصفر % بين المرضى الذين والديهم متعلمين تعليماً عالياً ، و تبين أيضاً أن 24% من المرضى الذكور يصابون بالتهابات متكررة في المسالك البولية، في حين كانت نسبة إصابة الإناث 57 % .

استنتجت الدراسة وجود علاقة واضحة بين مستوى التعليم عند أولياء الأمور للمرضى المصابين بداء السكر المعتمد على الانسولين والسيطرة على المرض ومضاعفاته، وبناء على ذلك، يجب التركيز على تثقيف الوالدين كجزء مكمل لإدارة علاج المرض من خلال إقامة المحاضرات و الندوات وورش عمل مشتركة للوالدين.

INTRODUCTION

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disorder of multiple etiologies characterized by chronic hyperglycemia due to defective insulin secretion or defective insulin action or both. It is common metabolic disease in man (1).

Insulin dependent diabetes mellitus is also known as juvenile DM. It is the commonest type in childhood. It occurs due to defective insulin secretion as a result of B-cell destruction in the pancreas (immune-mediated) usually leading to an absolute insulin deficiency (1,2).

Type II diabetes mellitus (TII-DM): Non-insulin dependant diabetes mellitus (NIDDM), formerly known as adult-onset diabetes maturity-onset diabetes (MOD). It occurs as a result of insulin resistance with relative insulin deficiency (2).

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is another presentation of diabetes.

Abnormal carbohydrate tolerance may also occurs in children who have a strong family history of diabetes type II in a pattern of dominant inheritance and require treatment with insulin (3).

In type I DM, there is no clear pattern of inheritance. Family history is present in 10% of cases. Considerable evidences now support an autoimmune basis for development of T I DM, and autoimmune destruction of pancreatic islets, as there are islet cells antibodies (ICA), increase prevalence of T I DM among persons with Addison disease, Hashimoto thyroiditis and pernicious anemia (4).

T1DM is frequently associated with certain histocompatibility antigens HLA particularly HLA-B8 -DR3 -B/W15 and -DR4.

Epidemic of mumps, rubella and coxsackie viral infections had been associated with subsequent increase in incidence of T I DM. Stress and exposure to certain chemical toxins have been implicated for development of T I DM (4).

The prevalence of T1DM among school-aged children in USA is about 1.9/1000. Incidence varies from 8 to 17 per 100,000 in Northern Europe and USA, with a high of about 35 per 100,000 in Scandinavia to a low of 1 per 100,000 in Japan and China.

The frequency is highly correlated with increasing age. Males and females are equally affected and there is no apparent correlation with socioeconomic status.

Peak of presentation occurs in two age groups; at 5-7 years of age and at puberty, 1st peak corresponds to the time of increased exposure to infectious agents, while the 2nd peak is correspond to the pubertal growth spurt induced by gonadal steroids, which may antagonize insulin action and to the emotional stresses of puberty. Seasonal variation; more frequency appears in autumn and winter months (4,5).

In T1DM, insulin serum level may be even zero. The pathogenesis includes destruction of 90% of the B-cell in the pancreas. Insulin is anabolic hormone, which leads to an increase in the uptake of glucose

by the liver cells and muscles and increase of synthesis of lipids and proteins. Thus, a decrease in insulin leads to decrease in uptake of glucose and leads to hyperglycemia. It also leads to a break down of lipids and proteins, which lead to ketone bodies formation, thus chronic hyperglycemia more than 180mg/dl leads to glucosuria, which leads to polyurea and polydypsia and muscle wasting and dehydration. Ketoacidosis leads to hyperventilation with lethargy and sometimes coma and death ensue in few months (5,6).

The natural history included 4 distinct stages: 1) preclinical β -cell autoimmunity with progressive defect of insulin secretion, 2) onset of clinical diabetes, 3) transient remission "honeymoon period," and 4) established diabetes associated with acute and chronic complications and decreased life expectancy (6,7).

At early presentation, acute onset duration varies but it often less than one month. These include polyurea, polydypsia, weight loss, polyphagia, nocturia, secondary enuresis, which means enuresis in a previously toilet-trained child, pyogenic infections of the skin and monilial vaginitis in teenage girls.

At late presentation, ketoacidosis may be responsible for initial presentation of many diabetic patients, history of polyurea, polydypsia, nausea, vomiting, lethargy, poor concentration (defective school performance), abdominal pain with or without acute abdomen, hyperventilation with fruity odor, and drowsiness from disorientation to coma and signs of dehydration (8).

Diagnosis of T1DM depends on clinical and laboratory findings, such as random blood sugar more than 200mg/dl is diagnostic and urine test glucosuria.

The families should be aware about several issues related to diabetic patients they have. Such issues are: the nature of the diabetes mellitus, the control of the disease and its complications (acute hypoglycemia and ketoacidosis) and injection site problems.

The injection site problems include:

1- Lipohypertrophy, which occurs due to insulin injection, or due to Ag-Ab reaction.

2- Skin lesion: the site of injection has susceptibility for infection as candidiasis, pustules, thick skin side effect of insulin treatment as necrobiosis and lipodibetozonum.

Another diabetes consequence is impaired vision, which results from a transient change in osmotic pressure of the lens leading to early blindness.

Late complications also include hepatomegaly, that is described as a fluctuation between hypo and hyper glycemia in poorly controlled T1DM patients, which leads to glycogen deposits in the liver leading to hepatomegaly.

Then, joint contracture is one of the late complications of diabetes, that is described as a finger flexion deformity with adherent skin, growth failure occur in poorly controlled diabetic, with association to hypothyroidism (9,10).

HbA1c measurement of the level of glycosylated hemoglobin is a good indicator for long-term glycemic control. It results from non-enzymatic reaction between glucose and hemoglobin (HbA_{1c}), (normally 5% of adult Hb is glycosylated). It reflects the average blood- glucose level in the last 2 months. It should be measured every 3months, and it should not be more than 7% (good control), but in case of poor control it may reach 12 % (11,12).

PATIENTS AND METHODS

One hundred children with the age ranged from <1-15 years who attended the diabetic center in Baquba city- Diyala Governorate –Iraq during the period (March.2013 –Feb. 2014), and having T1DM diabetes were included in this study. Data were collected from the patients and their relatives by direct interview. Some data were collected from the case-sheets of the patients. Data included the presenting complaint, patient age and sex distribution, number of admission to hospital, type and number of complications and results of frequent measurements of the level of glycated hemoglobin (HbA_{1c}). The records of the level of the education of the parents of each patient were done and their knowledge about the disease of their children regarding the management were discussed. The necessary daily investigations such as diet regulation, insulin routes of administration, exercise tolerance and its effects on insulin dose regulations were discussed, as well as the psychological aspects of both of them. Furthermore, their knowledge about the different complications of the disease whether acute complications or late and chronic complications later on in regards to methods of prevention and treatment were discussed. Thus, in this cross-sectional study; few frequent acute complications (hypoglycemia, diabetic ketoacidosis, and urinary tract infections) and the level of HbA_{1c} were studied and correlated with educational status of their parents.

RESULTS

Table (1) showed the distribution of patients with T1 DM according to age and sex. 4% of patients were below 2 years, 13% between 2-5 years, 83 % of them between 5-15 years, 46% were males and 54% were females.

Table (1): Distribution of patients with T1 DM according to age and sex

Age	No.	Male	Female	%
< 2 y	4	3	1	4%
2-5 y	13	6	7	13%
5-15 y	83	37	46	83%
Total No	100	46	54	

Table (2) described the level of the education of parents' education.

Table (2): Distribution of the patients according to the parental education

Level of parental education	Number of patient according parental education
Not educated	20
Primary school	40
Secondary school	30
College level	5
Post- graduate level	5

Table (3) showed the distribution of patient according to complications (DKA) related to parental education. Percentage of patients with T1 DM and DKA attack whose parents are not educated is 85%. Percentage of patients with DM and DKA attack whose parents complete primary school is 62.5% . Percentage of patients with T1 DM and DKA attack whose parents complete secondary school is 33.3%. Percentage of patients with T1 DM and DKA attack whose parents complete collage is zero.

Table (3): Distribution of complications (ketoacidosis DKA) in patients with T1 DM according to the level of parental education

Number of patient	DKA	Level of parental education	%
20	17	Not educated	85
40	25	Primary school	62.5
30	10	Secondary school	33.3
5	0	Collage	0
5	0	Post graduate	0

Table (4) showed the distribution of patients according to complication (hypoglycemia) related to parental education. Percentage of patients with T1 DM and hypoglycemia attack whose parents not educated is 80%. Percentage of patients with T1 DM and hypoglycemia attack whose parents complete primary school is 67.5% . Percentage of patients with T1 DM and hypoglycemia attack whose parents complete secondary school is 40% . Percentage of patients with T1 DM and hypoglycemia attack whose parents complete collage is 20%.

Table (4): Distribution hypoglycemia in patients with T1 DM according to the level of parental education

Number of patient	hypoglycemia	Level of parental education	%
20	16	Not educated	80
40	27	Primary school	67.5
30	12	Secondary school	40
5	1	Collage	20
5	0	Post graduate	0

Table (5) showed the distribution of patients according to HbA1c related to parental education. An HbA1c test resulted in less than 5.6 % , which indicated no diabetes between 5.7 % to 6.4 % is an indication of prediabetes and needs to be watched closely higher than 6.5 % is indicative of diabetes results higher than 8 % indicate poor control of diabetes. The general target for people with diabetes is for the glycated hemoglobin to remain less than 7 % .

Table (5): Distribution HbA1c in patients with TI DM according to the level of parental education

Number of patient	HbA1c	Level of parental education
20	>9	Not educated
40	>8.4	Primary school
30	<8.5	Secondary school
5	7.5	Collage
5	7.1	Post graduate

Tables (6,7) showed the results obtained regarding the distribution of complication (UTI urinary tract infections) in patient with TI DM according to the level of parental education and urinary tract infections (UTI) in patient with TI DM according to the sex respectively.

Table (6): Distribution complication (UTI urinary tract infections) in patients with TI DM according to the level of parents' education

Number of patient	UTI	Level of parental education	%
20	17	Not educated	85
40	23	Primary school	57
30	10	Secondary school	33.4
5	1	Collage	20
5	1	Post graduate	20

Table (7): Distribution of urinary tract infections (UTI) in patients with TI DM according to the sex

Male	UTI in male	%	Female	UTI in female	%
46	11	24	54	31	57

DISCUSSION AND CONCLUSION

From logical point of view nearly all educated parents as they have acceptable knowledge about their child disease, they are usually keen and take more care for their diabetic children than those parents who are not educated enough and know very little about diabetes and its complications, but to have a precise idea about this condition this study was arranged among group of diabetic children who were attending the diabetic center in Baqubah - Diyala province.

Meanwhile, this study is compared with other studies of similar purpose in other regions of the world and had nearly the same results.

According to this study, there was 83% of TI DM 1 are between 5-15 year and 13% of TI DM located between 2-5 year old and 4% of TI DM are below 2 years.

In addition, 46% of patient with TI DM were males and 54% of patient with TI DM were females.

In this study, there is about 85% of children with TI DM whose parents are not educated have attack of DKA because their parents forget to give dose of insulin according to the doctor advice, sometime bad storage of insulin, or not regulate the diet according to the doctor advice, also some parents do not visit the diabetic center regularly and according to the date of visiting. There is 62.5% of children with TI DM whose parents completed primary school have attack of DKA and 33% of children with T1DM whose parents completed secondary school have attack of DKA because their parents follow the doctor advice. However, DKA did not occur in children with TI DM whose parents complete collage or postgraduate because their parents follow accurately doctor advice and have high attention about the health condition of their children and they know what is the complication of missing the dose of insulin. There are 80% children whose parents not educated have attack of hypoglycemia because not eating food regularly according to the doctor advice only taking insulin regularly.

As regard to Hb A_{1C} the results of those patients whose parents are highly educated were good control with low figure (good control) while those patients whose parents of low educational level have high figure of HbA_{1c} (bad control) (8,9).

In addition, according to the study, the percentage of UTI in male with TI DM is 24% and the percentage of UTI in female with TI DM is 57%. This study is corresponding with another study published in NCBI journal 2005 October (4,10).

Thus, it is concluded that there is a clear relationship between parents' education and control of their children diabetes.

RECOMMENDATION

Parents; education should be estimated as part of the management of these patients and I suggested to create group lectures and symposium work shops to parents whose have patient with TI DM to educate the parents and to transform the information between them.

REFERENCES

1. Nelson textbook of pediatrics. (2007). 18th ed. USA:W saunders.p.2494-2495.
2. American Diabetes Association. (2008). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabet. Care. 31(Suppl 1):S55-S60.
3. Ali K.; Harnden A. and Edge JA. (2011). Type 1 diabetes in children. BMJ. 342:d294.
4. Leslie ND. and Sperling MA. (2006). Relation of metabolic control to complications in diabetes mellitus. J. Pediatr.108:491-497.
5. Gardner S. Bingley P. and Sawtell P. (1997). Rising incidence of insulin dependent diabetes in children aged under 5 years in the Oxford region: time trend analysis. BMJ. 315-317.
6. Metcalfe M A. and Baum J D. (1991). Incidence of insulin dependent diabetes in children aged under 15 years in the British Isles during 1988. BMJ. 302: 443-447.
7. Diabetes Control and Complications. (2004). Trial Research Group Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus.J. Pediatr. 125:177-188.
8. Bradley C. (2008). Handbook of psychology and diabetes. Switzerland: Harwood Academic Publishers.
9. Hoghughi M. (1998). The importance of parenting in child health. BMJ. 316:15-45.
10. Eiser C. (1998). Chronic child disease: An introduction to psychological theory and research. Cambridge: Cambridge University Press. p.199.
11. Gillespie K.; Bain SC. and Barnett AH. (2004). The rising incidence of childhood type 1 diabetes and reduced contribution of high-risk HLA haplotypes. Lancet 364:1699-1701.
12. Nathan DM. (2003). Long-term complications of diabetes mellitus. N. Engl. J. Med. 328:1676-1685.

Vitamin D level and c-peptide in children at various stages of the Type 1 diabetes mellitus

Noor J. Abbas (1), Firyal H. Al- Obaidi (2) and Njala I. Ayoub (3)

(1) Dept. of Biochemistry / College of Sciences / Al- Mustansirya University (2) Dept. of Pediatric / College of Medicine / Al- Nahrain University (3) College of Medicine / Al- Mustansirya University/ Republic of Iraq

ABSTRACT

Type 1 diabetes mellitus is an autoimmune disease in which the pancreas is unable to respond to secretagogue stimulation with appropriate insulin secretion. Hyperglycemia develops when more than 70-90% of the insulin-producing beta cells are destroyed. An autoimmune destructive process, which plays a central role in the development of T1DM, is facilitated by the subject's own genetic susceptibility and non-genetic factors. Non-genetic factors include viral infections, toxic chemicals, and others. During recent years, there has been increasing interest in the immunomodulating actions of vitamin D in T1DM and other autoimmune diseases.

The current study was performed to find out the relationship of vitamin D deficiency in children with type 1 diabetes mellitus to the control group, and to find out the relationship of vitamin D deficiency at various stages of T1DM, at onset, at honeymoon period and on long duration, with there correlation to FBS, HbA1c, C-peptide and PTH levels.

A prospective study was conducted from November, 2013 to October, 2014. The study group included One hundred and twelve children, 83 patients and 29 children of healthy control group, their age ranged between (1year-14years). Patients with T1DM group were divided into three sub groups as follow: [newly onset diabetes (n=29), Honeymoon diabetes (n=25), long term diabetes (n=29)]. The study included measurements HbA1c, C-peptide, and 25(OH)D. Statistical analysis done by using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 17.

The level of 25(OH)D was deficiency in 34.3% of children with T1DM, and only in 4% of control and the mean level of 25(OH)D were among patients with newly onset and honeymoon DM patients groups (76.76 ± 12.2) (63.0 ± 14.1) respectively at P value = < 0.001 , while in honeymoon and long duration patients groups the mean levels of 25(OH)D were (76.76 ± 12.2) (71.32 ± 4.82) respectively at P value = 0.001 .

The prevalence of vitamin D deficiency in diabetic children was considerably high in comparison to control, and vitamin D was low at onset followed by long duration of T1DM, but higher at honey moon period.

Key words: Type1 diabetes mellitus, vitamin D, C-peptide

المخلص باللغة العربية

يشكل النوع الأول من داء السكري واحدا من أمراض المناعة الذاتية التي يكون فيها البنكرياس غير قادر على إفراز الكمية الكافية من الأنسولين، ويتطور ارتفاع مستوى السكر في الدم نتيجة لتدمير أكثر مما نسبته 70-90% من خلايا بيتا المنتجة للأنسولين، وعملية التدمير الذاتي تلك تلعب دورا محوريا في تطوير النوع الأول من داء السكري، يساعدتها في ذلك العوامل الوراثية والغير وراثية، وتتضمن العوامل الغير وراثية (الإصابات الفيروسية و التعرض للمواد الكيميائية السامة وغيرها)، وقد برز الاهتمام خلال السنوات الاخيرة بشكل متزايد لدراسة تأثير فعالية التنظيم المناعي لفيتامين د على النوع الأول من داء السكري إلى جانب الأمراض المناعية الأخرى، وقد أظهرت بعض الدراسات السابقة أن تناول مكملات فيتامين د خلال السنة الأولى من الحياة قد يسهم في انخفاض درجة التعرض لمخاطر النوع الأول من مرض السكري.

أجريت هذه الدراسة على مجموعة من الأطفال المصابين بداء السكري من النوع الأول، بهدف التعرف إلى علاقة نقص فيتامين د في المراحل المختلفة من داء السكري من النوع الأول، شملت هذه المراحل: المرحلة البدائية، مرحلة شهر العسل لمرض السكر، ومرحلة المدى الطويل وعلاقته مع سكر الدم الصائم، والهيموجلوبين A1C و سي بي تي، وقد تم تنفيذ الدراسة خلال الفترة من شهر نوفمبر / تشرين الثاني من عام 2013 إلى شهر أكتوبر / تشرين الأول من عام 2014، شملت الدراسة مائة واثني عشر شخصا، ثلاثة وثمانين طفلا مريضا وتسعة وعشرين طفلا سليما كمجموعة قياسية ممن تتراوح أعمارهم بين السنة والأربع عشرة سنة، وتم تقسيم مجموعة إلى ثلاثة مجاميع ثانوية (المجموعة البدائية من مرض السكر=29، مجموعة شهر العسل لمرض السكر= 25، ومجموعة المدى الطويل من مرض السكر=29). وجرى قياس مستوى سكر الدم الصائم، والنسبة المئوية للهيموجلوبين المتسكر، سي بي تي 25(OH)D، وتمت معالجة النتائج إحصائيا باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS.

وقد بينت نتائج الدراسة أن نسبة نقص فيتامين د في مجموعة المراقبة بلغت فقط 4% ولكن في مجموعة مرضى السكري بلغت 34.35%، وكشفت النتائج أن متوسط مستوى 25(OH)D بين المرضى مع المجموعة البدائية لمرض السكري ومجموعة شهر العسل لمرض السكري كان (76.76 ± 12.2) و (63.0 ± 14.1) على التوالي عند قيمة ($p < 0.001$)، بينما في مرحلة المدى الطويل لمرض السكري و فترة شهر العسل لمرض السكري كانت المستويات الوسطية ل 25(OH)D (76.76 ± 12.2) (68.01 ± 4.82) على التوالي عند قيمة ($p = 0.001$)، واستنتجت الدراسة أن معدل انتشار نقص فيتامين د (د) لدى الأطفال المصابين بداء السكري من النوع الأول كان مرتفعا، وكان مستوى فيتامين (د) منخفضا في المجموعة البدائية ومجموعة المدى الطويل ولكن مستوى فيتامين (د) كان أعلى في مجموعة شهر العسل.

INTRODUCTION

Diabetes mellitus type 1 (T1D) is a complex disease resulting from the interplay of genetic, epigenetic, and environmental factors (1). Worldwide, the type 1 diabetes epidemic represents an increasing global public health burden, and the incidence of T1D among children has been rising (2). Over the last few decades, there had been an overall increase in the incidence of type 1 diabetes of ~ 3 to 5% per year, and it is estimated that there are ~65000 new cases in children who are less than 15 years old (3,4). This significant worldwide increase in the incidence of T1D suggests the importance of interactions between genetic predisposition and environmental factors in the multifactorial etiology of type 1 diabetes (5,6). Environmental factors implicated so far include infection with enteroviruses or endogenous retroviruses and consumption of milk proteins, as well as the influence of environmental pollutants, variations in gut flora, and vitamin D exposure (2, 6, 7). The incidence of childhood T1DM varies based upon geography, age, sex, family history, and ethnicity. Geographical variation -the incidence of childhood T1DM varies worldwide (8).

Pathogenesis and natural history of type 1 diabetes mellitus:

In T1DM, patients of genetically susceptible develop autoimmune against own beta-cells. What triggers this autoimmune response remains unclear at this time. In some patients, this autoimmune process results in progressive destruction of beta-cells until critical mass of beta-cells is lost and insulin deficiency develops. This leads to the onset of clinical signs and symptoms of T1DM. At the same time, some beta-cells are still presented and may produce enough insulin to provide partial remission of the disease (honeymoon period), but over time, almost all beta-cells are destroyed and the patient becomes totally dependent on exogenous insulin for survival. Over time, some patients develop complications that appear to be related to how much controlled the diabetes has been, as shown in figure (1)(9).

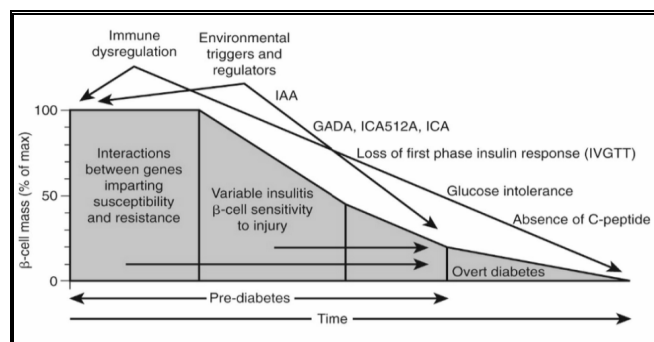


Figure (1): proposed model of the pathogenesis and natural history of T1DM (IAA: insulin autoantibodies; GADA: glutamic acid decarboxylase antibody; ICA: islet cell antibody; IVGTT: intravenous glucose tolerance test)

Vitamin D and type 1 diabetes mellitus:

Central to autoimmune T1DM is immune mediated destruction of pancreatic islet beta cells. According to the American Diabetes Association, about 5% of diabetics in the United States are afflicted with type 1 diabetes, of which 60% of the cases onset after twenty years of age (10). Studies have found associations between low levels of vitamin D and potential increase in risk of T1DM. However, many of the early studies only indirectly observed the link through studies designed to correlate vitamin D levels in pregnancy/childhood to the risk of developing T1DM in children. Another research was conducted among adults and found an association between high vitamin D levels and a decrease risk of multiple sclerosis. An autoimmune disease genetically and epidemiologically related to T1DM suggesting that vitamin D deficiency may be a risk factor for autoimmune pathologies (11). An association had been proposed between vitamin D deficiency and higher risk of T1DM (12). The EURODIAB case-control study reported that children who did not receive a vitamin D supplement during infancy has 1.5 times the risk of T1DM compared to those who received vitamin D supplement (12).

PATIENTS AND METHODS

A prospective study was conducted during the period from November, 2013 to October, 2014. The study group included One hundred and twelve persons, 83 patients were evaluated; (46 girls and 37 boys), their ages ranged between (1 year-13 years), classified as [newly onset diabetes (n=29)] and [Honeymoon diabetes (n=25)], [Long duration diabetes (n=29)]. The study included children who were admitted to Children Central Teaching Hospital and AL- Imam AL-Kadhim in Medical city / Pediatric Department, Baghdad, Iraq. Exclusion criteria included children with chronic renal diseases, children with liver diseases, children with malabsorption, and children with thyroid diseases, while the apparently healthy control group consisted of 29 persons (13 girls and 16 boys), their ages ranged between (1 year -13 years).

Blood specimens were obtained from both patients and control groups. Concentration of 25 hydroxy vitamin D in serum was determined by Specific ELISA Kit for human (25-OH Vitamin D) of DRG instruments GmbH, c-peptide in serum was estimated by Specific ELISA Kit for human of DRG instruments GmbH, and measurement of HbA1C was done by Bio-stand, France.

Statistical Analysis:

The statistical analysis was done by using social sciences software (SPSS version 17) Microsoft excel 2010. Data were presented as mean \pm SD for continuous data and percentages for categorical variables between each two groups were performed by student's t-test, while comparisons among groups were carried out by one-way analysis of variance (ANOVA). For all tests, P-value < 0.05 was considered statistically significant and < 0.0001 was considered highly significant.

RESULTS

In this study, 83 patients were evaluated; 46 girls (55.42%) and 37 boys (44.58%). Their ages ranged between (1years-13years). While the apparently healthy control group in this study was 29 subjects, 13 girls (44.83%) and 16 boys (55.17%).

Table (1) describes mean \pm SD (25-(OH) D) in diabetic children at onset in comparison to control group, there were highly significant differences between control group (92.52 \pm 16.38) and onset DM group (63.0 \pm 14.1) at (P value= <0.001), and the mean \pm SD of 25-(OH) D were of high significant differences between control group (92.52 \pm 16.38) and honeymoon DM group (76.76 \pm 12.2) at P value= <0.001 , and the mean \pm SD of 25-(OH) D were highly significant differences between control group (92.52 \pm 16.38) and long duration DM group (68.01 \pm 4.82) at P value= <0.001 .

Table (1): Biochemical and hormonal (mean \pm SD) of children at three diabetic patients groups and control group by t-test

Parameter	Onset N=29 Mean \pm SD	Honey N=25 Mean \pm SD	P value	Long N=29 Mean \pm SD	Honey N=25 Mean \pm SD	P value
Age (yr)	7.33 \pm 3.58	7.04 \pm 3.45	0.765 N.S	7.57 \pm 2.78	7.04 \pm 3.45	0.535 N.S
Wt (kg)	24.86 \pm 10.6	26.04 \pm 11.45	0.6982 N.S	30.38 \pm 11.29	26.04 \pm 11.45	0.168 N.S
S.25-(OH)D (nmol/l)	63.0 \pm 14.1	76.76 \pm 12.2	<0.001	68.01 \pm 4.82	76.76 \pm 12.2	0.001
S.c-peptide (pg/ml)	1.05 \pm 0.63	1.82 \pm 1.42	0.0119 N.S	1.38 \pm 0.59	1.82 \pm 1.42	0.133 NS
HbA1c (%)	9.8 \pm 2.13	9.34 \pm 1.21	0.344 N.S	8.13 \pm 1.7	9.34 \pm 1.21	0.005

The mean level of 25(OH)D was observed among patients with newly onset DM patients (63.0 \pm 14.1) and honeymoon DM patients (76.76 \pm 12.2) there were highly significant differences at P value= <0.001 , while in honeymoon and long duration patients groups the mean levels of 25(OH)D were (76.76 \pm 12.2) (71.32 \pm 4.82) respectively there were highly significant differences at P value=0.001 (Table 2).

The results of 25(OH)D reflect no significant negative correlation with HbA1C and significant positive correlation with C-peptide as shown in table (3).

DISCUSSION

In recent years, studies suggesting that vitamin D deficiency correlates with the severity and frequency of T1DM and that vitamin D supplementation reduces the risk of developing T1DM have been reported (13). In this study, the 25(OH) D concentration in serum were lower in the three patient groups than control group such as (25-(OH) D) there were highly significant differences between control group and newly onset DM group at P value= <0.0001 , and as well as between control group with honeymoon and long duration DM patients group as shown in table (1), which is in consistent with other studies indicating that type 1 diabetes patients have lower vitamin D levels than control group (14,15). 25(OH) D was significantly lower than the control, this is similar to diabetes incidence study in Sweden (DISS), which showed that 25(OH) D was low at onset compared to the control (16), where the latitude and seasonal variation has been studied and shows to have effect on vitamin D status, in this study the sample were collected from the diabetic patients in autumn and winter and spring (November 2013-May 2014) might explain the lowering of vitamin D status in our sample, but the seasonal variation were not demonstrated in other countries like Lebanon, which was done by (17), and multicenter cohort study in Europe (18), and in Denmark (19). In addition, it was found that 25(OH) D is falsely reduced during ketoacidosis and get increased after the resolution of ketoacidosis, and the direct contribution of 25-OH D deficiency in the acute presentation of DKA remains controversial (20). The low level of vitamin D at onset may be followed by a decrease in preclinical stage of type 1 diabetes as studied in those children who had many of the positive islet auto-antibodies, which showed low level of (25(OH) D) (21). The importance of measurements of vitamin D at onset diabetes had taken advantage for prevention of T1DM by supplementation children with vitamin D and lowering of incidence T1DM. A study was done by hyppene *et al.* (22) found that vitamin D supplementation of 200IU daily (as cod liver oil), given to children, was associated with a lower incidence of T1DM during a follow-up period of 31 years, but was not approved by (21), who showed no protective of preserving beta-cell on vitamin D supplementation. For the other biochemical parameters in T1DM at onset the vitamin D, there was a significant negative correlation with FBS, this is similar to inverse significant relationship between vitamin D and FBS in diabetes patients (22), but no significant negative correlation was shown between vitamin D and HbA1C%. These results are in agreement with another study, which showed the inverse relationship and no significant different between vitamin D and HbA1C in diabetes (23), while significant positive correlation was shown with C-peptide, which in this study differed from study done by (24), who showed no effect on the

preservation of β -cell function and no improvement in C-peptide and HbA1c levels but significantly lower insulin doses.

Table (2): Biochemical and hormonal (mean \pm SD) of children at threediabetic patients groups by t t-test

Parameter	Control N=29 Mean \pm SD	Onset N=29 Mean \pm SD	P value	Control N=29 Mean \pm SD	Honey N=25 Mean \pm SD	P value	Control N=29 Mean \pm SD	Long N=29 Mean \pm SD	P value
Age (yr)	6.45 \pm 2.95	7.33 \pm 3.58	0.3113 N.S	6.45 \pm 2.95	7.04 \pm 3.45	0.5046 N.S	6.45 \pm 2.95	7.57 \pm 2.78	0.142 N.S
Wt (kg)	25.38 \pm 12.76	24.86 \pm 10.6	0.8673 N.S	25.38 \pm 12.76	26.04 \pm 11.45	0.8419 N.S	25.38 \pm 12.76	30.38 \pm 11.29	0.12 N.S
S.25(OH)D (nmol/l)	92.52 \pm 16.38	63.0 \pm 14.1	<0.001	92.52 \pm 16.38	76.76 \pm 12.2	<0.001	92.52 \pm 16.38	68.01 \pm 4.82	<0.001
S.c-peptide (pg/ml)	4.02 \pm 0.68	1.05 \pm 0.63	<0.001	4.02 \pm 0.68	1.82 \pm 1.42	<0.001	4.02 \pm 0.68	1.38 \pm 0.59	0.001
HbA1c (%)	4.58 \pm 0.55	9.8 \pm 2.13	<0.001	4.58 \pm 0.55	9.34 \pm 1.21	<0.001	4.58 \pm 0.55	8.13 \pm 1.7	<0.001

Table (3): Correlation of 25(OH) vitamin D with other parameters in the four study groups

Correlation 25-(OH) vitamin D (nmol/l) with other parameter								
Parameter	Control N=29		Honey DM N=25		Onset DM N=29		Long DM N=29	
	R	P	R	P	R	P	R	P
HbA1c	-0.113	0.559	-0.059	0.087	-0.154	0.051	-0.159	0.067
C-peptide	0.131	0.499	0.136	0.041	0.016	<0.001	0.387	0.038

During honeymoon period diabetes when the need of insulin reduce to 50% of the total daily dose or even much lower. The level of 25(OH) D was significantly higher than that at onset diabetes and they were approaching the cut off value of 25(OH) D 77.75 nmol/l. This is similar to study done by (25), who found better metabolic control when the 25(OH) D kept above 76 nmol/l at 12 week of onset, but in this study, although the 25(OH) D levels were approaching the cut of value but the HbA1C was high and C-peptide was low similar to (21), who found no protective effect of calcitriol (0.25 mg/day) on beta-cell function and metabolic control. The explanation for high HbA1C in this study is that HbA1C need time to be changed after period of 3-4 months and c-peptide remnant is low in comparison to control but is significant higher than that of onset that it depending on the severity of process of inflammation at onset. Honeymoon period is associated with improved metabolic control, near normal insulin sensitivity, and recovery of beta-cell function leading to preservation of endogenous insulin secretion. The hypothesis of supplementation of children and adolescents with vitamin D in newly onset T1DM will halt the destructive process within the beta cell and improve beta-cell function by increasing endogenous insulin secretion and decreasing systemic inflammation, thereby increasing the rate of honeymoon period was approaching by (26).

At this stage, the children depend mainly on exogenous insulin. Measurement of 25(OH) D was significantly lower than that of honeymoon period, but higher than that of the onset diabetes. This study is similar to diabetes incidence study in Sweden (DISS) which showed 25(OH) D was low at 6 years of diabetes duration (16). This might be explained according to urinary loss of VDBP (vitamin D binding protein) following deficiency of low-density lipoprotein-related protein 2 (LRP2), correlated with proteinuria (27). Measurement of 25(OH) D and 1, 25(OH)2 D3 had significant negative correlation with FBS and no significant negative correlation with HbA1C%. These results are in agreement with other studies which shows the inverse relationship but no significant different between vitamin D and HbA1C (28), and (29) the supplementation of vitamin D at this stage for three month decrease the HbA1C in T2DM but not studied yet in T1DM. Other study which shows vitamin D effect on insulin sensitivity, thus the therapeutic intervention of vitamin D at this stage can increase insulin sensitivity so decrease insulin dose, inflammation, HbA1C and prevent complication which, was reviewed by (30).

CONCLUSION

Prevalence of vitamin D deficiency in diabetic children is considerably high in comparison to

control and within the range of reported studies. Vitamin D deficiency varies with different stages of T1DM, it is significantly lower at newly diagnosis of diabetes mellitus, than followed by the long duration T1DM, but they were approaching the cut off value at honeymoon period, and the negative correlation of vitamin D deficiency with HbA1C and positive correlation with C-peptide and significant at all stages only HbA1C insignificant.

REFERENCES

1. Hakonarson H. and Grant S. (2011). Genome-wide association studies (GWAS): impact on elucidating the aetiology of diabetes. *Diabet. Metab. Res. Rev.* 27(7):685–696.
2. Forlenza GP. and Rewers M. (2011). The epidemic of type 1 diabetes: what is it telling us? *Curr. Opin. Endocrinol. Diabet. Obes.* 18(4):248–251.
3. Borchers AT.; Uibo R. and Gershwin ME. (2010). The geoepidemiology of type 1 diabetes. *Autoimmun. Rev.* 9(5):A355–A365.
4. Ehehalt S.; Dietz K.; Willasch AM. and Neu A. (2010). Diabetes Incidence Registry (DIARY) Group. Epidemiological perspectives on type 1 diabetes in childhood and adolescence in Germany: 20 years of the Baden–Württemberg Diabetes Incidence Registry (DIARY). *Diabet. Care.* 33(2):338–340.
5. DiazHorta O.; Baj A.; Maccari G.; Salvatoni A. and Toniolo A. (2012). Enteroviruses and causality of type 1 diabetes: how close are we? *Pediatr. Diabet.* 13(1):92–99.
6. Thomas IH. and Pietropaolo M. (2010). Type 1 diabetes: a genetic Pandora's box? *Pediatr. Diabet.* 11(8):511–512.
7. Sugihara S. (2012). Genetic susceptibility of childhood type 1 diabetes mellitus in Japan. *Pediatr. Endocrinol. Rev.* 10(Suppl 1):62–71.
8. Karvonen M.; Viik-Kajander M. and Moltchanova E. (2000). Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. *Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. Diabet. Care* 23:1516–1520.
9. Alemzdeh R. and Ali O. (1972). Pathogenesis and natural history of type 1 diabetes mellitus: Nelson textbook of pediatrics. 19th Ed. Behrman. Part: XXVI, section 6, chapter 583: P. 583–582.
10. Center for Disease Control and Prevention. (2011). National Diabetes Fact Sheet.
11. Holick MF. (2006). High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clin. Proc.* 81(3):353–373.
12. Hypponen E.; Laara E.; Reunanen A.; Jarvelin MR. and Virtanen SM. (2001). Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet.* 358: 1500–1503.
13. Pozzilli P.; Manfrini S.; Crino A.; Picardi A.; Leomanni C.; Cherubini V. *et al.* (2005). Low levels of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in patients with newly diagnosed type 1 diabetes. *Horm. Metab. Res.* 37:680–683.
14. Raab J.; Eleni Z.; Giannopoulou SS.; Warncke K.; Krasmann M.; Winkler C. and Ziegler AG. (2014). Prevalence of vitamin D deficiency in pre-type 1 diabetes and its association with disease progression. *Diabetol.* 14:3181–3184.
15. Borkar VV.; Devidayal Verma S. and Bhalla AK. (2010). Low levels of vitamin D in North Indian children with newly diagnosed type 1 diabetes. *Pediatr. Diabet.* 11:345–350.
16. Littorin B.; Blom P. and Schölin A. (2006). Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). *Diabetol.* 49(12): 2847–2852.
17. El Baba K.; Zantout M.; Akel R. and Azar S. (2011). Seasonal variation in vitamin D and HbA(1c) levels in patients with type 1 diabetes mellitus in the Middle East. *Int. J. General Med.* 4: 635–638.
18. Rothwell PM.; Gutnikov SA.; McKinney PA.; Schober E.; Ionescu-Tirgoviste C. and Neu A. (1999). Seasonality of birth in children with diabetes in Europe: multicentre cohort study. *Brit. Med. J.* 319(7214): 887–888.
19. Bock T.; Pedersen CR.; Volund A.; Pallesen CS. and Buschard K. (1994). Perinatal determinants among children who later develop IDDM. *Diabet. Care.* 17(10): 1154–1157.
20. Huynh T.; Greer RM. and Nyunt O. (2009). The association between ketoacidosis and 25(OH)-vitamin D3 levels at presentation in children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr. Diabet.* 10(1): 38–43.
21. Bizzarri C.; Pitocco D. and Napoli N. (2010). No protective effect of calcitriol on β -cell function in recent-onset type 1 diabetes: the IMDIAB XIII trial. *Diabet. Care.* 33(9): 1962–1963.
22. Shivaprakash NC. and Joseph RB. (2014). To Study the Relationships between Serum 25-Hydroxy Vitamin D Levels and Plasma Glucose and Lipid Levels in Pediatric Patients in a Rural Hospital. *Int. J. Sci. Stud.* 1(4):24–31.
23. El- Khat tab ST. and Al-Qawmia T. (2013). Vitamin D status in diabetic Egyptian children and adolescents: a case–control study. *Ital. J. Pediatr.* 39:73–80.
24. Pitocco D.; Crinò A. and Di-Stasio E. (2006). The effects of calcitriol and nicotinamide on residual pancreatic β -cell function in patients with recent-onset Type 1 diabetes (IMDIAB XI). *Diabet. Med.* 23(8): 920–923.
25. Aljabri KS.; Bokhari SA. and Khan MJ. (2010). Glycemic changes after vitamin D supplementation in patients with type 1 diabetes mellitus and vitamin D deficiency. *Annal. Saudi Med.* 30(6): 454–508.
26. Stephens KJ. (2014). MD Principal Investigator; Robert P Hoffman, MD, Nationwide Children's Hospital Recruiting Columbus, Ohio, United States, 43205.

27. Thrailkill KM.; Jo CH. and Cockrell GE. (2011). Enhanced excretion of vitamin D binding protein in type 1 diabetes: a role in vitamin D deficiency?. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96 (1): 142–149.
28. Mutlu A.; Mutlu GY. and Hatun S. (2011). Vitamin D Deficiency in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. *Diabet. Care.* 3(4): 179-183.
29. Nwosu BU. and Maranda L. (2014). The Effects of Vitamin D Supplementation on Hepatic Dysfunction, Vitamin D Status, and Glycemic Control in Children and Adolescents with Vitamin D Deficiency and Either Type 1 or Type 2 Diabetes Mellitus. *PLoS ONE* 9(6): e99646.
30. Aljabri KS1.; Bokhari SA. and Khan MJ. (2010). Glycemic changes after vitamin D supplementation in patients with type 1 diabetes mellitus and vitamin D deficiency. *Diabet. Care.* 30(6): 454-458.

Effectiveness of an educational health program on mothers' practices of thalassaemic children who Receive desferal therapy in Hawler Thalassaemia Center/ Erbil City

Kaify J. Qader (1) and Kareema A. Hussein (2)

(1) College of Nursing / Hawler Medical University (2) College of Nursing / Kufa University / Republic of Iraq

ABSTRACT

Thalassaemia is heredity blood disease characterized by decreased synthesis of one of the two types of polypeptide chains (β or α) that form the normal adult human hemoglobin molecule (HbA, $\alpha_2\beta_2$), resulting in decreased filling of the red cells with hemoglobin, and cause anemia. The study aimed to improve mothers' practices of Thalassaemic children who use desferal therapy.

A quasi-experimental study was carried out at Hawler Thalassaemia Center in Erbil City from the 1st of March to the end of May 2010. One hundred mothers were selected and divided into two groups, 50 mothers selecting group one exposed to the educational program (study group) and another group of (50) mothers were not exposed to the educational program considered as (control group).

The results revealed that the mothers' practices in the study group were improved. There is no significant association between mothers' practices with socio-demographic characteristics at pre-test but there is significant association between mothers' practices with their socio-demographic characteristics at post-test of the study group after implementation health educational program.

Most of the mothers in the study group had got benefit from implementation of educational health program on mothers practices of Thalassaemic children who using desferal therapy.

Key words: Thalassaemia, Mothers' practices , Desferal Therapy

المخلص باللغة العربية

يعتبر مرض فقر دم البحر الأبيض المتوسط (الثلاسيميا) من أمراض الدم الوراثية ويتميز بانخفاض تكوين أحد أنواع سلاسل ببتيد (α أو β) لجزيء الهيموجلوبين البشري للبالغين (HbA, $\alpha_2\beta_2$) مما يتسبب في حدوث حالات فقر الدم.

هدفت الدراسة إلى تحسين ممارسات أمهات الأطفال المصابين بمرض فقر دم البحر الأبيض المتوسط والذين يتلقون علاج الدسفيرال. أجريت دراسة شبة تجريبية في مركز هولير للثلاسيميا للفترة من الأول من شهر مارس / آذار إلى نهاية شهر مايو / أيار من عام 2010، وتم اختيار عينة من مائة أم لأطفال مصابين بالثلاسيميا وقسمت العينة إلى مجموعتين: خمسين للمجموعة التجريبية وخمسين أم للمجموعة الضابطة، وجرى تطبيق الاختبار القبلي لكلا المجموعتين ومن ثم تم تطبيق البرنامج التنقيفي الصحي حول كيفية إعطاء علاج الدسفيرال على المجموعة التجريبية وبعدها إجراء الاختبار البعدي لكلا المجموعتين، وتم جمع البيانات من خلال استخدام أداة الاستبيان و تقنية المقابلة المباشرة، وقد تم تحليل البيانات عن طريق برنامج Excel و SPSS الإصدار 17 بقيمة ≥ 0.05 ذات دلالة إحصائية عالية و بقيمة ≥ 0.01 ذات دلالة إحصائية عالية جدا.

أظهرت النتائج أن معلومات الأمهات في المجموعة التجريبية قد تحسنت بعد تطبيق البرنامج التنقيفي الصحي بدلالة إحصائية عالية جدا، كما بينت النتائج عدم وجود علاقة ذات دلالة إحصائية بين ممارسات الأمهات مع الخصائص الاجتماعية والديموغرافية في مرحلة ما قبل الاختبار. وبهذا، فإن أغلب الأمهات في المجموعة التجريبية قد استفادوا من البرنامج التنقيفي الصحي الذي طبق عليهم بما يخص علاج الدسفيرال للأطفال المصابين بالثلاسيميا في مركز هولير للثلاسيميا / مدينة أربيل.

INTRODUCTION

Thalassaemia is the most common genetic disorders worldwide. It is a hereditary hemolytic anemia resulting from defects in hemoglobin production (1). Thalassemsias are classified according to which chain hemolytic of the hemoglobin molecule is affected. In α -thalassemias, production of α globin chain is affected, while in β -thalassaemia production of the β globin chain is affected (2). World Health Organization (WHO) has calculated that about 7 percent of the world's populations carry a haemoglobinopathy gene (3). Thalassaemia (Mediterranean anemia) is the most widespread single genetic disease in the world today. It is estimated to affect up to 270 million people worldwide. In the Mediterranean area, there are 15 to 25 million of healthy carriers (4). It is estimated that 300,000 infants are born with major hemoglobinopathies worldwide, each year 60,000 to 70,000 are born with β -thalassaemia major cases especially in the Mediterranean area, Middle East, Far East, and East Asia. Severe β -thalassaemia accounts for 50,000 to 100,000 deaths per year or 0.5% to 0.9% of all deaths of children under 5 years in low or middle income countries (5). Iraq is one of the countries in which 6-10% of the populations have hemoglobinopathy of which thalassaemia is a major part (6). There are over 2,000 cases of thalassaemia in the Kurdistan Region and Kirkuk (table 1) (7). In Kurdistan region a round 30000 people are carries of β -Thalassaemia. Hawler Thalassaemia center serves about 493 regular registered patients on a daily attendance to follow up and to have blood transfusion of about 20-25 patients per day (7).

Iron chelation therapy is, therefore, necessary to prevent or decrease the iron burden. Iron chelating agent DFO has dramatically reduced the mortality and improved the quality of life in regularly transfused patients (8), and it is largely responsible for doubling the life expectancy of patients with Thalassaemia major (1).

This study included an educational program, which attempted to improve mothers' practices about DFO therapy, using scientific method for giving it, and diet assist them in a way that made children living longer in good health, and improve their quality of life by reduction number of preventable complications of disease mostly occur due to iron overloads.

Table (1): Prevalence of thalassemic patients in the provinces of Kurdistan region/ Iraq

Kurdistan provinces	No. of thalassaemic patients
Hawler	493
Sulaimanyia	550
Dohuk	615
Total	1608

Aim of the study:

The aim of the study was to improve mothers' practices of thalassaemic children using Desferal therapy through implementation of a health educational program.

PATIENTS AND METHODS

A quasi-experimental design was carried out throughout the present study with application of pre-post tests approach for the study and control groups, during the period of 1st of March to the end of May 2010 at Hawler Thalassaemia Center in Erbil City. The purposive non-probability sample was selected which sample consisted of (100) mothers having thalassemic child, they were divided into two groups, one group of (50) mothers exposed to the educational health program (study group) and another group of (50) mothers were not exposed to the educational health program and considered as (control group).

The criteria of the sample selection:

- Mothers who have children were diagnosed as Thalassaemia major and receive Desferal Therapy.
- Mothers of children who are attending Hawler Thalassaemic Center in Erbil city for blood transfusion and follow-up.
- Mothers whom their children age ranged from 3 to 18 years and both gender.

Mothers who are willing to participate in the program and attend regularly in the Hawler Thalassaemic Center in Erbil city.

Data were collected through the use of a questionnaire tool and interview techniques were used as a mean of data collection. The data collected from the period of 28th of March to 27th May 2010 and it was comprised of three major parts: Socio-demographic information about mothers and their children last part including Questionnaire concerning mother's practices.

Statistical analysis:

Data were analyzed by Excel and SPSS version 17 program through the application descriptive statistical data analysis (Frequencies, percentage, mean of score) and inferential statistical data analysis {Chi – Square and Correlated (paired) t-test}.

RESULTS

The results showed that most of mothers' age in the study group were (31-39) years old which present (40%), while in the control group ranged from (40-49) years old which present (34%) majority of mothers were illiterate (66%, 52%) and (56%, 30%) for fathers in both groups respectively. Regarding the mothers' occupation, the majority in the both groups were housewives which present (96%) respectively, most of them in the study and control groups were from urban areas (42%, 36%) respectively and most of the families in the study group were from low socio-economic status, which presents (50%), while in the control group were (54%) from low socio-economic status (table 2).

Table (3) shows that most of children's age were between (3-6) years which presents (40%) in both groups respectively, most of Thalassaemic children were male present (66%, 56%) in the study and control groups respectively. In the study group the highest percentage of absenteeism were (58.3%) for ≥ 2 days, while in the control group were (56.5%) for 1 day.

Table (4) showed that the highest percentages of information sources toward Desferal Therapy in the study and control groups were (46%, 40%) from doctors and nurses respectively.

Table (5) showed that most of the serum ferritin level of Thalassaemic children were ≥ 2500 ng/ml which presented (72%, 70%), highest percentage (68%) and (64%) were initiated Desferal Therapy at age 3-5 years old, while the days of receiving Desferal Therapy/week shows 5-6 days / week, which presented (76%, 84%), majority (86%, 92%) of children receiving tablet of vitamin C in both groups respectively, while (60%, 54%) of children were receiving Desferal Therapy at home by their mothers and most of them (56%, 50%) were did not get training of how using DT to their children in Hawler Thalassaemia Center, in the control and study groups respectively.

Table (6) showed that there is no significant association between mother's practices with their ages at pre-test in study and control groups but there is significant association between mother's practices with their ages at post-test of the study group at $p = 0.011$.

Table (7) indicated that there is no significant association between mothers' practices with their educational level at pre-test in both groups respectively but there is very highly significant association between mothers' practices with their

educational level at post-test of the study group $p = 0.0002$.

Table (8) demonstrated that there is no significant association between mother's practices with their residential area at pre-test in both groups but there is a significant association between mother's practices and their residential area at post-test of the study group $p = 0.047$.

Table (9) demonstrated that there is no significant association between mothers' practices with their residential area at pre-test in both groups but there is a significant association between mother's practices and their residential area at post-test of the study group at $p = 0.041$.

Table (10) showed that there were no significant difference between the study and control groups with Practices relative to pre-test but there were very highly significant difference between the study and control groups with practices relative to post-test.

DISCUSSION

The finding of the present study showed that the majority of mothers' age ranged from (31-39) years old in the study group, while (40-49) years old in the control group. Most of mothers were illiterate and housewives, while fathers' educational were illiterate and most of them were unemployed (Table 2). These results similar to the study of Al-Mosowi (9), who concluded that the majority of the mothers who participated in her study were unable to read and they were housewives (9). The results of the study provided the evidences that the mothers, who selected for the study, were considered as appropriate as possible candidates for the educational program because they had low educational level and were housewives.

A few studies however have been devoted to educational programs (10). In addition, little thought was given to the effects of education on parents of children with Thalassaemia on reduction of this disease. Advances in the management of thalassemia may result in longer life expectancy and improved quality of life. Parents' education can have a significant role in supporting patients who suffer from the disease. Nurses can help to improve knowledge and practices of families having children with Thalassaemia disorder (10). Regarding demographic characteristics of thalassaemic children in the study and control groups (Table 3), the result revealed that most of children's ages were between (3-6) years old, more than half of them they were males in both groups and the highest percentage of absenteeism were ≥ 2 days in the study group, while in the control group were 1 day. These results were supported by Al-Mosowi (9), whose results showed that the most of the thalassaemic children in the study and control groups were males and ages in 6 years old, also consistent with the findings of (11) that exhibited the majority of the thalassaemic children in Hawler City were males.

Table (2): Demographic characteristic of parents of Thalassaemic children

Items		Control group N= 50		Study group N=50	
		F	%	F	%
Mother's age (years)	<30	13	36	12	24
	31-39	15	34	20	40
	40-49	17	30	10	20
	>49	5	10	8	16
Mother's education level	Illiterate	33	66	26	52
	Read and write	4	8	3	6
	Graduated from: primary	9	18	16	32
	intermediate and secondary	2	4	3	6
	institute and college	2	4	2	4
Father's education level	Illiterate	28	56	15	30
	Read and write	3	6	9	18
	Graduated from: primary	13	26	15	30
	intermediate and secondary	3	6	7	14
	institute and college	3	6	4	8
Mother's occupation	Employed	2	4	2	4
	Housewives	48	96	48	96
Father's occupation	Unemployed	45	90	44	88
	Employed	5	10	6	12
Residential area	Urban	42	36	21	42
	Rural	18	32	9	18
	Suburban	40	32	20	40
Socio-economic status of the family	Low	27	54	25	50
	Medium	21	42	23	46
	High	2	4	2	4

N = Number, F = Frequently, % = percentage

Table (3): Demographic characteristics of Thalassaemic children

Items		Control group N= 50		Study group N=50	
		F	%	F	%
Age / years	3	20	40	20	40
	7	13	26	18	36
	11	16	32	7	14
	15	3	6	5	10
Gender	Male	28	65	33	66
	Female	22	44	17	34
school attendance Age / year	6-9	13	26	17	48
	10-13	20	40	13	37
	14-18	5	10	5	14
	Not	12	34.3	14	38
Days of absenteeism / week	Zero	7	30.4	2	8.3
	1	13	56.5	8	33.3
	≥2	3	13	14	85.3

N = Number, F = Frequently, % = percentage

Table (4): Information sources toward Desferal Therapy

Items	Study group		Control group	
	F	%	F	%
Information sources toward Desferal Therapy				
Doctors	23	46	20	40
Nurses	15	30	16	32
Pharmacy and health worker	2	4	2	4
Friends and family	10	20	12	24
Total	50	100	50	100

N = Number, F = Frequently, % = percentage

Table (5): Medical treatment used for Thalassaemic children in both groups

Items		Control group		Study group	
		F	%	F	%
Serum ferritin level	<2500ng/ml	14	28	15	30
	≥2500 ng/ml	36	72	35	70
Age of initial Desferal Therapy /years	3	34	68	32	64
	6	16	32	18	36
Receiving Desferal Therapy days /week	3	12	24	8	16
	5	38	76	42	84
Receiving tablet of vitamin C	Yes	43	86	46	92
	No	7	14	4	8
Getting practice of using Desferal Therapy at Center	Yes	22	44	25	50
	No	28	56	25	50
Who was giving Desferal Therapy at home?	Mother	30	60	27	54
	Father	11	22	15	30
	Self	5	10	5	10
	Sister and brother	4	8	3	6

N = Number, F = Frequently, % = percentage

Table (6): The association between mothers' practices with their ages at pre and post tests of the study and control groups

Mothers age/years	Study group practices								Control group Practices							
	Pre-test				Post-test				Pre-test				Post-test			
	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	Always	Some times	never	Total
≤ 30	86	14	58	158	126	17	15	158	91	19	61	171	92	18	61	171
31-39	127	39	94	260	172	39	49	260	115	15	67	197	116	15	66	197
40-49	64	9	58	131	85	15	31	131	118	23	83	224	118	24	82	224
>49	53	18	35	106	70	20	16	106	32	7	26	65	32	7	26	65
Total	330	80	245	655	453	91	111	655	357	65	235	657	357	63	237	657
	P value = 0.083 NS				P value = 0.011 S				P value = 0.807 NS				P value = 0.791 NS			

P = P value, NS = Not Significant, S = Significant

Table (7): The association between mothers' Practices with their educational level at pre and post tests of the study and control groups

Mother's education	Study group practices								Control study practices							
	Pre-test				Post-test				Pre-test				Post-test			
	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total
Illiterate	158	45	137	340	208	55	77	340	229	40	165	434	230	41	163	434
Read and write	17	4	18	39	20	9	10	39	25	7	20	52	26	7	19	52
Primary	119	22	70	211	165	19	27	211	65	10	43	118	67	11	40	118
Intermediate and secondary	21	4	14	39	34	2	3	39	18	2	6	26	18	2	6	26
Institute and college	15	4	7	26	19	4	3	26	17	5	5	27	18	4	5	27
Total	330	79	246	655	446	89	120	655	356	66	235	657	356	64	237	657
	P value = 0.442 NS				P value = 0.0002 HS				P value = 0.316 NS				P value = 0.272 NS			

P = P value, NS = Not Significant, S = Significant

Table (8): The association between mother's practices with their occupation at pre and post tests of the study and control groups

Mother's occupation	Study group								Control group							
	practices								practices							
	Pre-test				Post-test				Pre-test				Post-test			
	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total
Employed	15	4	7	26	22	2	2	26	17	5	5	27	18	4	5	27
Housewives	315	75	239	629	385	75	169	629	338	58	234	630	339	59	232	630
Total	330	79	246	655	407	77	171	655	356	64	237	657	356	62	239	657
	P value =0.509 NS				P value =0.047 S				P value =0.073 NS				P value =0.136 NS			

P = P value, Hs = Highly Significant, NS = Not Significant

Table (9): The association between mother's Practices with their residential at pre and post tests of the control and study groups

Residential	Study group								Control study							
	Practices								Practices							
	Pre-test				Post-test				Pre-test				Post-test			
	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total	always	Some times	never	Total
Urban	138	39	99	276	201	42	33	276	136	26	75	237	137	24	76	237
Rural	62	9	47	118	82	11	25	118	104	21	84	209	106	21	82	209
Suburban	130	33	98	261	171	38	52	261	114	17	80	211	115	17	79	211
Total	330	81	244	655	454	91	110	655	356	64	237	657	356	62	239	657
	P value =0.502 NS				P value =0.041 S				P value =0.327 NS				P value =0.494 NS			

P = P value, NS = Not Significant, H S = Highly Significant

Table (10): Comparative difference between practices, scores of the pre and post-test, after the application of the educational program of the study group and Comparative difference between, practices, scores of the pre and post-test, of the control group

Groups	Variables	Pre-test X	Post-test X	p-value	C.S
Control	Practices	18.9	19.18	0.09	NS
Study	Practices	18.6	23.3	0.000	HS

Regarding to information sources toward Desferal Therapy (DT), the best sources information toward DT were obtained from doctors and nurses (Table 4). This result is in agreement with the result of (12), who reported that the majority of thalassaemia parents get information about Thalassaemia from doctors and nurses. In the present study, most of Thalassaemic children have serum ferritin level ≥ 2500 mg/ml, which presented (72%, 70%), initiated Desferal Therapy at age 3-5 years old, receiving Desferal Therapy/week for 5-6 days / week at home by their mothers and some of them

did not get training of how using DT to their children for both groups (Table 5). Thalassaemia patients should be treated 5-7 times a week with Desferal, which depend on the degree of iron overload and take vitamin C every day after they have been receiving DFO for a few weeks (8).

The analysis of the study results has indicated that the mothers 'practices to their age, educational levels, their occupation and residential area had significant association only at post test in the study group while there was no significant association among mothers 'practices to their age, educational

levels, their occupation and residential area at pre and post tests in the control groups (Tables 6- 9). This result was in agreement with the results of a study stated that there was no significant differences were found between the three groups (control group and two groups of cases, two methods of education; lecture and booklet were used for groups of cases) tested in terms of the age, gender, level of education, job, number of affected children, and age of the child. However young parents were better educated as regards practices about thalassaemia disorders (13, 14). The improvement of the study group mothers' practices was obviously associated to their exposure to the education program, which reflected its impact or effectiveness.

After implementing of educational program of Desferal Therapy on the study group, high significant different was revealed between the study and control groups at $P \leq 0.01$, with regard to practices of the mothers in post-test (Table 10).

This result is an agreement with Al-Mosowi who revealed that there were significant differences between the study and control groups at $P \leq 0.05$ about practices on Thalassaemia in post test (9).

In the present study, the researcher tried to introduce the information and items of the educational programme in a simple and clear language. So that to be more appropriate and acceptable for all educational level of mothers for better understanding, also used VCD, which is stimulated through the sensory organ as eyes and ears of the learner that caused the learner to learning. Nowadays VCD widely used in education.

CONCLUSION

Based on the results of this study, it was found that:

1. There are no statistical significant differences between study and control groups of pre-test practices regarding Desferal Therapy.
2. There are statistical significant differences in post-test practices between study and control groups after implementation of the educational programme to mothers of Thalassaemic children.
3. Mothers who were not exposed to the educational programme did not show any improvement in their practices about Desferal Therapy in post-test.

Acknowledgement

The author would like to express sincere thanks to Mr. Hawkar a biostatistician, for facilitating data analysis, director of Hawler Thalassaemia Center Mr. Safin for his cooperation and also thanks to

everyone who participated directly or indirectly in the accomplishment of this work.

REFERENCES

1. Rund D. and Rachmilewitz E. (2005). Medical progress β -Thalassemia. N. Engl. J. Med. 353(11):1135-1146.
2. Goljan E.(2009). Pathology. 2nd ed. Mosby Elsevier, Rapid Review Series.
3. Birgens H. (2007). Haemoglobinopathies. Available from: www.orebroll.se
4. Gardi L. (2005). MIH foundation Mediterranean Institute of hematology. Dubai.16-18 MAY 2005 [on online]. Available from: www.araburban.org
5. Abolghasemi H.; Amid A.; Zeinali S.; Radfar MH.; Eshghi P.; Rahiminejad M S.; Ehsani M A. *et al.* (2007). Thalassaemia in Iran Epidemiology, Prevention, and Management. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 29(4):233-238.
6. Ezzaddin RN. and Adnan AS. (2005). Effect of β -Thalassemia on Some Biochemical Parameters. ME. J. Family Med. 7(2): 102-107.
7. Hawler Thalassaemia Society. (2010).
8. Franchini M. and Veneri D. (2004). Iron-chelation therapy: an update. Hematol. J. 5:287-288.
9. Al-Mosowi H S E. (2000). Effect of health educational programme on mother's and practices toward Thalassaemia in children. Master thesis. University of Baghdad, College of Nursing, Iraq.
10. Hassanpour DA. and Saeed HMM. (2006). Enhancement of parents' awareness about β -thalassaemia major disorder through two educational programs. Pak. J. Med. Sci. 24(2): 283-284.
11. Al-Attar MS. and Shekha MS. (2006). The prevalence of Thalassaemia in Erbil province. Zanko. 18(2): 203-211.
12. Butaro A. (2008). Mosby's Nursing Consult - Reference Books. Primary Care, 3rd ed.
13. Mahanil W.(2009). Effects of a teaching program on knowledge and self-care behavior regarding decreasing iron accumulation in the body of children with Thalassaemia at Nan Hospital, Thailand. Master thesis. Mahidol University, College of Nursing, Thailand.
14. Dhamcharee V.; Romyanan O. and Ninlagarn T. (2001). Genetic counseling for Thalassaemia in Thailand: problems and solutions. Southeast. Asian. J. Trop. Med. Pub. Health. 32(2): 414-417.

Impact of acute lymphocytic leukemia on the quality of life of adolescent patients

Shukir S. H. Shwani (1), Kareema A. Hussein (2) and Morouge H. Al- Ani (1)

(1) College of Nursing / Hawler Medical University (2) College of Nursing / Kufa University / Republic of Iraq

ABSTRACT

Cancer and its treatment affect on quality of life of acute leukemic patients, this study aims to assess the quality of life of acute lymphocytic leukemia less than 12 years old patients in Erbil city/Iraq.

A descriptive study was carried out in Nanakali Hospital for Blood Disease, Erbil city from period of 1st Oct. /2012 to 1st of Dec. /2012. Pediatric Quality of Life Inventory™ (PedsQL™) 3.0 Cancer Module (self report) was dependable for data collecting.

one hundred (100) of acute leukemic patients were participated in the study. The mean ages were (7.71 ± 3.250) , most of them were males, diagnosed with acute lymphocytic leukemia (ALL), from rural areas, and living with low socioeconomic status (SES) respectively. The results show as that there are significant association between age of acute leukemic patients and the type of acute lymphocytic leukemia and their communications at. There are significant association between gender with worry, cognitive, and body image. There are significant association between residency areas with worry and cognitive. There are highly significance association between socio-economic status (SES) and their cognitive, communication. The present study found that there are significant association between SES, and age of patients and quality of Life.

School age leukemia patients had poor quality of life in many aspect concerning cognitive, worry, body image and communication.

The study recommended to Distributing booklet and pamphlets about the health education program through the Ministry of Health for those who having cancer patients and offering special training courses for nurses in and outside Iraq.

Key words: quality of life , acute lymphocytic Leukemia

الملخص باللغة العربية

هدفت الدراسة إلى تقييم تأثير السرطان وعلاجه على نوعية حياة الأطفال المصابين بابيضاض الدم الحاد في مدينة اربيل / العراق، و أجريت دراسة مستعرضة في مستشفى نانكلي للأمراض السرطانية في مدينة اربيل / العراق للفترة من الأول من أكتوبر/ تشرين أول إلى الأول من ديسمبر / كانون أول من عام 2012، حيث تم اختبار عينة غرضية مكونة من 100 طفل مصاب بابيضاض الدم الحاد بعمر أقل من 12 سنة، وقد جمعت البيانات باعتماد استمارة لنوعية الحياة للأطفال المبحوثين.

أظهرت نتائج الدراسة وجود علاقة ذات دلالة إحصائية بين عمر الأطفال المصابين و نوع سرطان الدم الحاد كما وجد هناك علاقة ذات دلالة إحصائية بين الجنس و القلق والمعرفية، وصورة الجسم، وعلاقة ذات دلالة إحصائية عالية بين مناطق الإقامة مع القلق والمعرفية. وأخرى بين الحالة الاجتماعية الاقتصادية (SES)، والمعرفية، والاتصالات، وعمر المرضى ونوعية الحياة.

وقد تبين أن أغلب مرضى سرطان الدم في سن المدرسة يعانون من سوء نوعية الحياة في الجوانب المتعلقة بكل من المعرفية والقلق وصورة الجسم. وأوصت الدراسة بضرورة إعداد و توزيع كتيبات ونشرات عن برنامج التنقيف الصحي من خلال وزارة الصحة لتحسين نوعية حياة الأطفال المصابين بابيضاض الدم الحاد وإقامة دورات تدريبية خاصة للممرضات العاملات معهم في العراق وخارجه.

INTRODUCTION

World health organization (WHO) estimates that each year around ten million people are diagnosed with cancer around the world, and more than half of the patients eventually die. These figures will have doubled by the year 2020 (1). Depending on statistics obtained from Nanakali Hospital for blood diseases (2011), In Erbil city more 3900 cancer patients have been diagnosed and the age of one third of the patients has been less 20 years (2).

Quality of life (*QoL*) is an important outcome measure for patients with cancer, incorporating domains of physical, emotional, social, and cognitive functioning. The *QoL* is based on their abilities to participate in usual teenage activities, maintain relationships with friends and family, and cope with the unpleasantness that comes with cancer treatment (3). Quality of life (*QoL*) scores may reflect health; satisfaction; happiness; financial, social, and environmental concerns (4). Cancer patients have many unmet needs including psychosocial, physical information and financial support (5). The symptoms and side effects of cancer and its treatments affect every aspect of *QoL* of patients with cancer (6). A clear understanding of how physical symptoms affect the *QoL* of the school ages during cancer therapy can assist cancer clinicians and researchers to design and implement effective interventions to enhance school ages' well-being during their cancer experience (3).

In a study conducted to assess the *QoL* of leukemic patients; the study found that the mean scores were one to two standard deviations lower than population norms (7). In a study was conducted on children newly diagnosed with cancer in United Kingdom found that mothers reported their child's *QoL* to be significantly lower than population norms (8).

A Turkish researcher conducted a study in (2001) aimed to assess the *QoL* of pediatrics undergoing chemotherapy treatment (9). Almost all of the patients (96.7%) suffered from a deficit of one or more attributes. Additionally, it is important to note that emotional deficit is reported in 96% with patients' pain. The treatment process and hospitalization had negative impacts on *QoL*.

Health-related quality of life (HRQOL) measures are increasingly being used in an effort to continually improve the quality of the healthcare for pediatric patient health in clinical trials (10).

Aims of the study:

1. To assess the impact of acute lymphocytic leukemia on the Quality of life of children less than 12 years old in Erbil city.
2. To identify the association between socio-demographic characteristics such as age, sex, type of acute leukemia, residency areas and socio-economic status (SES), and quality of life domains such as (pain and hurt, procedural anxiety, worry, body image and communication).

PATIENTS AND METHODS

A descriptive study was conducted in Nanakali Hospital for Blood Disease in Erbil City, from 1st October to 1st December 2012. One hundred school age leukemic patients between 6 to 12 years old were selected to participate in the study. To achieve the aim of the study, questionnaire was designed and translated to Kurdish language; and it is divided in to two main parts the first part was to identify the socio-demographic characteristics and consists of age, sex, and types of acute lymphocytic leukemia residency areas and SES. For the second part, the inventory trademark" (PedsQL™) 3.0 cancer version, was used to assess the quality of life of school ages leukemia patients and has three likert scales (1) for never, (2) for sometimes, and (3) for always. It consists of 23 items categorized into 5 subscales: physical functioning (8 items), emotional functioning (5 items), social functioning (5 items) and cognitive (4 items). Formal permission approval was obtained from both Erbil Health Director and Nanakali Hospital for Blood Disease, and ethical consent was obtained from participants. Data was collected through direct interviews with patients by investigators. The statistical package for social science (SPSS version 18) was used to determine the frequency, percentage, mean score, standard deviation and Chi-square test to measure the significant association between different variables, p-value measured form ≤ 0.05 to 0.01.

RESULTS

The study found that the mean of school age's age were (14.71 ± 3.250) , (52, 65%) of school age were males , most (53, 66.2%) were coming from rural areas , and (58, 72.5%) were living with low socio-economic status (SES) (Table 1).

Table (1): Demographic characteristics of acute Leukemic patients

Variables		No. (F %)	Mean± SD
Child age	Toddler	31 (38.8)	14.71±3.250
	Preschool age	22 (27.5)	
	School age	27 (33.7)	
Gender of school age	Male	52 (65)	1.35±0.480
	Female	28 (35)	
Residency areas	Urban	27 (33.8)	1.66±0.476
	Rural	53 (66.2)	
Socio-economic status (SES)	Low	58 (72.5)	1.30±0.513
	Middle	20 (25.0)	
	High	2 (2.5)	

The present study found that there were significant association between their communication domain and age at p-value 0.046 while there were highly significant association with type of leukemia and Socio- economic at p-value (0.003 and 0.001) respectively (Table 2).

The results showed that there were highly significant association between their worry domain and gender at p – value 0.008 while there were significant association with thier residency areas at p-value 0.028 (Table 3).

Table (2): Association between communication domain with age of patient ,type of Leukemic and Socio-economic statues

Communication domain items		Communication			Total	$\chi^2 = 9.685^a$
		Never	Sometimes	Always		
Age of patients	Preschool age	2	3	26	31	df= 4 p-v = .046
	Middle School age	1	6	15	22	
	Late School age	7	4	16	27	
Total		10	13	57	80	
Types of leukemia	ALL	3	21	38	62	$\chi^2 = 11.472$
	AML	5	1	12	18	df= 2
Total		8	22	50	80	p.v = 0,003
Socio-economic Status (SES)	Low SES	4	17	37	58	$\chi^2 = 8.709^a$ df=4
	Middle SES	2	5	13	20	
	High SES	2	0	0	2	
Total		8	22	50	80	p.v = 0.001

Table (3): Association between worry domain with gender of school age and residency areas

Worry domain Items		Worry			Total	$\chi^2 = 9.757^a$
		Never	Sometimes	Always		
Gender of school age	Male	9	5	38	52	df=2
	Female	8	9	11	28	
Total		17	14	49	80	p-v. =.008
Residency areas	Urban	2	8	17	27	$\chi^2 = 7.121^a$
	Rural	15	6	32	53	df=2
Total		17	14	49	80	p-v.=.028

The result reveals to highly significant association between their cognitive domain and socio-economic status at p-value.001 while significant association with their gender at p-value 0.015 (Table 4).

The results showed that there were significant association between gender and residency areas with their body image domain at p-vale(0.045 and 0.035) respectively (Table 5).

The results found that there were highly significant association between QOL domains and age of patients at p-value .000 and significant association with Socio-economic Status at p-value 0.024 (Table 6).

Table (4): Association between cognitive domain with gender patients and their Socio-economic Status (SES)

Cognitive domain Items		Cognitive			Total	$\chi^2 = 8.380^a$
		Never	Sometimes	Always		
Gender of patients	Male	1	5	46	52	df=2
	Female	2	9	17	28	
Total		3	14	63	80	p-v =.015
Socio-economic Status (SES)	Low SES	4	17	37	58	$\chi^2 = 18.709$
	Middle SES	2	5	13	20	
	High SES	2	0	0	2	Df = 4
Total		8	22	50	80	p-v = 0.001

Table (5): Association between body image domain with gender of School age and residency areas

Body image domain Items		Body image			Total	$\chi^2 = 6.181$
		Never	Sometimes	Always		
Gender of school age	Male	7	18	27	52	df= 2
	Female	3	3	22	28	
Total		10	21	49	80	p-v.=0.045
Residency areas	Urban	7	6	14	27	$\chi^2 = 6.717$
	Rural	3	15	35	53	df= 2
Total		10	49	49	80	p-v.= 0.035

Table (6): Association between QOL domains with patient's age and Socio-economic statuses

QOL domain Items		QOL			Total	$\chi^2 = 160.000^a$
		Never	Sometimes	Always		
Age of patients	Preschool age	0	6	25	31	df=4
	Middle school age	1	2	19	22	
	Late school age	1	5	21	27	
Total		2	13	65	80	p-v=.000
Socio-economic Status (SES)	Low SES	1	8	49	58	$\chi^2 = 11.260$
	Middle SES	1	3	16	20	
	High SES	0	2	0	2	df= 4
Total		2	13	65	80	p-v.=0.024

DISCUSSION

The results showed that the mean age of school age leukemic patients were (14.71 ± 3.250) years old, this supported by studies, they found that the mean age of school age leukemic patients was 12.9 ± 1.6 and 13.57 ± 1.75 years old (3,11), and most of the school age leukemic patients were males, this result is in agreement with a study done with acute lymphocytic leukemia aged between 2 to 18 years old (12). It was found that the (65.8%) of school ages were males. Another study found that the incidence between male/female is (62%- 38%) (13). Most of the cancer patients were coming from rural areas, this result in agreement with a study found that there is around (79.3%) of acute leukemic children were coming to the hospital from outside of the capital Beijing (China) (14), most of the cancer patients were coming to the hospital about 60 miles away from the hospital (15). The study found that the majority of cancer patients were living with low SES.

The present study found that there were significant association between age of school age leukemic patients and type of acute leukemic patients with their communication at p-value .046, and .003 respectively. Children are not quite ignorant about their actual physical condition then it becomes difficult to communicate their feelings particularly about their health (16). Another study found a significant association between age of cancer patients with their social function at p value ($p < 0.05$) (17). Poor parent-child communication increased the risk of psychosocial problems in school-aged children. However, they reported communicate better with parents of the same sex, and they emphasized that other studies showed that both boys and girls communicated better with mothers than fathers (18).

The QoL of 2-5 years-group was significantly lower in the older group regarding procedural anxiety, treatment anxiety and communication subscales ($p < 0.05$) (19).

There were significant association between gender of leukemic school age patients with there worry, cognitive, and body image at p-value (0.008, 0.024, and 0.045) respectively (Tables 3- 5). People living with cancer may worry about caring for their families, keeping their jobs, or continuing daily activities. Concerns about treatments and managing side effects, hospital stays, and medical bills are also common (20).

There was a statistically significant positive correlation between worry scores and scores for cognitive problems and perceived body image appearance according to school status ($p < 0.01$) (17) (Tables 3- 5). Cognitive problems are significantly correlated with the physical, emotional and social domains, School ages who experience emotional turmoil, it is may be due to their altered self-image with which they have to adjust (16, 21). That the acute lymphoblastic children have more problems in communication subscales than older patients at p-

value < 0.05 (19). The term anxiety is a general concept and has been frequently used in Chinese culture to describe emotions reported by children, such as feeling of worry, upset, and nervousness, during hospitalization or when confronted with medical procedures (22).

The present study found that there were statistically significant association between residency areas in both worry and body image of patients at p-value (0.028, 0.035) (Tables 3 and 5). A study stated that there were an association between cancer patients' knowledge and their residency areas (12). Also in agreement with a study done who found that there is a relationship between residency areas and cancer patient (23).

The results showed that there were significant association between SES in both cognitive and communication domains and in general QoL, at p-value (0.002, 0.001, and 0.024) respectively (Tables 3 and 5). Patients with low SES reported more problems concerning their leukemic patients because of limited resources and reduced capacity to provide adequate care (24). Children from the upper social class had a significantly better five years survival rate and duration of the first remission than children from lower score of SES class (23). There were statistically significant differences among cancer patients who had low SES scores at p-value (0.01) (24). The shorter survival was observed among lack of insurance, and significant association with shorter survival at p-value (0.005) (13), lower education, attainment, unmarried status, household income, lack of medical insurance had significant effects on cancer patient care (25). The acute lymphocytic leukemia disease and its treatment have effects on the life in many aspects of the participants' lives including education, careers, life plans, friendship networks, appearance, sexuality and fertility. The economic effects could also be far-reaching and contribute to a loss of independence, which is very fragile in this age-group (26). Girls, older children, and those with lower household incomes and unmarried parents had worse QoL, whereas SES predicted QoL in standard-risk acute lymphocytic leukemia (8). Others found that the social functioning score was found to be significantly lower in girls ($p < 0.05$) (17).

The present study found that there is significant association between QoL and age of school age patients, the QoL of 2-5 year-group was significantly lower in the older group regarding procedural anxiety, treatment anxiety and communication subscales ($p < 0.05$) (19) (Table 6). A young person's cancer diagnosis can lead to changes in family dynamics and can impact their relationships with parents, siblings, and others (27). Similarly procedural and treatment anxiety subscales have moderate positive correlation with physical emotional and social domains of QoL (16). In the intensive phase, leukemic children reported lower scores in procedural anxiety and communication. In the non-intensive phase,

leukemic children reported the lowest score in the worry subscale (28).

CONCLUSION

The present study found that there were significant association between communication domains and age at p-value 0.045, also with type of leukemia at p-value 0.003, and the study reveals that a significant association between worry domain with gender of patient at p-value 0.008. The results of present study found that there were significant association between residency areas and worry at p-value 0.028.

RECOMMENDATIONS

The study recommended that offering special training courses for nurses, health education program could be applying in mass media and distributing booklet and pamphlets about the information regarding caring of those patients to improve their quality of life through the Ministry of Health and future study can be conducted for large samples.

REFERENCES

1. Bener A.; Ayub H.; Kakil R. and Ibrahim W. (2007). Patterns of Cancer Incidence Among the Population of Qatar: A Worldwide Comparative Study. *Asian Pacific J. Cancer. Prev.* 9:19-24.
2. Nanakali Hospital for Blood Disease Statistic. (2011). The Number of Cancer Registered in the Nanakali Hospital the Middle. Unpublished CD.
3. Generic Core Scales in children. (2012). Health and Quality of Life Outcomes 10:3. Available at: <http://www.hqlo.com/content/10/1/3>
4. Erickson J M.; Beck S L.; Christian B R.; Dudley W.; Hollen P J.; Albritton K A. *et al.* (2011). Fatigue, Sleep-wake Disturbances and Quality of Life in School ages Receiving Chemotherapy. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 33(1):e17-e25.
5. O'Connor R E. (2006). On being treated as a person. A review of non-physical interventions to improve outcomes for school ages and young adults with cancer. PP. 1-8.
6. Chou F.; Dodd M.; Abrams D. and Padilla G. (2007). Symptoms, Self-Care, and Quality of Life of Chinese American Patients with Cancer. *Oncol. Nurs. Forum.* 34(6):1662-1667.
7. Sung L.; Yanofsky R.; Klaassen R.J.; Dix D.; Pritchard S.; Winick N. *et al.* (2011). Quality of life during active treatment for pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Int. J. Cancer.* 1(5):1213-1220.
8. Eiser C. (2007). Beyond survival: quality of life and follow-up after childhood cancer. *J. Pediatr. Psychol.* 32(9):1140-1150.
9. Yaris N.; Yavuz M.; Yavus A A. and Ökten A. (2001). Assessment of quality of life in pediatric cancer patients at diagnosis and during therapy. *Turk. J. Cancer.* 31(4):1-8.
10. Amiri P.; Eslamian Gh.; Mirmiran P.; Shiva N.; Asghari J M. and Azizi F. *et al.* (2012). Validity and reliability of the Iranian version of the pediatric quality of life inventory™ 4.0 (PedsQL™). *Health Qual. Life. Outcomes.* 5: 10-13.
11. Al-Barakat L P.; Marmer P L. and Schwartz L A. (2010). Quality of life of school ages with cancer: family risks and resources. *Health Qual. Life Outcomes.* 8(63): 1-8.
12. UsVasalo A.; Rätty R.; Knuutila S.; Vettenranta K.; Harila-Saari A.; Vries M AG. *et al.* (2008). Acute lymphoblastic leukemia in school ages and young adults in Finland. *Haematol.* 93(8):1161-1168.
13. Scarpelli A C.; Paiva S M.; Pordeus I A.; Varni J W.; Viegas C M. and Allison P J. (2008). The pediatric quality of life inventory™ (PedsQL™) family impact module: reliability and validity of the Brazilian version, *Health Qual. Life Outcomes.* 6:35:1-11.
14. Kent E E.; Sender L S.; Largent J L. and Anton-Culver H. (2009). Leukemia survival in children, school ages, and young Adults: influence of socioeconomic status and other demographic factors. *Cancer Caus. Control.* 20:1409-1420.
15. Han J.; Liu J.; Xiao Q.; Zheng X.; Ma Y. and Ding Y. (2011). The experiences and feelings of Chinese children living with leukemia. A qualitative study. *Cancer Nurs. J.* 34(2):1-8.
16. Al-Jauissy M S. (2010). Health care needs of Jordanian caregivers of patients with cancer receiving chemotherapy on an outpatient basis. *East. Mediterran. Health J.* 16 (10): 1-7.
17. Zayban A.; Ayub H.; Kakil R. and Ibrahim W. (2007). Patterns of cancer incidence among the population of Qatar: A worldwide comparative study. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* 9:19-24.
18. Tanir M K. and Kuguoglu S. (2011). Turkish validity and reliability of a pediatric quality of life cancer module for children aged 8-12 and parents. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* 12:125-130.
19. Huizing G A.; Visser A.; Van der Graaf WTF.; Hoekstra HJ. and Hoekstra-Weebers J E. (2005). The quality of communication between parents and school age children in the case of parental cancer. *Annal. Oncol.* 16: 1956-1961.
20. Sitaresmi MN.; Mostert S.; Gundy CM. and Veerman AJP. (2008). Health-related quality of life assessment in Indonesian childhood acute lymphoblastic leukemia. *Health Qual. Life Outcomes.* 6(96): 1497-1525.
21. National Cancer Institute. Leukemia. (2012). Available from: www.cancer.gov
22. Smith M A.; Lynn A.; Ries G R.; Gurney JG. and Ross J A. (2009). National Cancer Institute. SEER Pediatric Monograph. P. 17.

23. Cover H . (2010). The impact of cancer on children's physical, emotional, and psychosocial well-being. *Cancer Nurs.* 33(1): 47-54.
24. Viana M B.; Fernandes R A F.; De olivera A B M.; Murao M.; Paes C A. and Duarte A A. (2001). Nutritional and socio-economic status in the prognosis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematol.* 86:113-120.
25. Wannapong S.; Sangperm P.; Kiatkamchorn P.; Areegarnlert N. and Intachote Th. (2001). Health promotion for infants of mothers living in Saiyok District, Kanjanaburi Province. *Thai J. Pediatr. Nurs.* 1(3): 56-72.
26. Colditz G A. (2009). Cancer and the environment: The American Cancer Society Prevention Priorities. *Cancer J. Clin.* 59: 341-342.
27. Grinyer A. (2007). The biographical impact of teenage and school age cancer. *Chron. Ill.* 3(4): 265-277.
28. McHarg T.; Carey M.; Fisher R.; Shakeshaft R. and Rainbird K. (2010). Measuring the psychosocial health of school age and young adult (AYA) cancer survivors: A critical review. *Health Qual. Life Outcomes.* 8(25): 1-13.

قسم الدراسات العربية

ARABIC SECTION

تأثير الدقائق النانوية للفضة وأوكسيد الزنك على عزلات النوع *Escherichia coli* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية

بيمان علي كريم (1)، إسراء غانم السماك (2)

(1) كلية الزراعة / جامعة صلاح الدين / مدينة اربيل (2) قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل / جمهورية العراق

الملخص باللغة العربية

عزلت (65) عزلة بكتيرية تعود للنوع *Escherichia coli* من بين 156 عينة شملت (التهاب المجاري البولية، مسحات الجروح ومسحات الفم) وبنسبة 41.7% جمعت من المرضى الوافدين إلى مستشفى رزكري التعليمي وروزلوا في مدينة اربيل من شهر مارس / آذار إلى شهر سبتمبر / أيلول عام 2013. وقد شخّصت العزلات اعتماداً على الصفات الزرعية والمجهريّة والاختبارات الكيموحيوية، بالإضافة إلى اختبار API 20E .

تمت دراسة حساسية هذه العزلات تجاه 12 نوعاً من المضادات الحيوية، وبلغت نسبة الحساسية (100%) مقاومة لـ Ampicillin (89.2%) لـ Amoxicillin بينما كانت أقل مقاومة للمضادات الحيوية Nitrofurantoin ، Ciprofloxacin ، Chloramphenicol ، Cefotaxime (29.2%, 20%, 20%, 7.7%) على التوالي. تم اختيار (10) عزلات ذات مقاومة عالية للمضادات وحدد التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمضادات السابقة الذكر إضافة إلى نوعين من الدقائق النانوية بأحجام مختلفة (Ag20, 90 nm و ZnO 20, 30, 50~150 nm)، وقد أظهرت النتائج بأن MIC لـ Ag بحجمه 20, 90 nm بين (2600-1300) µg/ml و MIC لـ ZnO20nm بين (1300-325) µg/ml و MIC لـ ZnO30nm بين (2600-325) µg/ml و MIC لـ ZnO50~150nm بين (2600-650) µg/ml. كما تم التحري عن تأثير خلط المضادات الحيوية مع الدقائق النانوية، وأظهرت تأثيراً تآزرياً بينهما وفعالية جيدة في تثبيط النمو البكتيري. وجد الجين *AMPc* في جميع العزلات قيد الدراسة عند الموقع 191bp، وظهر تغاير في ترتيب القواعد النيتروجينية والأحماض الأمينية المكونة لإنزيم بيتا-لاكتاميز عند استخدام برنامج Clustal W ضمن برنامج 0.5 Mega.

الكلمات المفتاحية: *Escherichia coli* متعددة المقاومة للمضادات ، الدقائق الفضة النانوية، أوكسيد الزنك النانوي

The Effect of silver and zinc oxide nanoparticles on *Escherichia coli* isolates multi resistant to antibiotics

Payman A. Kareem (1) and Essra Gh. Alsammak (2)

(1) College of Agriculture/ Salahaddin University (2) Dept. of Biology/ College of Sciences/ Mosul University/ Republic of Iraq

ABSTRACT

This study contains 65 isolates for *Escherichia coli* bacteria isolated from 156 sample included (urinary tracts infection, wound swabs and pus swabs) by 41.7% collected from patients attending to Rezgari Teaching Hospital and Rizhawa Hospital in Erbil City from March to September 2013.

The isolates were diagnosed based on cultural characters, microscopic features and biochemical tests in addition to the API 20E .

The study accomplished with sensitive isolates on (12) types of antibiotics 100% of the isolates were resistant to Ampicillin, 89.2% resistant to Amoxcillin while the lower resistance was registered against Nitrofurantoin, Ciprofloxacin, Chloramphenicol and Cefotaxime (7.7%, 20%, 20%, 29.2%) respectively.

Ten isolates were selected according to their patterns of the highest resistance as these showing multi-drug resistances and tested to specify their minimum inhibitory concentration for the antibiotics and two types of the used nanoparticles of different sizes (Ag20, 90nm and ZnO20, 30, 50~150nm), the results showed that the (MIC) for Ag20,90nm was between (1300 -2600) µg/ml and MIC for Zn O20nm was between (325-1300) µg/ml, MIC for Zn O30 nm was between (325-2600) µg/ml and MIC for Zn O50~150nm was between (650-2600) µg/ml. They also showed that the synergism effect was between the antibiotics and the nanoparticles when they integrate with one another and more effects on bacteria when used as a mixture of the nanoparticles with the antibiotics.

The *AMPc* gene was founded in all isolates under study where extent in 191 bp. Compare of nucleotide bases and amino acids sequence by used clustal W program in Mega 0.5.

المقدمة

العزلات بصورة سريعة حيث تظهر التفاعلات الكيموحيوية الرئيسة بشكل محدد ومنظم.

فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية:

تم إجراء فحص الحساسية باستخدام طريقة أقراص المضادات الحيوية، إذ استخدم لذلك (12) نوعاً من المضادات الحيوية Ampicillin (AM/10 µg), Amoxicillin (AX/25 µg), Gentamicin (GMN/10 µg), Erythromycin (E/15 µg), Ciprofloxacin (CIP/5 µg), Chloramphenicol (C/30 µg), Cefotaxime (CTX/30 µg), Nitrofurantoin (NIT/300 µg), Co-Trimoxazole (COT/25 µg), Cephalothin (KF/30 µg), Doxycycline (DO/30 µg), Ceftriaxone (CRO/30 µg)، وباستخدام وسط مولر-هنتون الصلب حيث حضنت الأوساط بدرجة 37 م ولمدة 18 ساعة. وقد قورنت النتائج مع ما ورد من قياسات عالمية حسب ما جاء في (14).

قياس التركيز المثبط الأدنى (MIC):

استخدمت طريقة التخفيف بالمرق للتقدير الكمي لفعالية المضادات الحيوية والدقائق النانوية، حيث استعملت microtiter plate لتقدير الفعالية التثبيطية للمضاد والدقائق النانوية المكون من 96 حفرة، وأجريت اعتماداً على طريقة (15) كما يلي:

- 1- إضافة 100 مايكروليتر من المرق مولر هنتون إلى كل حفرة.
- 2- إضافة 100 مايكروليتر من المضاد المحضر مسبقاً بتركيز 1024 مايكروغرام لكل مل إلى الحفرة رقم 1 من صف A. ومزج المضاد من خلال حركة من أعلى لأسفل 6-8 مرات وهذا يجعل المخفف بتركيز ضعف أي 512 مايكروغرام/مل.
- 3- نقل 100 مايكروليتر من الحفرة 1 إلى الحفرة 2 والمزج بنفس الحركة ليصبح المخفف بتركيز 256 مايكروغرام / مل.
- 4- تكرار الخطوات السابقة وصولاً إلى الحفرة رقم 10 وبعدها يسحب ما مقداره 100 مايكروليتر ويهمل، وتكون التراكيز (1، 2، 4، 8، 16، 32، 64، 128، 256، 512) مايكروغرام/مل.
- 5- إضافة 5 مايكروليتر من المعلق البكتيري بعمر (24) ساعة إلى كل الحفرة.
- 6- تم إضافة الحفرة رقم 11 على المرق والمعلق البكتيري فقط وأصبحت سيطرة موجبة.
- 7- حفر 12 تصبح سيطرة سالبة تحتوي فقط على المرق والمضاد.
- 8- إضافة مضاد آخر إلى صف B وهكذا بالنسبة للصفوف الأخرى.
- 9- تم تغطية الطبق وحضنه بدرجة (37)°م لمدة (24-18) ساعة.

- 10- إجراء فحص وجود النمو المرئي وثم ملاحظة التركيز المثبط الأدنى للمضاد.

أما بالنسبة إلى الدقائق النانوية فقد استعمل تركيز 5200 مايكروغرام / مل المحضر مسبقاً إلى الحفرة رقم 1 من صف A. وتكون التراكيز (2600,1300,650,325,162.5,81.25,40.6,20.3,10.15,5.0) مايكروغرام/مل.

تعرف الدقائق النانوية Nanoparticles بأنها تلك الفئة المتميزة من المواد الدقيقة التي يمكن إنتاجها بحيث تتراوح مقاييس أبعادها أو أبعاد حبيباتها بين 1-100 نانومتر، وقد أدى صغر أحجام ومقاييس تلك المواد إلى أن تسلك سلوكاً مغايراً للمواد التقليدية كبيرة الحجم التي تزيد أبعادها على 100 نانومتر، وهذا يعني أن الجسيمات بالحجم النانوي تمتلك مواصفات كهربائية ومغناطيسية تختلف بدرجة مهمة عن الجسيمات كبيرة الحجم لنفس المركبات (1).

يمكن الحصول على الجسيمات النانوية المعدنية بالطرق الحيوية، الفيزيائية والكيميائية، وهناك أنواع مختلفة من البكتيريا والفطريات لها القدرة على إنتاج الجسيمات النانوية المعدنية ذات الخصائص المضادة للميكروبات (2).

إن الفضة ومركباتها لها تأثيرات على الجراثيم فضلاً عن مداها الواسع الطيف لفعاليتها المضادة للبكتيريا والفطريات إضافة للفيروسات منذ العصور القديمة (3-5)، كما تمتلك الجسيمات الفضة النانوية قدرة مذهشة على قتل أنواع متعددة من البكتيريا الضارة والفيروسات والجراثيم، وذلك يرجع إلى صغر حجم الجسيمات إلى أقطار تقل عن 5 نانومتراً مما يعمل على زيادة كبيرة في المساحة السطحية للجسيمات، ومع تناقص أقطار الجسيمات وزيادة مساحة السطحية تتولد لدى ذرات عنصر الفضة الموجودة بلب الجسيمات النزعة في الهجرة إلى السطح الخارجي للجسيمات مما يؤدي إلى زيادة كبيرة في نشاطها الكيميائي وكذلك زيادة إنتاج الأوكسجين المتفاعل بضمنها تكوين الجذور الحرة free radicals، كما أن الدقائق النانوية لها القدرة على اجتياز الأغشية الحية والدخول إلى الخلايا ولها القدرة على اختراق الجلد خاصة الجلد المصاب بالأكزيما أو الحروق (6)، ومن ثم الوصول إلى مجرى الدم مؤدية إلى زيادة الإجهاد التأكسدي oxidative stress وإنتاج الساييتوكاين cytokine والالتهاب وأخيراً موت الخلية (7). ويعد أوكسيد الزنك النانوي من أشهر أكاسيد المعادن التي تمتلك العديد من الخصائص وأهمها الخصائص شبه الموصلة والنشاط المضاد للبكتيريا والذي حاز على اهتمام كبير كعلاج مضاد للجراثيم (8).

إن الجراثيم الممرضة التي تحتوي على بلازميدات تصبح في الغالب متعددة المقاومة للمضادات الحيوية والتي أصبحت مشكلة أساسية في معالجة أمراض معدية خاصة بالإنسان، حيث تقاوم هذه الجراثيم عدداً من المضادات الحيوية ويمكن أن تواصل النمو في الجسم على الرغم من أخذ المضادات الحيوية (9).

إن إضافة مضادات حيوية antibiotics إلى هذه الجسيمات النانوية قد أظهرت تأثيرات تآزرية ضد البكتيريا، حيث أظهر استخدام الجسيمات لوحدها كبحاً للنمو بحوالي 40%، وقد ارتفعت النسبة كثيراً مع إضافة المضادات الحيوية.

وقد أجريت هذه الدراسة بهدف التحري عن نسبة انتشار بكتيريا *E.coli* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية والمسببة للعديد من الأمراض وتقدير مدى تأثير الدقائق النانوية على البكتيريا واستخدامها كبديل أو كمساعد للعلاج بالمضادات الحيوية.

المواد وطرق العمل

العزل والتشخيص:

جمعت (156) عينة من المرضى المقيمين والوافدين إلى مستشفى زركاري وروزلوا في مدينة أربيل للفترة من شهر آذار لغاية شهر أيلول عام 2013، وشملت العينات (التهاب المجاري البولية، مسحات الجروح ومسحات القيح).

تم عزل وتشخيص بكتيريا *Escherichia coli* من العينات المختلفة وفقاً لما جاء في (10-12) باتباع التشخيص المظهري والكيموحيوي وتم استعمال نظام API: 20E المجزء من شركة BioMerieux حسب طريقة (13) وذلك لتأكيد تشخيص

وتم ترجمة النيوكليوتيدات لجين AMPc إلى أحماض أمينية باستخدام Clustal W (Molecular Mega0.5) ضمن برنامج (Evolutionary Genetic Analysis).

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (2) أعداد ونسب عزل 65 عزلة لبكتيريا *E. coli* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة توزعت ما بين 50 عزلة من التهاب المجاري البولية بنسبة (52.63%)، 10 عزلات من مسحات الجروح بنسبة (32.25%) و 5 عزلات من مسحات القبح بنسبة (16.7%). اختلفت نسب العزل من دراسة إلى أخرى وقد يعود السبب في ذلك إلى الاختلاف في وقت جمع العينات وحسب موقع الإصابة.

شخصت العزلات اعتماداً على بعض الصفات الشكلية العامة للمستعمرات إلى (65) عزلة تابعة للنوع *E. coli* إضافة لتخميرها لسكر اللاكتوز واختبار IMVC كما أشار إليه (18) والمبين في الجدول (3)، كما استعملت عدة التشخيص API-20 E كونها نظاماً دقيقاً وحساساً، إذ بعد تفسير نتائج الاختبارات العشرية التي يتكون منها هذا النظام التشخيصي وذلك بالرجوع إلى API 20E analytical profile تم الحصول على 65 عزلة بكتيرية مشخصة تعود للنوع *E. coli*.

تم دراسة حساسية البكتيريا المعزولة تجاه 12 مضاداً من خلال قياس منطقة قطر التثبيط ومقارنة النتائج مع ما ورد في (14)، وأظهرت النتائج في الشكل رقم (1) أن هناك تبايناً في مقاومة العزلات قيد الدراسة تجاه المضادات المستخدمة حيث أظهرت بكتيريا *Escherichia coli* مقاومة عالية لكل من مضاد Ampicillin و Amoxicillin إذ بلغت نسبة المقاومة 100%، 89.2% على التوالي، ويعود السبب إلى طبيعة تركيب جدارها الخلوي وامتلاكها آليات لمقاومة المضادات وإلى إنتاج العزلات إنزيمات البيتا لكتاميز Extended- Spectrum beta lactamase التي تحطم حلقة البيتا لكتام للمضاد ويجعلها غير فعالة بايولوجياً (19)، فيما كانت مقاومة لمضادات Aminoglycoside والمنصمة Gentamicin فقد بلغت 80% التي يعود سببها إلى وجود الجين المسؤول عن المقاومة لهذا المضاد الذي يشفر إلى أحداث تحوير بموقع الهدف 30S الذي يرتبط به المضاد مسبباً حدوث مقاومة (20). أما مقاومة مضاد Co-Trimoxazole بنسبة 60% فقد يكون سببها حدوث طفرات وراثية تؤثر في المسار الأيضي الذي يعمل عليه هذا المضاد (21). أما بالنسبة إلى مضادات السيفالوسبورينات فقد وجدت نسبة مقاومة عالية لمضاد Cephalothin بنسبة 67.7% كونه من مضادات الجيل الأول، وفيما يتعلق بالمضادين Ceftriaxone، Cefotaxime فقد وجدت نسبة مقاومة منخفضة بنسبة 46.15%، 29.2% على التوالي إذ يمثلان الجيل الثالث ويمتازان بفعاليتهم العالية وطيفهما الواسع ضد أفراد العائلة المعوية (22). كما ظهرت نسبة المقاومة لمضاد Doxycycline، Erthromycin التي بلغت 40% لكل منهما، وقد تعود المقاومة لمضاد Erthromycin لامتلاكها جينات مقاومة محمولة على بلازميدات تشفر لتحويل الموقع الهدف 50S مما يؤدي إلى عدم قدرته على الارتباط به بينما كانت العزلات أقل مقاومة لمضاد Chloramphenicol، Ciprofloxacin حيث بلغت 20% لكل منهما وقد ترجع المقاومة لمضاد Chloramphenicol نتيجة تحطيم الدواء بواسطة إنزيم Chloramphenicol acetyl transferase (23).

دراسة التأثير التآزري لدقائق الفضة وأوكسيد الزنك النانوية مع المضادات الحيوية:

تم دراسة التأثير التآزري للدقائق الفضة وأوكسيد الزنك مع المضادات الحيوية وذلك بإضافة 50 مايكروليتر من الدقائق بالتركيز المثبط الأدنى الخاص بها مع 50 مايكروليتر من المضادات بالتركيز المثبط الخاص بها إلى الحفر بقطر 6 ملم بعد تلقيح سطح الأطباق بالعزلات البكتيرية المذكورة سابقاً وحضنت الأطباق بدرجة 37° لمدة 24 ساعة وتم قياس أقطار التثبيط حول الحفر.

عزل الدنا DNA:

استخدمت طريقة PCR Colony المحورة وتم أخذ مستعمرة فنية واحدة وإضافتها إلى eppendorf tube معقمة تحتوي على 50 مايكروليتر ماء مقطراً معقماً منزوع الأيونات، وحضنت بدرجة 30° لمدة 3 دقائق، ثم وضعت الأنبوبة في المضخم الحراري PCR وحمام مائي بدرجة حرارة 95° لمدة 15 دقيقة، وتم إجراء طرد مركزي بسرعة 13000 دورة / دقيقة وبدرجة 4° لمدة 15 دقيقة (16).

عدة عمل PCR للتحري عن AMPc:

استخدم في هذه الدراسة البادئ AMPc والمجهزة من شركة Alpha DNA بهيئة مجفدة Lyophilized form وبتكرير 10 بيكومول / مايكروليتر والجدول رقم (1) يوضح تسلسل البادئ المستخدم.

جدول رقم (1): تسلسل البادئ المستخدمة للتحري عن موروث (AMPc)

Primers	Sequence(5'—3')	Length	Amplification product (bp)
AMPc-F	AATGGGTTTCTACGGTCTG	20	191
AMPc-R	GGGCAGCAAATGTGGAGCAA	20	

تفاعلات PCR للتحري عن AMPc:

تم تحضير المزيج الرئيس بحجم 25 مايكروليتر وذلك بمزج (12.5) مايكروليتر من Go TaqGreen Master Mix، و (1) مايكروليتر من كل البادئ Primers، (4) مايكروليتر من DNA template المستخلص بتركيز 50 نانو غرام / مايكروليتر، و (6.5) مايكروليتر من Nuclease free Water في أنبوبة eppendorf tube سعة 0.2 سم³، ثم أدخلت الأنابيب في جهاز المبلمر الحراري المتسلسل Thermo cycler (Germany) بحذر وعناية لإنجاز التضاعف وباستعمال البرنامج التالي لل AMPc اعتماداً على (17): 1.5 دقيقة بدرجة حرارة 94° لمدة الواحدة، (90 ثانية بدرجة حرارة 94°، 30 ثانية بدرجة 57°، 1 دقيقة بدرجة 72°) وتكرر 30 دورة وأخيراً 10 دقائق بدرجة 72° لمدة واحدة. ثم ترحيل العينات بجهاز الترحيل الكهربائي بفولطية 50 لمدة 75 دقيقة، ومن ثم فحص الهلام بعد تصبغه بصيغة الايثيديوم برومايد لمدة 45 دقيقة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية للتحري عن وجود AMPc عند الموقع 191bp.

تحديد تتابعات القواعد النروجينية في AMPc:

تم إجراء تحديد التتابعات الوراثية في AMPc لثلاثة عزلات تابعة للنوع *E. coli*، وانجز الفحص في شركة Macro gen (USA) بتم التحري عن التطابق الجيني باستخدام برنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) والمتوفر في المركز الوطني لمعلومات التقانات الحياتية National Center Biotechnology Information (NCBI) وعلى الموقع <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

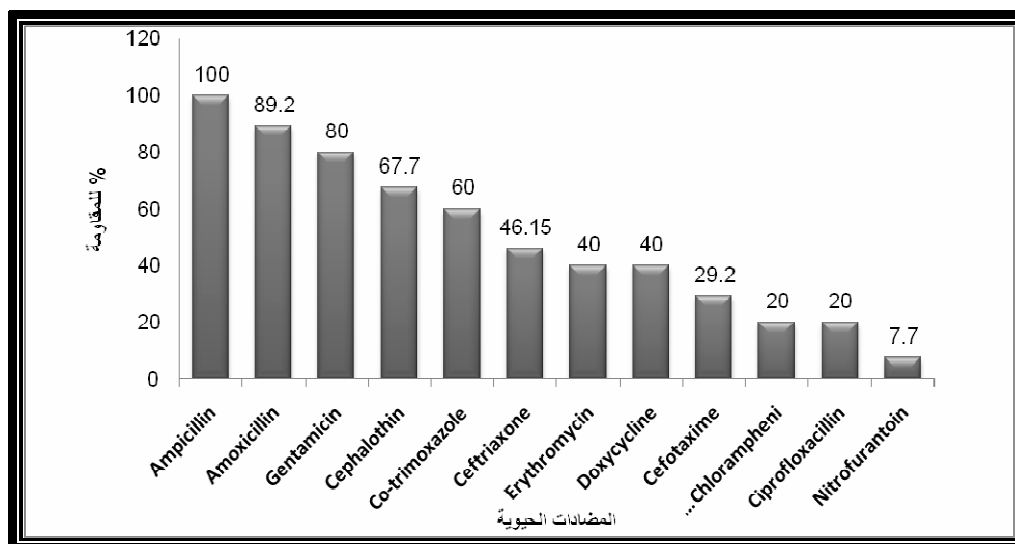
جدول رقم (2): أعداد ونسب عزلات بكتيريا *Escherichia coli* من عينات مرضية مختلفة

نوع العينات	عدد العينات الكلي	عدد العزلات الموجبة	النسبة المئوية %
التهاب المجاري البولية	95	50	76.9
مسحات الجروح	31	10	15.4
مسحات القيح	30	5	7.7
المجموع الكلي	156	65	100

جدول رقم (3): الاختبارات البيوكيميائية لبكتيريا *Escherichia coli*

Test	Gram Stain	Catalase	Oxidase	Urease	T.S.I	I.M.V.C	O/F of Sucrose
بكتيريا <i>E.coli</i>	-	+	-	-	A/K H ₂ S NO gas	---++	F

A=Acid, K=Alkaline, F=Fermentation, O=Oxidation, += النتيجة الموجبة=، النتيجة سالبة=، H₂S، كبريتيد الهيدروجين، O/F=الاختزال

شكل رقم (2): نسبة المقاومة للعزلات المحلية لبكتيريا *E.coli* تجاه مضادات الحيوية المختلفة

والآليات التي تمتلكها البكتيريا المقاومة للمضادات ومدى تعرض الشخص المصاب للمضادات الحيوية، ويلاحظ بشكل عام ارتفاع قيم التركيز المثبط الأدنى MIC للمضادات المختلفة وهذا يعود إلى شيوع استعمال المضادات الحيوية مقارنة بالسنوات السابقة مما يؤدي إلى ظهور عزلات ذات مقاومة عالية.

وخلال ملاحظة النتائج لقيم MIC وجد أن البكتيريا تمتلك مقاومة عالية لهذه المضادات وأن تأثير هذه التركيزات يختلف حسب نوع المضاد، حيث أعطى (Erythromycin, Doxycycline, Ciprofloxacin) أقل قيم مقارنة مع المضادات الأخرى.

يبين الجدول رقم (5) التركيز المثبط الأدنى لدقائق الفضة النانوية (AgNP) ذات حجم 20nm، 90nm على عزلات *E.coli* المأخوذة من الإدرار، الجروح والقيح وبتركيز (1300-2600) مايكرو غرام /مل، أن دقائق الفضة النانوية لها مساحة سطحية أكبر مقارنة مع الحجم الأكبر للجسيمات وبالتالي لها سمية للكائنات الدقيقة وتؤثر على الغشاء البلازمي للبكتيريا

إن سبب مقاومة العزلات لمضاد Ciprofloxacin قد يعود إلى حدوث تغيير في (GyrA) الذي يعد من الوحدات البنائية لإنزيم DNA gyrase (24)، أما المضاد Nitrofurantoin فكانت نسبة المقاومة له (7.7%) ويعد هذا المضاد من مطهرات القناة البولية، إذ يوصف في حالة التهابات المجاري البولية المزمنة الناجمة عن بكتيريا *E.coli* إذ ينصف بفعالية عالية (25). تم تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC للمضادات الحيوية المدروسة وأظهرت النتائج كما في الجدول رقم (4) بأن العزلات قيد الدراسة جميعها أبدت مقاومة لكل من AMP و AMX وتراوحت قيم MIC ما بين (128-512) مكغم/مل كون معظم السلالات المعوية تمتلك انزيمات Penicillinase نوع TEM-1 والمشفّر بواسطة جينات محمولة على بلازميد R. أما فيما يخص COT فقد كانت النتائج بين (4-32)، GEN و KF بين (8-128)، E بين (4-32)، C و NIT بين (8-64)، CTX بين (32-256)، DO بين (8-16)، CRO بين (16-128) مكغم/مل، بينما ظهرت قيم CIP بين (2-8) مكغم/مل وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (26). كما يرجع هذا التباين في القيم إلى ضروب العزلات نفسها

لقد اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصل اليه الباحثان (26، 30) إذ تضمنت الدراسة الفعل التآزري بين دقائق الفضة مع عدد من المضادات ضد جرثومة *E.coli* و *Staph.aureus* التي ازدادت حساسيتها للمضادات الحياتية بوجود الفضة النانوية، علما انه تم اضافة نصف كمية المضاد مع نصف كمية الدقائق اي تم التخفيف للنصف ، ان الغاية المرجوة من هذا البحث هي معرفة التأثير التآزري Synergism الحاصل بين المضادات الحيوية والدقائق النانوية المستخدمة قيد الدراسة إذ تبين من خلال إجراء هذه التجربة ان التآزر مابين الدقائق النانوية والمضادات الحيوية يزيد من تأثير التثبيطي ضد الجراثيم كما في بكتريا *E.coli* وهذا ما أكدته (31).

من خلال تغيير نفاذيتها وبالتالي تؤدي إلى موت الخلية وهذا ما أكدته (27).

في حين ظهر التركيز المثبط الأدنى لأوكسيد الزنك (ZnO) ذات حجم 20nm كانت بين (1300-325) مايكروغرام/مل، أما ZnO 30nm كانت بتركيز (2600-325) مايكروغرام/مل في حين ZnO50~150nm كانت بين (2600-650) مايكروغرام/مل، حيث ان فعالية المضاد المايكروبي لأوكسيد الزنك النانوي ضد بكتريا *E.coli* تزداد كلما تقل حجم الجسيمات وهذا ما أثبتته كل من (28، 29).

أما جدول رقم (6) يوضح العلاقة بين المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وبين الدقائق ZnO و Ag عند الدمج ببها بطريقة الحفر حيث اظهرت النتائج بأن قطر منطقة التثبيط ازدادت عند دمج المضادات مع الدقائق النانوية ، (Ag20,90nm,ZnO20,30,50~150nm) ، فيما لو استخدم المضاد او الدقائق النانوي لوحده وهذا ما يسمى Synergism.

جدول رقم (4): التركيز المثبط الأدنى MIC للمضادات الحيوية المختلفة ضد عزلات النوع *Escherichia coli*

رقم العزلة	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
Ampicillin	128	256	128	256	512	512	256	256	512	256
Amoxicillin	128	256	256	512	512	128	128	256	256	512
Gentamicin	8	32	16	128	128	64	32	64	64	64
Cephalothin	8	32	8	128	64	64	16	16	16	8
Co-trimoxazole	64	128	128	128	512	64	256	256	256	128
Ceftriaxone	16	32	64	64	128	32	128	64	64	64
Erythromycin	4	8	16	32	32	8	16	32	8	16
Doxycycline	8	8	16	16	16	8	16	16	8	16
Cefotaxime	32	32	64	128	256	64	64	128	64	128
Chloramphenicol	8	16	32	64	64	16	32	64	16	32
Nitrofurantoin	8	16	16	16	32	64	64	32	64	64
Ciprofloxacin	2	4	8	8	2	4	8	4	2	8

جدول رقم (5): التركيز المثبط الأدنى MIC للدقائق الفضة والزنك النانوية على عزلات *Escherichia coli*

رقم العزلة	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
Ag20nm	1300	2600	2600	2600	1300	1300	2600	1300	2600	2600
Ag90nm	1300	2600	2600	2600	1300	1300	1300	1300	1300	1300
ZnO20nm	325	1300	1300	650	1300	650	1300	325	325	325
ZnO30nm	650	1300	1300	325	1300	325	2600	1300	650	1300
ZnO50~150nm	1300	2600	1300	1300	650	650	1300	650	650	1300

جدول رقم (6): تأثير العلاقة التآزرية بين المضادات الحيوية والدقائق النانوية على عزلات *Escherichia coli*

المضادات الحيوية	قطر منطقة التثبيط للمضادات لوحده (mm)	قطر منطقة التثبيط للدقائق النانويةلوحده (mm)				
		ZnO 50~150 nm	ZnO 30 nm	ZnO 20 nm	Ag 90 nm	Ag 20 nm
		20	0	26	0	0
		قطر منطقة التثبيط عند دمج المضادات مع الدقائق النانوية (mm)				
		ZnO 50~150 nm	ZnO 30 nm	ZnO 20 nm	Ag 90 nm	Ag 20 nm
AMP	0	0	15	0	0	
GEN	0	16	18	18	0	
E	28	24	26	30	29	
AMX	R	16	0	0	0	
C	40	43	34	38	39	
CTX	18	19	18	17	19	
NIT	14	28	19	0	16	
COT	0	0	0	0	0	
KF	0	0	12	0	18	
DOX	21	16	16	20	23	
CRO	15	18	15	16	16	
CIP	16	19	18	16	16	

جدول رقم (7): نتيجة تطابق تتابعات جين *AMPc* مع السلالة القياسية باستخدام NCBI

رقم السلالة	مصدر العزل	اسم السلالة المفحوصة	نسبة التشابه مع السلالة القياسية
1	ادرار	Escherichia coli AmpC-EC31	99%
2	مسحة الجروح	Escherichia coli BW25113	98%
3	مسحة القيح	Escherichia coli O145:H28 str.	98%

beta-lactamase [Escherichia coli]
Sequence ID: ref|WP_011579306.1|Length: 420Number of Matches: 1

[See 9 more title\(s\)](#)

Related Information

[Gene-associated gene details](#)

[Identical Proteins-Proteins identical to the subject](#)

Range 1: 15 to 63 [GenPeptGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
107 bits(266)	4e-26	Compositional matrix adjust.	48/49(98%)	49/49(100%)	0/49(0%)	+3
Query 12	ADWCRYNLTHRQCKSGPPMAGRFVWKPE	LMLKTTLLTLLITASCSTFAA	158			
	ADWCRYNLTHRQCKSGPPMAGRFVWKPE	LMLKTTLLTLLITASCSTFAA				
Sbjct 15	ADWCRYNLTHRQCKSGPPMAGRFVWKPE	LMLKTTLLTLLITASCSTFAA	63			

شكل رقم (2): مقارنة تتابع الاحماض الامينية لآلزييم بيتالكتاميز ضمن سلالات *Escherichia coli* باستخدام Clustal W مقارنة بالسلالة القياسية

المصادر

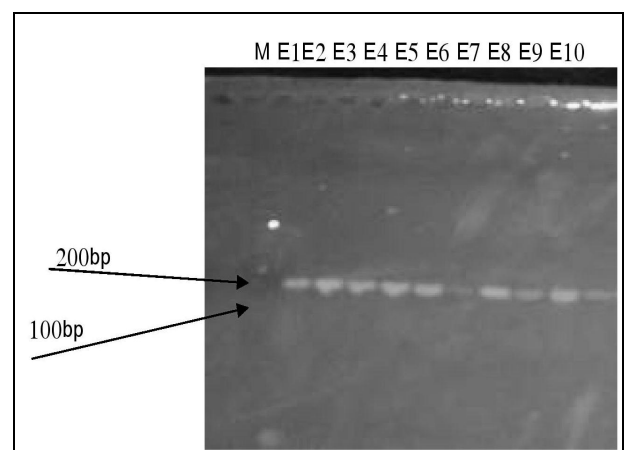
1. Dowling, A.; Clift, R.; Grobert N.; Hutton D.; Oliver R.; O'Neill O.; Pethica J.; Pidgeon N.; Porritt J.; Ryan J.; Seaton A.; Tendler S.; Welland M. and Whatmore R. (2004). Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. The Royal Society, The Royal Academy of Engineering.
2. Duran N.; Marcato PD.; Conti RD.; Alves OL.; Costa FM. and Brocchi M.(2010). Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. J. Braz. Chem. Soc. 21(6): 206-211.
3. Silver S. (2003). Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. FEMS. Microbiol. Rev. 27:341-353.
4. Cho KH.; Park JE.; Osaka T. and Park SG. (2005). The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. Electrochem. Acta. 51:956-960.
5. Lok CN.; Ho CM.; Chen R.; He QY.; Yu WY.; Sun H.; Tam PK.; Chiu JF. and Chen CM. (2006). Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. J. Proteome. Res. 5:916-924.
6. Kim JS.; Kuk E.; Yu KN.; Kim J.; Park SJ.; Lee HJ.; Kim SH.; Park YK.; Park YH.; Hwang CY.; Kim YK.; Lee Y.; Jeong DH. and Cho M.(2007). Antibacterial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology. Biol. Med. 3: 95-100.

تم اجراء عملية تضخيم الجين *AMPc* لسلالات النوع *Escherichia coli* حيث أظهرت السلالات المقاومة للمضاداحتوائها على هذا الجين من خلال ملاحظة موقع الحزمة ووزنها الجزيئي عند موقع 191bp مقارنة مع المقياس الحجمي DNA Ladder كما هو موضح في الصورة رقم (1) وهذا مطابق لما اشار اليه (31).

تم استخدام جين *AMPc* المضخم كقالب لتحليل وتحديد تتابع القواعد النتروجينية ثم مقارنة نتائج تتابعات القواعد النتروجينية للجين ضمن NCBI وذلك باستخدام برنامج BLAST والتي أظهرت نسب تشابه عالية مع الجين *AMPc* للسلالات قيد الدراسة مع السلالة القياسية، إذ تراوحت النسب بين (98-99%) كما هو موضح في الجدول رقم (7).

تم مقارنة النتائج لجين *AMPc* ضمن السلالات قيد الدراسة مع السلالة القياسية باستخدام Clustal W ضمن برنامج MEAGA 0.5 حيث ظهر تغاير بسيط في بعض القواعد مع وجود مناطق تدل على وجود طفرة زيادة أو نقصان أو استبدال في بعض القواعد النتروجينية.

تم ترجمة نتائج تتابعات القواعد النتروجينية لجين *AMPc* قيد الدراسة الى احماض امينية وذلك باستخدام Clustal W ضمن برنامج Mega 0.5 ومن ثم مقارنة ومطابقة نتائج الاحماض الامينية لآلزييم للسلالات قيد الدراسة مع بعضها ومع السلالة القياسية، حيث تبين من الشكل رقم (2) وجود تغاير في نسب التشابه بين السلالات والتي سببها وجود طفرات من نوع انتقال Transition اي تغير قاعدة بيورين-بيورين أو طفرة من نوع تحول Transversion اي تغير في نوع القاعدة من بيورين-بريميدين أو بريميدين-بيورين أو طفرة من نوع إضافة قاعدة نتروجينية واحدة أو زوج من القواعد frame shift أو طفرة من نوع نقصان وهذه الطفرات إما ناتجة عن طفرة ذاتية Spontaneous Mutation أو عن حدوث خطأ اثناء تضاعف الدنا أو تكون توتوميرات للقواعد النتروجينية وربما قد تكون هذه الطفرات من نوع missense أي ان الطفرة ادت الى تكوين حامض اميني جديد لكنه غير وظيفي أو ان الطفرة لم تؤثر على المواقع الفعالة active side او تكون ناتجة عن طفرة فيزيائيةتأثير الحرارة أو الاشعة فوق البنفسجية أو قد تكون ناتجة عن مواد كيميائية كتناول العقاقير بالنسبة للعزلات المرضية.



صورة رقم (1): موقع الحزم لجين *AMPc* عند 191bp للسلالات *Escherichia coli*

24. Fluit AC.; Visser MR. and Schmitz FJ. (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. Clin. Microbiol. Rev. 836-871.
25. Mycek MJ.; Harvey RA. and Champe PC. (2000). Lippincott's illustrated reviews pharmacology. Second edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
26. Raja RB. and Singh P. (2012). Synergistic effect of silver nanoparticles with the cephalexin antibiotic against the test strains. Biores. Bullet. 2(4):171-179.
27. Sondi I. and Solepek B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent, case study on *E.coli* as a model for Gram negative bacteria. J. Colloid. Interface. Sci. 275: 177-182.
28. Padmavathy N. and Vijayaraghavan R.(2008). Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study. Sci. Technol. Adv. Mater. 9:35-40.
29. Meruvu H.; Vangalapati M.; Chippada S. and Bammidi S.(2011). Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles and its antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. RASAYAN J. Chem. 4 (1): 217-222.
30. Fayaz M.; Tiwary CS.; Kalaichelvan PT. and Venkatesan R. (2010). Blue orange light emission from biogenic synthesized silver nanoparticles using *Trichoderma viride*. Colloids Surf. B. Biointerfaces. 75:175-178.
31. Al-Shamarti MJ. and Al-Muhanna AJ.(2011). Molecular Detection of *AmpC* Gene Encoding Antibiotic Resistance among *Klebsiella* spp. Isolated from Different Infections. J. Kufa Univ. Biol. 3(1): 1-8.
7. العبيدي، إياد محمد علي فاضل. (2012). التقنية الحيوية النانوية وتطبيقاتها المتقدمة في الطب والهندسة الوراثية وعلم الأحياء الجزيئي. الطبعة الأولى، دار الكتب والوثائق في بغداد.
8. Wang C.; Liu L.; Zhang A.; Xie P.; Lu J. and Zou X. (2012). Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on *Escherichia coli* K88. African J. Biotechnol. 11(44): 10248-10254.
9. Atlase RM.; Brown AE. and Parks L C. (1995). Laboratory Manual Experimental Microbiology. Mosby-Comp. p. 231.
10. Funke G.; Von Graevenitz A.; Glarridge JE. and Betnard KA. (1997). Clinical Microbiology Reviews. Vol. 10, American Society for Microbiology.
11. Winn W.; Allen S.; Janda W.; Koneman E., Procop G. Schreckemberger P. et al. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed., Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A. pp.318-321.
12. Gillespie SH. and Hawkey P M.(2006). Principles and practice of clinical bacteriology .2nded . John Wiley and Sons, Ltd. England.
13. Parks LC.; Brown AE. and Atlas R M. (1995). Laboratory Manual Experimental Microbiology, Mosby-Year Book, Inc., U.S.A.
14. NCCLS (National Committee for Laboratory Standards) (2002). Performance standard for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement M100-S12.
15. Amsterdam D. (1996). Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In: Loman, V., ed. Antibiotics in laboratory medicine, 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. p.52-111.
16. Bodour AA.; Drees KP. and Mair RM. (2003). Distribution of biosurfactant – producing bacteria in undisturbed and contaminated arid southwestern soils. Appl. Environ. Microbiol. 69(6): 3280-3287.
17. Caroff N.; Espaze E.; Berard I.; Richet H. and Reynaud A.(1999). Mutations in the *ampC* promoter of *Escherichia coli* isolates resistant to oxyiminocephalosporins without extended spectrum β -lactamase production .FEMS Microbiol. Lett. 137:459-465.
18. Baron EJ.; Finegold SM. and Peterson ILR. (2007). Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby Company. Missouri.
19. Salyers AA.; Gupta A. and Wang Y. (2004). Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. Trends. Microbiol. 12(9) : 412 – 416.
20. Hanaki H. (2004). Epidemiology and clinical effect against beta-lactam antibiotic induce. J. Antibiot. 78(8): 204-216.
21. Nester EW.; Anderson DG.; Roberts CE.; Pearsall NN. And Nester MT.(2001). Microbiology a Human Perspective .3rd ed. ;McGraw-Hill Companies, Inc .,New York.
22. Baron EJ.; Murray PR.; Tenver FC. and Yolk RH.(1999). Manual of Clinical Microbiology.6th ed. American Society for Microbiology .U.S.A.
23. Madigan MT.; Martinko JM. And Parker J.(2003). Prok Biology of Microorganisms.10th Ed .Prentice-Hall, Inc. London ,Sydney ,Pte. Ltd. Hong Kong, Toronto, S.A. dec.V.

الطرز المظهرية والجينية للإشريكية القولونية الممرضة للمعدة والأمعاء المسببة لإسهال الأطفال الرضع

إبراهيم عبد الكريم عبد الرحمن

كلية الطب البيطري/ جامعة الأنبار / جمهورية العراق

الملخص باللغة العربية

يعد الإسهال من الأخماج المنتشرة في العراق وأن من أهم مسبباته إشريكية القولون الممرضة للأمعاء حيث تصيب بطانة الأمعاء محدثة بذلك إسهالاً ولا سيما لدى الأطفال الرضع وبهدف دراسة التأثيرات المرضية لهذه البكتيريا فقد انصب التفكير الى الشروع بدراستها من بعض الجوانب.

أجريت هذه الدراسة في الفترة ما بين شهر تموز/ يوليو عام 2011 ولغاية شهر تموز/ يوليو عام 2012 . إذ جمعت (320) عينة براز من الأطفال الرضع المصابين بالإسهال. زرعت العينات مباشرة على الأوساط الزرع. تم تشخيصها مجهرياً، مزرعياً و كيميائياً فضلاً عن الفحوصات المصلية باستخدام الأمصال المضادة Antisera Kits. فضلاً عن توصيف بعض جيناتها مثل *eae*, *stx*, *bfp* المسؤولة عن خواصها المرضية في جميع الأنماط المصلية. أثبتت نتائج التشخيص أن (140) عينة عائدة إلى إشريكية القولون وتبين أن النمط المصلي السائد باستعمال الأمصال متعددة التكافؤ هو Type 1 وبنسبة 36% يتبعه الأمصال المتعددة التكافؤ Type 4 بنسبة 25% ثم الأمصال المتعددة التكافؤ Type 2, Type 3 بنسبة 19.5% لكليهما بينما وجد الأمصال الأحادية التكافؤ السائدة هو O55 بنسبة 22.22% يتبع O142 بنسبة 16.67% وقد اختبرت جميع عزلات الأنماط المصلية (36) للتأكد من احتوائها على مورثة المحددات المرضية ، إذ وجد 26 (73.3%) عزلة تحتوي المورثة *eae*، بينما لا توجد عزلة تحمل المورثة *stx* , *bfp* . صنفت EPEC الى نموذجية (*eae*⁺, *bfp*⁺) وغير نموذجية (*eae*⁺, *bfp*⁻) ولم يتم تشخيص بكتيريا الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء النموذجية في العزلات على حين بكتيريا إشريكية القولون غير نموذجية شخصت في 26 (73.3%) عزلة.

الكلمات المفتاحية: الطرز المظهرية، الطرز الجينية، الإشريكية القولونية الممرضة للمعدة والأمعاء

Phenotyping and genotyping characterization of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) that cause diarrhea among infants

Ibrahim A. Abdul- Rahman

College of Veterinary Medicine / University of Anbar / Republic of Iraq

ABSTRACT

The diarrhea is considered one of the widespread diseases in Iraq. One of the important encountered causative agents is Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) which invade the intestinal lining causing diarrhea especially in infants, we devote ourselves to start studying it from some its aspects. This study has been performed between July 2011-July 2012 , where in (320) stool samples were collected from the infantile diarrhea. These stool samples were cultured directly on media. microscopy, cultural, biochemical as well as serological tests by using antisera were used to identifying the EPEC bacteria, as well as characterize some their virulence genes as *eae*, *stx*, *bfp* in all serotyped EPEC isolates .Diagnosis results proved that (140) isolates belong to *Escherichia coli*. (36) isolates were belong to Enteropathogenic *E.coli* (EPEC), the highest number of the EPEC isolated belonging to polyvalent type1 (36%) , followed by polyvalent Type 4 with rate (25%) , followed by polyvalent Type 2, Type 3 with rate (19.5%) for both and the highest number of the EPEC isolated belonging to monovalent O55 (22.22%) followed by O142(16.67%). The encoding virulence genes were tested by PCR for all the 36 serotyped EPEC isolates only 26(73.3%) isolates gave positive results with an *eae* gene, none of the EPEC isolates were positive for *bfp* and *stx* genes . EPEC isolates were classified as typical (*eae*⁺, *bfp*⁺) or atypical (*eae*⁺, *bfp*⁻) . typical EPEC was not diagnosed in any isolated. while ,atypical EPEC was diagnosed in 26(73.3%) isolates.

المقدمة

لمدة (18-24) ساعة ومن ثم حفظها بدرجة 4 م°، وأما الحفظ لمدة طويلة فاستعمل مرق نقيع القلب والدماغ المضاف إليه كليسرول (20%) ثم حفظت العزلات بدرجة 20- م° (12).

تشخيص البكتيريا:

أجريت الفحوصات المجهرية والكيموحيوية اعتماداً على المصادر العلمية المتبعة عالمياً لتشخيص البكتيريا (13) والموضحة في الجدول رقم (1).

التشخيص المصلي:

تم إرسال كافة العزلات الجرثومية للإشريكية القولونية والمعزولة من خروج الأطفال المصابين بالإسهال إلى بغداد لغرض تنميطها مصلياً في قسم مختبرات الصحة العامة / وزارة الصحة . وذلك باستخدام طريقة التلازن على الشريحة الزجاجية مع مضادات الأمصال المتعددة التكافؤ المجهزة من شركة BioRad الفرنسية ، وفي حالة التفاعل الموجب تعاد نفس الطريقة ولكن باستخدام مضادات المصل أحادية التكافؤ لحين الوصول إلى نوع المصل المضاد الذي يعطي تلازناً موجباً.

الكشف عن جينات الضراوة:

استخلصت عينات الدنا الجينومي والبلازميدي للعزلات البكتيرية باستخدام عدداً استخلاص الدنا الجينومي والبلازميدي المنتج من شركة بروميكا ذي الرقم التسلسلي A1120 باسم منتج Wizard® Genomic DNA Purification KitPureYield™ Plasmid Miniprep System، والبائانات النوعية التي تستهدف جينات الهدف (eae, stx, bfp) وفقاً لما ذكره (14) والمجهزة من شركة Biocorp والمبينة في الجدول رقم (2)، تم تحضير خليط التفاعل الرئيس كما هو مبين في الجدول رقم (3)، وتم الحصول على التراخيص النهائية لها باستخدام المعادلة الآتية: 1× ح = 2× ح2. أما حجم الماء المضاف فاستخرج عن طريق المعادلة الآتية: حجم الماء = حجم التفاعل الكلي - مجموع مكونات التفاعل الأخرى بحسب (15)، مع مراعاة وضع الأنابيب داخل الثلج في أثناء إجراء عمليات مزج المكونات الأساسية للتفاعل لتجنب حدوث تفاعلات تؤدي إلى تلف المواد الممزوجة أو حدوث مسخ للمتفاعلات أدخلت الأنابيب بعناية في جهاز المبلمر الحراري لإجراء التفاعل وباستعمال البرنامج المناسب في التضاعف الذي تم تطبيقه على وفق برنامج خاص بحسب (14) وكما هو مبين في جدول رقم (4)، بعد انتهاء وقت التفاعل، تم حمل المزيج في حفر هلام الأكاروز المحضر بتركيز (1.2 %) مع تخصيص حفرة لتحميل الدليل الحجمي (100 bp) وبعدها تم ترحيل العينات بجهاز الترحيل الكهربائي لمدة ساعة ونصف، ومن ثم وضع الهلام داخل صبغة الأيثانديوم لمدة ساعة ليتم تصبغ الجينات المطلوبة، بعدها تم تصوير الهلام بجهاز التصوير بالأشعة فوق البنفسجية Gel documentation.

يعد مرض الإسهال في عموم العالم ثاني أسباب الوفيات في الأطفال دون الخامسة من العمر خصوصاً الأطفال الرضع (1) ولا سيما البلدان النامية ففي هذه البلدان يعد الإسهال السبب في موت (12600) طفل يومياً دون سن الخامسة من العمر ، وأن (80%) من هذه الحالات تحدث في السنتين الأولى من العمر (2) ، ويكون سبب الموت هو حدوث الجفاف بسبب فقدان كمية كبيرة من سوائل الجسم (3)، وقد صنفت بكتيريا *E. coli* المسببة للإسهال إلى ست سلالات ممرضة اعتماداً على جينات عوامل الضراوة (4)، وتعد سلالة الإشريكية القولونية الممرضة للمعدة والأمعاء — *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) من الممرضات المسببة لموت العديد من الأطفال تحت عمر الخمس سنوات نتيجة الإصابة بالإسهال خصوصاً في الدول النامية (5)، وفي الوقت الحاضر يمكن تمييز EPEC اعتماداً على الخصائص الممرضة الجزيئية *molecularpathogenic characteristic* إذ تصنف بكتيريا إشريكية القولون المسببة للإسهال ضمن EPEC إذا كانت تمتلك جين الارتباط والطمس *Enteropathogenic E. coli attaching and effacing (eae)* ولكن غير منتجة لسموم الشيكا Shiga toxins ، ويقع جين *eae* في المنطقة الكروموسومية المولدة للأمراضية وهو الذي يعرف بموقع طمس الخلايا المعوية *Locus of Enterocyte Effacement* (LEE) (7، 8)، وبتتابع الدراسات وجد أن هناك جيناً يقع على البلازميد ويؤدي دوراً في التصاق EPEC عن طريق تكوين الشعيرات المكونة للحزم *Bundle Forming Pilus (BFP)*، واعتماداً على جينات الضراوة يوجد نوعان مختلفان من EPEC النموذجي *Typical EPEC* وغير النموذجي *Atypical EPEC* (8، 9)، إن إشريكية القولون الممرضة للأمعاء النموذجية تستعمل حزمة من الشعيرات *Bundle Forming Pilus (BFP)* للتصاق وبروتين الانتيامين *Intimin* لاستعمار الأمعاء أما إشريكية القولون الممرضة للأمعاء غير النموذجية فتحتوي بروتين الانتيامين فقط (10).

عينة المرضى وطرق العمل

جمع العينات:

جمعت (320) عينة براز من الأطفال المصابين بالإسهال والذين كانت أعمارهم سنتين فما دون من مستشفى الفلوجة العام في محافظة الأنبار في الفترة الممتدة من أوائل شهر تموز 2011 ولغاية شهر تموز 2012 حيث وضعت العينات في حاويات معقمة (ذات استخدام لمرة واحدة وحماية على سداد محكم)، وشملت الدراسة مسحا لعمر الطفل، جنسه، طبيعة الرضاعة، ترتيب الطفل، مصدر المياه، وتاريخ جمع العينة لغرض دراسة تأثير الفصول على الإصابة EPEC وتجديد أنماط المقاومة للمضادات الحيوية لـ EPEC .

عزل البكتيريا:

بعد جمع العينات وخلال فترة لا تتجاوز الساعة تم زرع النماذج باستخدام الناقل Loop بطريقة التخطيط على وسط اكار الماكونكي الصلب ثم حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة (37) م° ولمدة (18-24) ساعة وبعد مدة الحضانة تم قراءة النتائج لبكتيريا *E. coli* تكون مخمرة لسكر اللاكتوز مستعمراتها وردية أو حمراء وتم تنقية هذه المستعمرات لأكثر من مرة للحصول على عزلات نقية ولغرض التشخيص التاكديدي لإشريكية القولونية ، لفحت المستعمرات المنقاة على وسط الأيوسين مثلين الأزرق (EMB) بطريقة التخطيط ، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة (37 م°) لمدة (18-24) ساعة بعدها لوحظ شكل مستعمرات الإشريكية القولونية التي تكون صغيرة الحجم وملساء ذات بريق معدني أخضر (11)، حفظت العزلات مؤقتاً على وسط مائل الأكار المغذي بعد تلقيحه بالمستعمرات النقية وتحضينه بدرجة (37) م°

جدول رقم (1): الفحوصات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص *E.coli*

أرقام العزلات	عدد العزلات	النمو على وسط EMB	Gram stain	Motility	Indole	Methyl Red	Voges-Proskauer	Simmon citrate	Catalase	Oxidase	Urease	H ₂ S	Nitrate Reduction	Starch Hydrolysis	Glucose	Lactose	Dnase
125 -1	125	ذات بريق معدني مخضر	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-
-126 140	15	ذات بريق معدني مخضر	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-

(+): نتيجة موجبة (-): نتيجة سالبة

جدول رقم (2): البادئات المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل

اسم البادئ	تسلسل القواعد 5→3	حجم الجين المستهدف bp
<i>eae</i> -F	TCAATGCAGTTCCGTTATCAGTT	482
<i>eae</i> -R	GTAAAGTCCGTTACCCCAACCTG	482
<i>Stx</i> -F	AGTTAATGTGGTGGCGAAGG	306
<i>Stx</i> -R	TGTGAAAAATCAGCAAAAGCG	306
<i>bfp</i> -F	AATGGTGTCTGCGCTTGCTGC	324
<i>bfp</i> -R	TACCAGGTTGGATAAAGCGGC	324

جدول رقم (3): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل

المكونات	الحجم لعينة واحدة (μl)	التركيز النهائي
الماء المقطر	5.5	—
Green Master Mix.	12.5	1X
Primer forward	2.5	Pmol/μl10
Primer reverse	2.5	Pmol/μl10
DNA template	2	—
الحجم النهائي	25	—

جدول رقم (4): برنامج جهاز المبلر الحراري الخاص لمزيج تفاعل PCR لبادئات (*eae, stx, bfp*)

درجة الحرارة C	الزمن	عدد الدورات	الخطوات الرئيسية
95	2 د	1	المسخ الأولي لشريط الدنا Initial denaturation
93	45 ثا	35	مسح دنا القالب Denaturation
58	30 ثا		ارتباط البادئات بدنا القالب Primer annealing
72	45 ثا		استطالة البادئات المرتبطة المرترطة Primer extension
72	7 د	1	الاستطالة النهائية Final extension

النتائج

باستخدام الأمصال الأحادية التكافؤ ، وبين الجدول رقم (6) نتائج التشخيص باستخدام هذه الأمصال إذ وجد أن O55 هو النمط المصلي الأحادي التكافؤ الأكثر شيوعاً في دراستنا الحالية، بنسبة (22.22%) ثم يليه النمط المصلي الأحادي التكافؤ O142 بنسبة (16.67%) ويتبعه كل من الأنماط المصلية O111 و O125 و O126 بنسبة (11.11%) ثم O119 و O114 و O127 بنسبة (5.56%) وأخيراً O128 و O26 و O124 بنسبة (2.77 %) ، وبعد ترحيل ناتج تفاعل PCR للكشف عن جين (*eae*) على هلام الاكاروز بتركيز (1.2%) وفحصه بالأشعة فوق البنفسجية ظهرت حزم ذات حجم جزئي (482) زوجاً قاعدياً

من مجموع الأطفال الرضع المصابين بالإسهال والبالغ عددهم 320 طفل شخصت بكتيريا *E.coli* في (140) طفل بينما الإصابة EPEC في (36) أي بنسبة (25.7%) إذ تبين من نتائج توزيع بكتيريا EPEC وفق الأمصال المتعددة التكافؤ المثبتة في الجدول رقم (5) أن الأنماط المصلية الأكثر شيوعاً باستعمال الأمصال المتعددة التكافؤ هي Type 1 بنسبة (36%) ثم يليه الأمصال المتعددة التكافؤ Type 4 بنسبة (25%) وأخيراً Type 2 و Type 3 بنسبة (19.5%) لكليهما، وقد اختبرت العزلات

موضح في الصورة رقم (1)، أما ناتج تفاعل PCR للكشف عن جين *(bfp)* و *(stx)* بعد ترحيله على هلام الاكاروز لم يظهر وجود أي حزمة للجين *(bfp)* و *(stx)* في جميع عزلات EPEC كما هو مبين في الصورة رقم (2) و رقم (3).

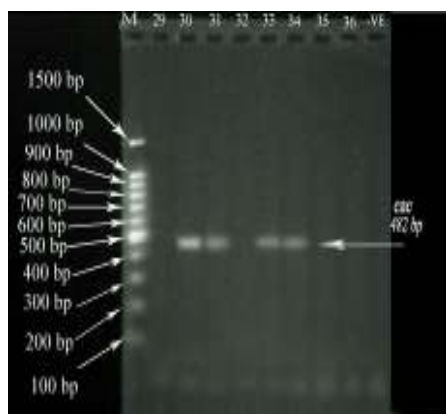
للعينات الستة والعشرين من دنا كروموسومي التي تتمثل بالعزلات الأتية (1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 , 9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 , 19 , 20 , 22 , 23 , 25 , 26 , 27 , 30 , 31 , 33 , 34 ولم تظهر هذه الحزم في العينات العشرة الأخرى التي تتمثل بالحزم الأتية (7 , 8 , 18 , 21 , 24 , 28 , 29 , 32 , 35 , 36) مما يعني عدم وجود الجين في هذه العزلات كما هو

جدول رقم (5): توزيع EPEC وفق الأمصال المتعددة التكافؤ

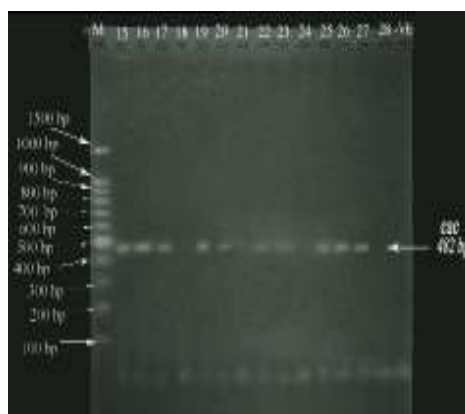
النسبة المئوية	العدد	الأمصال متعددة التكافؤ
36.0	13	Type 1
19.5	7	Type 2
19.5	7	Type 3
25.0	9	Type 4

جدول رقم (6) توزيع EPEC وفق الأمصال الأحادية التكافؤ

النسبة المئوية	العدد	الأمصال أحادية التكافؤ
11.11	4	O126
22.22	8	O55
11.11	4	O86
11.11	4	O111
16.67	6	O142
5.56	2	O125
2.77	1	O127
2.77	1	O128
5.56	2	O114
2.77	1	O26
5.56	2	O119
2.77	1	O124
100	36	المجموع



1- C



1- B

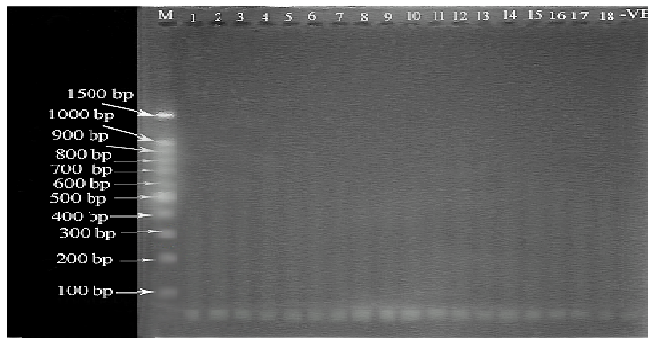


1- A

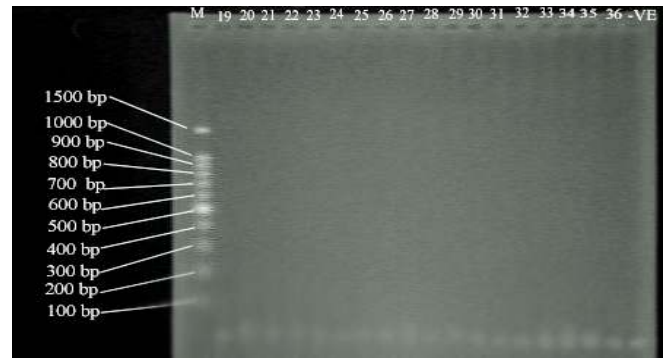
صور رقم (1): الترحيل الكهربائي لناتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا باستعمال البادئين *M*, *eaeR*, *eaeF*: الدليل الحجمي، 100bp -VE: معاملة السيطرة من دون عينة الدنا 482 bp. زوج من القواعد النتروجينية

جدول رقم (7): الترميز الجيني لعزلات EPEC المشخصة مصليا

رمز العزلة	الترميز المصلي للعزلة	نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل	النمط الجيني
1	O125		Atypical EPEC
2	O55		Atypical EPEC
3	O111		Atypical EPEC
4	O142		Atypical EPEC
5	O 86		Atypical EPEC
6	O 142		Atypical EPEC
7	O111		Non – EPEC
8	O126		Non – EPEC
9	O 55		Atypical EPEC
10	O 142		Atypical EPEC
11	O142		Atypical EPEC
12	O114		Atypical EPEC
13	O119		Atypical EPEC
14	O 114		Atypical EPEC
15	O 142		Atypical EPEC
16	O 86		Atypical EPEC
17	O 125		Atypical EPEC
18	O 86		Non – EPEC
19	O 142		Atypical EPEC
20	O 127		Atypical EPEC
21	O 128		Non – EPEC
22	O 126		Atypical EPEC
23	O 26		Atypical EPEC
24	O 111		Non – EPEC
25	O 55		Atypical EPEC
26	O 126		Atypical EPEC
27	O 55		Atypical EPEC
28	O 55		Non – EPEC
29	O 124		Non – EPEC
30	O86		Atypical EPEC
31	O 111		Atypical EPEC
32	O55		Non – EPEC
33	O 119		Atypical EPEC
34	O 125		Atypical EPEC
35	O 55		Non – EPEC
36	O 55		Non – EPEC

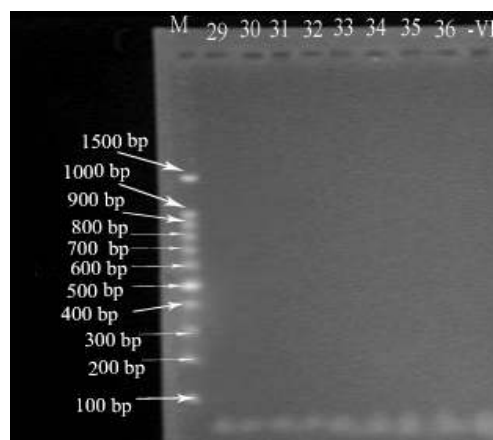


2- B

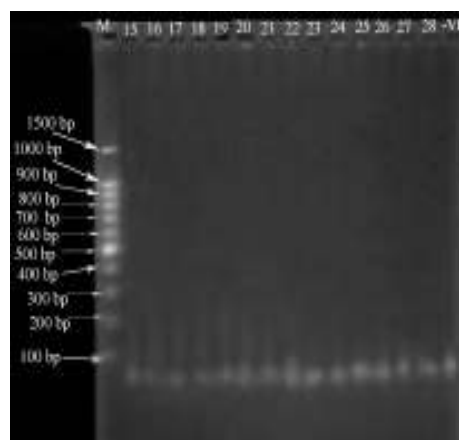


2- A

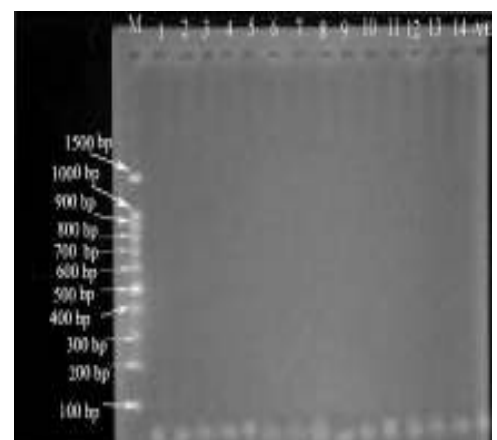
صور رقم (2): الترحيل الكهربائي لنتائج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا باستعمال البادئين *bfpr*, *bfpr*, *M*: الدليل الحجمي، 100bp-VE، معاملة السيطرة من دون عينة الدنا، زوج من القواعد النتروجينية



3- C



3- B



3- A

صور رقم (3): الترحيل الكهربائي لنتائج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا باستعمال البادئين *stxr*, *stxr*, *M*: الدليل الحجمي، 100bp, VE - معاملة السيطرة من دون عينة الدنا، زوج من القواعد النتروجينية

المناقشة

أعمار الأطفال. ووجد أن O55 هو النمط المصلي الأحادي التكافؤ الأكثر شيوعاً في الدراسة الحالية، وقد وجد في دراسة أجريت في جنوب إفريقيا أن النمط المصلي الأحادي التكافؤ الشائع هو O55 (16)، وهذه النتيجة تتفق مع النتيجة التي تم التوصل إليها في الدراسة الحالية، في حين أن O111 و O111 K69 و O126 K7 و O126 K58 هي الأكثر شيوعاً في الفلوجة بحسب دراسة (17)، أما في محافظة بابل فقد تم التوصل إلى أن O142 هو النمط المصلي الأحادي التكافؤ الأكثر شيوعاً (19)، وقد يعزى هذا التباين إلى اختلاف الموقع الجغرافي والمدة الزمنية للدراسة واختلاف أعمار الأطفال الذين أخذت منهم النماذج وكذلك اختلاف عدة التشخيص.

إن ظهور (26) حزمة تمثل الجينات المشفرة لعامل (*eae*) أي بنسبة (73.3%) من أصل 36 نمطاً مصلياً يتوافق مع ما توصل إليه (11) إذ تبين أن نسبة وجود الجين كانت (75%) من مجموع الأنماط المصلية لـ EPEC. ونتائج الدراسة الحالية أقل من نتائج دراسة التي أجريت في إيران إذ كانت جميع الأنماط المصلية ليكتريا إشريكية القولون الممرضة للأمعاء تحمل الجين *eae* أي بنسبة (100%). على حين كانت نتائج الدراسات الأتية أقل من النتائج التي توصلت إليها في الدراسة الحالية، إذ وجد (13) أن حزم هذا الجين وجدت بنسبة (40.5%) من مجموع الأنماط المصلية. وفي السلیمانانة أجريت دراسة لتصنيف بكتيريا إشريكية

جاءت نتائج عزل EPEC في هذه الدراسة متوافقة إلى حد ما مع نتيجة الدراسة التي أجراها Roux و Galane في جنوب إفريقيا إذ وجد أن نسبة عزل EPEC هي (26.5%) (16)، وفي الفلوجة وجد العاني أن نسبة EPEC هي (20.46%) (17)، وكانت نتائج الدراسة الحالية أقل من النتائج التي تم التوصل من خلالها في إيران أن نسبة EPEC هي (44.9%) (18)، وفي محافظة بابل وجد أن نسبة EPEC قد بلغت (35.1%) (19)، وفي محافظة البصرة وجد أن نسبة EPEC هي (52%) (20)، وربما يعزى سبب هذا الاختلاف في النسب المئوية إلى الاختلاف في الظروف البيئية المختلفة لمواقع هذه الدراسة والمدة الزمنية لإنجاز البحث والاختلاف في عدد العينات، وقد بينت الدراسة الحالية أن الأنماط المصلية الأكثر شيوعاً باستعمال الأمصال المتعددة التكافؤ هي Type 1 بنسبة (36%) وهذه النتيجة لا تتطابق مع ما وجدته علي في محافظة النجف، إذ وجد أن Type 2 و Type 3 هما من أكثر الأنماط المصلية المتعددة التكافؤ شيوعاً (21)، وفي ديالى تبين أن Type 2 هو النمط المصلي المتعدد التكافؤ السائد (22)، وهذا التباين والاختلاف في الأمصال المتعددة التكافؤ قد يعزى إلى الموقع الجغرافي واختلاف الظروف البيئية والمناخية والاختلاف في عدد العينات والمدة الزمنية لإجراء البحث وكذلك الاختلاف في

extract of aeglemarmelos fruit on adherence and β -lactam of enteropathogenic *E. coli* by down regulation outer membrane protein C. Amer. J. Infect. Dis. 5(2):161-169.

6. Wani SA.; Hussain FI.; Mir MA. and Nishikawa Y. (2008). Subtype analysis of *stx1*, *stx2* and *eae* genes in Shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC) and typical and atypical enteropathogenic *E. coli* (EPEC) from lambs in India. J. TVJL. 7-17.

7. McDaniel TK.; Jarvis KG.; Donnenberg MS. and Kaper JB. (1995). A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92: 1664-1668.

8. Trabulsi LR.; Keller R. and Tardelli GTA. (2002). Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. Emerg. Infect. Dis. 8:508-513.

9. Hien BT.; Trangdo T.; Scheutz F.; Cam PD.; Molbak K. and Dalsgaard A. (2007). Diarrhoeagenic *Escherichia coli* and other causes of childhood diarrhoea: a casecontrol study in children living in a wastewater-use area in Hanoi, Vietnam. J. med. microbial. 56:1086-1096.

10. Cheng C.; Tennant S M.; Azzopardi KI.; Bennett - Wood V.; Hartland E L.; Robins-Browne RM. and Tauschek M. (2009). Contribution of the *pst*-*phoU* operon to cell adherence by atypical enteropathogenic *E. coli* and virulence *Citrobacter rodentium*. Am. Soc. Microbiol. 77(5): 1936-1944.

11. Giammanco A.; Maggio M.; Giammanco G.; Morelli R.; Minelli F. and Scheutz F. (1996). Characteristics of *Escherichia coli* strains belonging to Enteropathogenic *E. coli* serogroups isolated in Italy from children with diarrhea. J. Clin. Microbiol. 34: 689-694.

12. Asadi KMR.; Bouzari S.; Oloomi M.; Aslani MM. and Jafari A. (2010). Phenotypic and Genotypic Characterization of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) strains in Tehran, Iran. Iran. J. Microbiol. 2 (1): 3-7.

13. Alikhani MY.; Mirsalehian A. and Aslani MM. (2006). Detection of typical and atypical Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Iranian children with and without diarrhoea. Iran. J. Microbiol. 55: 1159-1163.

14. Arif SK. and Salih IF. (2010). Identification of Different Categories of Diarrheagenic *Escherichia coli* in Stool Samples by Using Multiplex PCR Technique. Asian J. Med. Sci. 2(5): 237-243.

15. Kaper JB.; Nataro JP. and Mobley HL. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. Nat. Rev. Microbiol. 2:123-140.

16. Galane PM. and Roux M. (2001). Molecular Epidemiology of *Escherichia coli* Isolated from Young South African Children with Diarrhoeal Diseases. J. Health Population Nutr. 19:31-38.

17. العاني، إبراهيم عبد الكريم عبد الرحمن. (2007). دراسة الاشريكية القولونية الممرضة للأعما المعزولة من الأطفال المصابين بالإسهال في مستشفى الفلوجة. مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة. 1 (1): 19-27.

18. Alikhani MY.; Mirsalehian A. and Aslani MM. (2006). Detection of typical and atypical Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in

القولون الممرضة للأعما إلى نموذجية وغير نموذجية (14) وهي تعد الأولى في العراق إذ وجد الجين *eae* بنسبة (63.1%) من مجموع (19) عزلة إشريكية القولون .

أما بالنسبة لوجود الجين *bfp* الذي يشفر لحزمة مكونة من الأهداب التي لها دور في التصاق البكتريا بالخلايا الظهارية للأعما لم يظهر على هلام الاكاروز وجود أي حزمة للجين *bfp* في جميع عزلات EPEC وهذا يعود إلى عدم امتلاك هذه العزلات للجين *bfp* أو قد تكون البكتريا فاقدة البلازميد المحمول عليه الجين وقد يكون ذلك سبباً في عدم ظهور الحزم في جميع عزلات EPEC وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه Nguyen وجماعته، في القتنام إذ لم تظهر أي من العزلات بعد إجراء عمليات التضخيم على الجين نتيجة إيجابية وهذا دلالة على أنها لا تحمل هذا العامل (1)، وفي جنوب إفريقيا توصلت دراسة (16) إلى وجود الجين في (3.3%) من مجموع العينات.

ومن نتائج الكشف عن الجين المشفر لسم الشبكا والذي يقع على كروموسوم بكتيريا إشريكية القولون النزفية والذي استخدم في هذه الدراسة لغرض تمييز بكتيريا إشريكية القولون الممرضة للأعما عن بكتيريا إشريكية القولون النزفية عدم احتوائها على جين *stx*، وقد بينت النتائج كما هي موضحة بالصورة رقم (3) عدم ظهور حزم على هلام الاكاروز مما يدل على انعدام وجود الجين في جميع العزلات وعدم وجود عزلة تعود إلى بكتيريا إشريكية القولون النزفية من بين عزلات الدراسة وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه في الفيتنام (1)، والسليمانية (14)، وفي إيران (12) حيث وجدوا في دراساتهم أن نسبة إشريكية القولون النزفية (0%).

وبين الجدول رقم (7) أن نسبة بكتيريا إشريكية القولون الممرضة للأعما (73.3%) من مجموع الأنماط المصلية فكانت بكتيريا إشريكية القولون النموذجية Typical EPEC نسبتها (0%) في حين بكتيريا إشريكية القولون غير النموذجية Atypical EPEC (73.3%) وجاءت هذه النتيجة متوافقة إلى حد ما مع ما توصل إليه (1)، على حين في السليمانية (14)، وجد أن نسبة EPEC (63.1%) النموذجية تشكل (42.6%) وغير النموذجية (20.5%) أما في إيران (12) فقد وجد أن نسبة بكتيريا EPEC هي (44.9%) من الأنماط المصلية شكلت بكتيريا إشريكية القولون النموذجية (9%) على حين غير النموذجية (31.5%).

إن التباين في هذه النسب يرجع إلى الاختلاف في الموقع الجغرافي واختلاف الظروف البيئية والمناخية، والاختلاف في عدد العينات والمدة الزمنية لإجراء البحث، وكذلك الاختلاف في أعمار الأطفال. كما أن النسب العالية في هذه الدراسة ربما يعود إلى الافتقار إلى النظافة، وكذلك تلوث المياه والطعام.

المصادر

1. Nguyen TV.; Van P L.; Chinh L H.; Khanh G. and Andrej W. (2005). Detection and Characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from young children in Hanoi, Vietnam. J. Clin. Microbiol. 43(2): 755-760.
2. Mehdi LK. (1998). Infantile bacterial diarrhea in relation to the type of feeding. Ph.D. Thesis, College of Medicine, Al-Nahrain University. Iraq.
3. Pokharel M.; Sherchand JB.; Upreti HC.; Katuwal A. and Gauchan P. (2009). A perspective study on the etiology of diarrhea in children less than 12 year of age attending Kantichildrens hospital. J. Nepal. Paediatr. Soc. 29 (1):10-19.
4. Bii CC.; Taguchi TT.; Ouko LW.; Muta N. and Kamiya S. (2005). Detection of virulence-related genes by multiplex PCR in multidrug-resistance diarrheagenic *E. coli* isolates from Kenya and Japan. Epidemiol. Infect. 133:627-633.
5. Raja SB.; Murali MR.; Malathi G K.; Anbarasu K. and Devaraj SN. (2009). Effect of aqueous

Iranian children with and without diarrhea. J. Health Population Nutr.55: 1159–1163.

19. جابك ، سرى إحسان عيد (2010). دراسة بعض عوامل الضراوة لبكتريا اشيريكيا القولون الممرضة للأمعاء المعزولة من حالات الإسهال الحاد لدى الأطفال الرضع في محافظة بابل . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل، العراق.

20. Hasony HJ.(1996). The occurrence of diarrhoeagenic *E. coli* among children under five of age in Basra Southern Iraq. Bahr. Med. Bull. 18:1-7.

21. علي، زهرة محسن (2007) . دراسة بكتيريولوجية ووراثية لبكتريا القولون المرضية في محافظة النجف الأشرف . أطروحة دكتوراه، كلية التربية للبنات، جامعة الكوفة، العراق.

22. Ali A I. and Abood WN. (2010). Possible correlation between O- antigen serogroup of Enteropathogenic/Enteroinvasive *E.coli* and infection with *Giardia lamblia* and *Entamoebahistolitica* as a possible pathological strategy for acute diarrhea among children of Baghdad governorate . J. Diyala. 6:205-226.

قابلية نمو مجتمع الطحالب في برك مياه الأمطار المتجمعة غرب مدينة بغداد

أحمد إبراهيم جاسم، أحمد عيدان الحسيني

وزارة العلوم والتكنولوجيا/بغداد / جمهورية العراق

الملخص باللغة العربية

أثرت مياه الأمطار المتجمعة إيجابيا في نمو المجتمعات الطحلبية الخضراء والمزرقة والدينوفلاجليت وذلك لاحتواء مياه الأمطار على مواد مذابة تعتبر مغذيات للكائنات ذاتية التغذية منها الطحالب الخضراء والمزرقة. وانقسمت فترة الدراسة الى مرحلتين الاولى فحص مياه الامطار قبل الوصول للأرض، وعلى طول فترة الدراسة الممتدة من شهر كانون اول 2012 و لغاية شباط 2013 للتعرف على بعض خواص مياه الامطار وما أذابتها من ملوثات، فقد تميز الحصاد الاول والثاني والثالث بحامضية العينات المقاسة pH 5.42-5.56 مع ارتفاع تراكيز النترات $[NO_3]$ والكبريتات $[SO_4]$ مع انخفاض تراكيز الفسفور $[P]$ فيها. كما وارتفعت قيمة الدالة الحامضية pH الى 4.16 - 6.53 مع انخفاض طفيف في تراكيز النترات $[NO_3]$ و الكبريتات $[SO_4]$ وبقاء تراكيز الفسفور منخفضا $[P]$. اما المرحلة الثانية التي استمرت على مدى أربع أشهر من شهر آذار 2013 - ولغاية شهر حزيران 2013، فقد درست 5 برك مختلفة لمياه الامطار. أظهرت النتائج احتواء برك الماء المتكونة بفعل الامطار على تراكيز من النترات $[NO_3]$ والفسفور $[P]$ والكبريتات $[SO_4]$ التي اعطت دعما لنمو انواع مختلفة من الطحالب الخضراء و الخضراء المزرقة و الدياتومات مع وجود الدينوفلاجليت المدرع في ثلاث برك من اصل خمسة في شهر آذار ونيسان مع اختفائها في شهر ايار و حزيران، مع التباين في قيم الدوال الهيدروجينية لجميع برك مياه الامطار.

الكلمات المفتاحية: برك مياه الأمطار، الطحالب الخضراء، الطحالب المزرقة

Ability of green and blue green algae to grow in rainwater ponds at west of Baghdad city

Ahmed I. Jessim and Ahmed A. Al-Hussieny

Ministry of Sciences and Technology / Baghdad/ Republic of Iraq

ABSTRACT

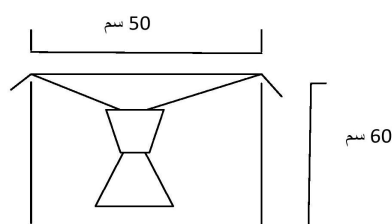
The aggregated rainwater affect positively in growing of green and blue green algae populations Dinoflagellate, due to rainwater quantity of dissolved materials, which considered as nutrients for autotrophic organisms such as Algae, Blue green algae. The study period divided in two stages. First stage is to examine rainwater before arriving land, along study period from January 2012 until February 2013 to identify some of rains properties, and dissolved pollutants, the first, second and third harvesting of rainwater distinguished with acidity of measured samples, pH 5.42-5.56 with increasing of Nitrate $[NO_3]$ and Sulphate $[SO_4]$ and reducing of Phosphorous concentrations $[P]$. In addition, the pH value reached to 4.16 - 6.53 with fine increasing in concentrations of $[NO_3]$ and $[SO_4]$, with no increasing of $[P]$. Along study period from Mars 2013 - May 2013. At second stage, five different rainwater ponds studied. Results showed rainwater ponds are contain a concentration of $[NO_3]$, $[P]$ and $[SO_4]$, which support to grow different types of green algae, blue green algae and diatoms with a presence of armored Dinoflagellate in three rainwater ponds from five ponds at Mars and April, and despaired in May and June, with a variable pH values for all rainwater ponds.

المقدمة

لخفض نموها (17)، تزيد الفعاليات الحضرية من تراكيز المواد العضوية و اللاعضوية التي تساهم غالبا والى حد كبير في زيادة الملوثات البيئية التي تكون سببا رئيسيا في زيادة نمو الطحالب الخضراء ومنها الهائمات النباتية التي عرف كثير من انواعها بسميتها للإنسان والحيوانات البرية والمائية على حد سواء (18). للطحالب دورا مهما في تثبيت ثاني اوكسيد الكربون CO_2 من خلال الملوثات القادمة الى البيئة عن طريق مياه الصرف الصحي التي تحتوي على كثير من المواد المغذية للطحالب مثال ذلك طحلب *Chlorella vulgaris* (19). تنقل الامطار المغذيات المهمة للطحالب من ضمنها الانواع السامة، وتعمل على اجراء غسيل للتربة والاشجار والمزروعات، اضافة الى العلاقة الفعالة والمعقدة بين ظروف الجسم المائي والحالة الكيميائية والفيزيائية له مع نمو الطحالب الخضراء المزرققة، ووجود عوامل التبخر التي تعمل على تركيز هذه المواد في الجسم المائي لتعطي دعما لازدهار ونمو الطحالب الخضراء المزرققة علاوة على تفضيلها لارتفاع درجات الحرارة، اما في فترات حصول الامطار فسيرتفع عمود الماء مؤديا الى حصول تخفيف في تراكيز المغذيات مسببة حصول نمو اقل مما كان في فترات الجفاف او توقف هطول الامطار، ويتوقع زيادة ازدهار الطحالب الخضراء المزرققة بسبب تغير المناخ وارتفاع درجات الحرارة وتغير انماط هطول الامطار، وان زيادة المادة الحية تخضع لظروف عديدة مشتركة تخضع لعامل مهم الا وهو توفر المغذيات وارتفاع او انخفاض عمود الماء مع ارتفاع درجات الحرارة وهو ايضا يدعم نمو الطحالب الخضراء المزرققة (20). تعتبر الطحالب هي من افضل المؤشرات الحيوية لهذه الملوثات القادمة الى المياه بكل انواعها لما تمتاز به من خواص تميزها عن كثير من الكائنات الاخرى منها امتيازها بتوزيع زمني ومكاني واسع، والعديد من انواعها متوفر طول العام، و تتميز بسرعة استجابتها للملوثات البيئية، و وجودها في المياه الملوثة يعطي مدى واسع وسهولة للتحري عن الملوثات حسب تفضيل الطحلب لنوع مخصص من تلك الملوثات، وترتبط بعض الانواع مع نوع محدد من التلوث خصوصا التلوث العضوي وعلى سبيل المثال لا الحصر نجد ان العديد من اجناس الطحالب و التي لها انواع تنمو جيدا في المياه التي تحتوي على تراكيز عالية من الملوثات العضوية، الطحالب الخضراء كلاميدوموناس *Chlamydomonas*، يوجلينا *Euglena*، دياتومات *Diatoms*، نافيكولا *Navicula*، سينيدرا *Synedra* و الطحالب الخضراء المزرققة اوسلاتوريا *Oscillatoria* والفورميديوم *Phormidium* التي تتحمل تراكيز عالية من الملوثات العضوية (21). وتهدف هذه الدراسة الى معرفة قابلية الطحالب الخضراء والخضراء المزرققة للنمو في برك مياه الامطار المتجمعة.

المواد وطرق العمل

جمعت عينات ماء المطر عن طريق الحصاد الآلي بواسطة وعاء مفتوح قطر 50 سم مقبوع عند المركز وارتفاع 60 سم عن سطح الارض حيث وضع تحته دورق مخروطي معقم سعة واحد لتر (الشكل رقم 1) (1). في منطقة مقاطعة 17 سويب غرب بغداد. ونقلت العينات الى مختبرات مركز بحوث ومختبرات المياه لاجراء بعض الفحوصات الكيميائية والفيزيائية على العينات التي تضمنت قياس تراكيز النترات $[NO_3]$ و الفسفور $[P]$ و الكبريتات $[SO_4]$.



شكل رقم (1): مصيدة الامطار

التلوث البيئي هو احد أهم المواضيع المطروقة على الساحة، وهو مصدر قلق دائم لمختلف الشرائح من العالم و ذلك لتعدد أسباب تأثيره على كل من صحة الإنسان و اشكال تأثيره على البيئة، وبعد التلوث البيئي بمختلف اشكاله خصوصا الهوائي من اكبر المشاكل التي تواجهها المجتمعات الحضرية الصناعية منها، عن طريق زيادة المطروح من الملوثات الضارة بالبيئة والمنبعثة الى الجو، لذلك اصبح الهواء الوسط الجامع للملوثات التي غالبا ما تكون الخطر الجسيم المهدد لحياة الانسان و ثرواته الزراعية والحيوانية وممتلكاته من جهة ولمحدوبيته وانعدام البدائل من جهة اخرى (1). علاوة على تغير المناخ العالمي، تضرر المحاصيل الزراعية والغابات، استنزاف الاوزون، التأثير على الحياة البرية سلبيًا، وتؤثر الملوثات البيئية (الهواء الملوث) على المسطحات المائية مسببة ظاهرة الازدهار الغذائي في البحار (2)، والمياه العذبة مع التأثيرات السلبية الاخرى التي ذكرت سابقا و تأثيرها السلبي على صحة الانسان ايضا (3). أكدت الدراسات الاولية على الدالة الهيدروجينية لمياه الامطار كدالة لصحة الامطار ونقاوتها علاوة على ذلك تحصيلها في مختلف البقاع من العالم (4-7)، وقد تغيرت موصفات مياه الامطار بسبب ذلك لزيادة تركيز غاز ثنائي اوكسيد الكربون CO_2 وغاز ثنائي اوكسيد الكبريت SO_2 اضافة الى بعض اوكاسيد النتروجين وكميات من غاز احادي اوكسيد الكربون Co في الغلاف الجوي (8، 9). حيث تتغير موصفات المياه كيميائيا بسبب ذوبان اوكاسيد الكبريتات والنترات الناتجة من حرق الوقود الاحفوري الذي يعتبر الملوث الرئيسي لمياه الامطار، وان غاز ثنائي اوكسيد الكبريت SO_2 المنبعث الى الجو والناتج من احتراق المواد الكبريتية يكون ذائبا في مياه الامطار، وبوجود تراكيز لحمض الكربونيك بسبب ذوبان غاز ثنائي اوكسيد الكربون في الغلاف الجوي طبقة الاتموسفير، ان الامطار هي بطبيعتها حمضية وبدالة هيدروجينية 5.6 وما كانت القيمة منخفضة دل على زيادة حموضة المطر كون قيمة الدالة الهيدروجينية 5.6 تمثل غاز ثنائي اوكسيد الكربون CO_2 الجوي المذاب في الماء المقطر، والسبب الفعلي لزيادة حموضة مياه الامطار احتوائها على الحوامض المعدنية القوية خصوصا حمض الكبريتيك المركز H_2SO_4 والنتريك HNO_3 المشتقة من التاكسد في الغلاف الجوي لثنائي اوكسيد الكبريت وأكاسيد النتروجين وكلاهما قد اضيفت الى الغلاف الجوي بالاشتراك مع ملوثات اخر من المصادر الطبيعية والفعاليات البشرية (10). ومن ناحية اخرى تنظيف هذه الامطار قيمة غذائية مضافة الى المسطحات المائية مؤدية الى اغناء المسطحات المائية بالمغذيات النباتية لتسمح بنمو الطحالب الخضراء و الخضراء المزرققة بانواعها كذلك بعد جرف مياه الامطار للمواد الكيميائية الزراعية (11). تؤثر ايجابيا عوامل اخرى اذا تواجدت مع المغذيات الاخرى كالحديد اذا تواجد مع النترات والفوسفات على الطحالب الخضراء المزرققة (12). وتصل الى الجو دقائق محملة بالفسفور والنتروجين والحديد (Fe, N, P) حيث انها تلعب دورا اساسيا في نمو الكائنات الحية في البيئات المائية (13). ولأن مياه الامطار تحتوي بالفعل على النترات NO_3 و الكبريتات SO_4 اضافة الى مواد ذائبة اخرى (14). فهي تؤثر ايجابيا على بعض انواع الطحالب في المياه الاستوائية بزيادة الكتلة الحيوية والدهون في هذه الانواع من الطحالب (15). ويدخل الضوء وعامل الحرارة كعاملين اساسيين في دعم نمو وازدهار الطحالب الخضراء والخضراء المزرققة عند توفر بقية المواد الغذائية الداعمة لنمو الطحالب (16). وقد وجد ان ارتفاع معدلات الجريان السطحي للمياه في المناطق الزراعية يتسبب بنقل كميات كبيرة من النترات والفوسفات للمياه. وعند اضافتها الى المياه يمكن لهذه المواد المغذية ان تتسبب بزيادة نمو الطحالب الضارة بنوعية المياه مسببة استنزاف الأوكسجين في النظم البيئية المائية، وتقوم بالتأثير الضار على الكائنات الحية داخل الانظمة البيئية المائية. أن كلا من النترات والفوسفات يكون لها آثار ايجابية على نمو الطحالب. ومع ذلك، فهذه المتغيرات تؤثر على نمو الطحالب بشكل مستقل عن بعضها البعض ومن غير تفاعل بينهما. لذلك نجد أن النترات والفوسفات والمواد المغذية الفعالة هي محددة لنمو الطحالب و يمكن السيطرة عليها

كلوريد الباريوم تركت على الخلاط الكهربائي لمدة 60 دقيقة لضمان ذوبان مسحوق ملح الباريوم بصورة كاملة. قيست العكورة بعد 5 دقائق من نهاية الخلط. اعد محلول قياسي للكبريتات من خلال اذابة كبريتات الصوديوم Na_2SO_4 في الماء المقطر بتركيز [50-0] جزء بالمليون، وحضرت كبريتات الباريوم مثلما سبق. قيست عكورة المحاليل اعلاه وحددت علاقة خطية بين العكورة وتركيز الكبريتات وعبر عن النتائج بالملمغرام / لتر. استخدمت العلاقة التالية لإيجاد تراكيز المواد المفحوصة $[\text{SO}_4]$:

$$C+Ym=X$$

حيث ان $X = \text{تركيز الكبريتات}$

$Y = \text{الامتصاصية}$

$M = \text{ميل الخط المستقيم}$

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج وعند مقارنة أيونات الهيدروجين الحرة إلى أيونات الهيدروجين الكلية لنماذج الأمطار ولطول فترة الدراسة الممتدة من 2012\12\18-2013\2\7 ظهرت تنديبا في قيمة الدالة الحامضية pH على طول فترة الدراسة لعينات حصاد الأمطار ففي الحصاد الأول والثاني كانت القيم وعلى التوالي 5.42 و 5.45 أما في الحصاد الثالث والرابع والخامس والسادس كانت 5.65، 6.41، 6.23 و 6.53، في الحصاد الأول والثاني فإن القيم كانت منخفضة والمطر حامضيا، تحسنت قيمة الدالة الحامضية مرتفعة إلى المستويات المقبولة حيث تجاوزت 5.5 مرتفعة تدريجيا إلى 6.2 في شهر شباط إذ يكون المطر قد أصبح قريب من القيمة المتعادلة 7 التي هي تعود إلى الماء النقي (23). ولوحظ من نتائج التحليلات الكيميائية أن هناك ارتفاعا في قيمة النترات NO_3 حيث كانت 3.23 و 3.115 جزء بالمليون على التوالي، وانخفضت إلى 2.5 جزء بالمليون في الحصاد السادس بتاريخ 2013\2\7. وكانت تراكيز الكبريتات SO_4 في مياه الأمطار مرتفعة حيث سجلت أعلى تراكيزها في الحصاد الأول والثاني والثالث وقد بلغت 64.5، 44 و 43.7 جزء بالمليون على التوالي. أما أقل تركيز تم تسجيله في الحصاد الخامس بتاريخ 2013\1\31، وقد كان 43.2، كما هو موضح في الجدول رقم (1). أما بالنسبة لتراكيز الفسفور في المطر المحصود فقد سجل مستويات واطئة جدا تراوحت بين 0.0049 - 0.006 جزء بالمليون كما موضح في الجدول رقم (1).

جدول رقم (1): قيمة تراكيز النترات، الفسفور والكبريتات

تاريخ الحصاد	pH	تركيز $[\text{NO}_3]$ النترات جزء بالمليون	تركيز $[\text{P}]$ الفسفور جزء بالمليون	تركيز $[\text{SO}_2]$ الكبريتات جزء بالمليون
2012\12\18	5.42	3.23	0.0049	45.6
2012\12\25	5.45	3.115	0.005	44
2013\01\27	5.65	2.53	0.0051	43.7
2013\01\28	6.41	2.54	0.006	35.9
2013\01\31	6.23	2.43	0.006	34.2
2013\02\07	6.53	2.5	0.006	35.9

كما تبين بأن انخفاض الدالة الحامضية قد قابله ارتفاع في تراكيز ثاني أكسيد الكبريت والنترات بشكل ملحوظ (شكل رقم 2، ورقم 3).

وعلى طيلة الفترة الممتدة من شهر آذار وحتى شهر حزيران تم جمع نماذج مياه من خمس برك في خمس مواقع متفرقة غير مشتركة تعاني من مشاكل تلوث بمخلفات بناء ثلاث منها في مواقع غير سكنية وموقعين منها في مناطق سكنية. الموقع رقم واحد واثنان يفصل بينهما طريق ملط، الموقع الأول يحتوي على بقايا بناء اسمنتية وبعض المخلفات المعدنية إلا أن الموقع الثاني يتميز بكثرة الانقاض ومخلفات البناء الاسمنتية، أما الموقع الثالث والذي يبعد تقريبا 300 متر عن الموقعين الأولين عبارة عن خندق ترابي بعمق 75 سم وبطول 100 متر على جانب بحيرة استزراع سمكي متروكة تتحول في مواسم الأمطار إلى خزان مائي مؤقت، وعلى الجهة المقابلة أرض زراعية مشغولة. وبالنسبة للموقع الرابع فهو منخفض بعمق 50 سم بعد دفنه بمخلفات بناء حيث تم دفنه من قبل الأهالي بمخلفات البناء والنفايات الصلبة، وهو على ملتقى طريق شارع سفينة النجاة قرب حي الأمانة مع طريق الداخل إلى مقاطعة 17 سوب من جهة حي الجهاد. أما الموقع الخامس فهو منطقة منخفضة جدا عن الشارع العام تقع قرب ملعب كرة قدم شعبي على الشارع الداخل إلى حي الحسين والأطباء وقد تم دفنه إلى مستوى بسيط لأبعاد المياه عن الملعب والشارع العام ويكون بركة خلال فترة الأمطار.

قيست درجة الحرارة والدالة الحامضية pH موقعيا. سحبت نماذج ماء عدد 10 من المواقع المذكورة اعلاه ومن عمق 10 - 30 سم حسب ارتفاع عمود الماء خلال فترة الدراسة وبواقع نموذجين لكل موقع وبحجم واحد لتر لكل عينة، الأولى لغرض إجراء التحاليل الكيميائية والنموذج الثاني لغرض التحري عن مجتمع الطحالب الخضراء والخضراء المزروعة بعد تثبيتها بمحلول لوغل. تم إجراء بعض الفحوصات الفيزيائية في موقع العمل.

فحص المغذيات النباتية والكبريتات:

اتبعت الطريقة الموضحة من قبل جمعية الصحة الأمريكية (22) لتقدير كل من:

أ-الفسفور:

لتقدير كمية الفسفور، باستخدام طريقة حامض الاسكوربيك Ascorbic Acid، إذ أخذت 10 مليلتر من العينة المرشحة وخففت إلى 50 مليلتر بالماء المقطر، ثم أضيف 8 مليلتر من المحلول المركب Combined Reagent المؤلف من حامض الكبريتيك وتترات انثيموني البوتاسيوم ومولبيدات الامونيوم وحامض الاسكوربيك وترك لمدة 10 - 15 دقيقة. بعد تحضير محلول قياسي من فوسفات البوتاسيوم اللامائية KH_2PO_4 حيث اذيب 219.5 ملغم اذيب في 1000 مل ماء مقطر وكافيء 1 مل لكل 50 مايكروغرام فسفور. بعدها خفف 50 مل من محلول الرئيسي في 1 لتر من الماء المقطر وكافيء 1 مل 2.5 مايكروغرام من الفسفور بعدها تم حساب الأمتصاص اللوني للمعقد المتكون بجهاز قياس الطيف الضوئي بطول موجي 860 نانومتر للمحاليل المخففة وعبر عن النتائج بـ ملغم / لتر. استخدمت المعادلة التالية لإيجاد تركيز الفسفور.

تركيز الفسفور في لتر = فسفور ملغم من منحنى المعايرة $1000 \times$ حجم المحلول

ب-النترات:

لتقدير كمية النترات اخذ 50 مل من ماء العينة ورشحت لغرض التخلص من المواد العالقة، ثم اضيف إليها 1 مل من حامض الهيدروكلوريك (1 عياري)، ومزجت جيدا ثم قيس التركيز باستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 543 نانومتر.

ج - الكبريتات:

لفحص الكبريتات من خلال قياس عكورة النموذج قبل اضافة كلوريد الباريوم BaCl_2 . فقد قيس حجم 100 مل من النموذج ووضع في دورق مخروطي سعة 250 مل، اضيف 20 مل من المحلول الدائر إلى الدورق المخروطي وملعقة شاي من مسحوق

نتيجة ذوبان النفايات بصورة تدريجية والتي هي على شكل املاح حامضية او قاعدية مؤثرة على انواع الطحالب و الكائنات الاخرى في عمود الماء المتكون بعد تساقط الامطار وانجراف المياه الى المنخفضات مكونة برك مياه تحتوي كائنات حية نتيجة زيادة المغذيات للطحالب و النباتات الاخرى. ان تراكيز النترات اظهرت اختلافا واضحا، فهي في المواقع الواقعة في مناطق النشاط الحضري سجلت نشاطا أكثر من تلك الواقعة في المناطق ذات النشاطات الزراعية، بالنسبة للنترات الجدول رقم (6) والتي هي اقل من التراكيز التي سجلت في مياه الامطار الموضحة في الجدول رقم (1).

اما بالنسبة للفسفور فان تراكيزها المسجلة كانت اعلى ايضا من المسجلة في مياه الامطار. ونجد انفراد الموقع الرابع المدفون من قبل المواطنين بالنفايات قد سجل قيمة أكثر من البقية حيث تجاوزت في معدلاتها 1 جزء بالمليون اما بقية المواقع فهي لم تتجاوز هذه القيمة كما مبين في الجدول رقم (7)، غير ان قيمة الفسفور المسجلة في بقية المواقع كانت اعلى من المسجلة في مياه الامطار ايضا في الجدول رقم (1).

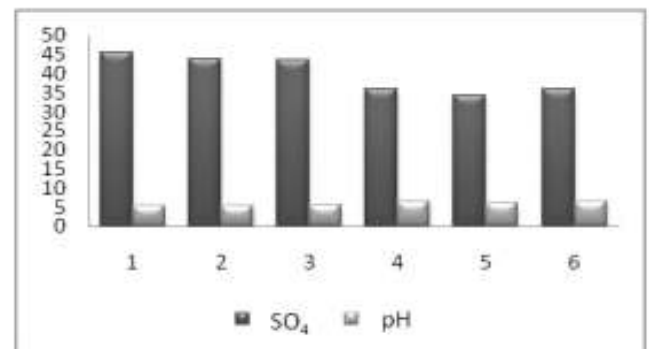
وقد سجلت الكبريتات تراكيز لم تتجاوز 25 جزء بالمليون كما في الجدول رقم (8) حيث انخفضت عن تراكيزها المسجلة في عينات مياه الامطار الموضحة في الجدول رقم (1).

ان مواقع النمذجة شهدت اختلافا واضحا في قيم الدالات الهيدروجينية pH وذلك بسبب تأثير التربة ومحتوياتها الأخرى من المواد الذاتية فيها فنلاحظ ان المواقع الملوثة بالنفايات الصلبة والسائلة في مناطق النشاط الحضري نشاهد انها تميل للحموضة (جدول رقم 9)، وهي تساعد في نمو الطحالب الخضراء المزرقه بشكل جيد.

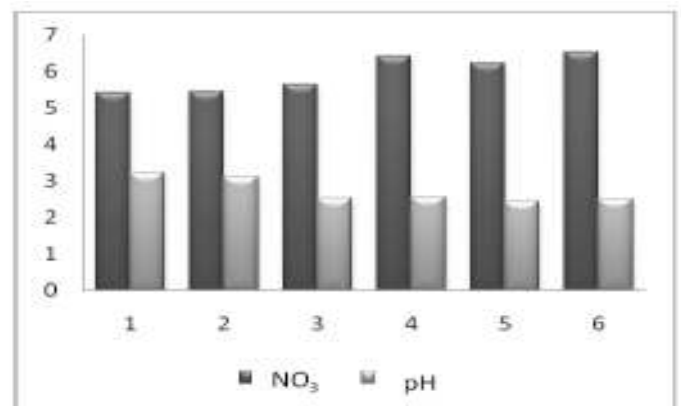
وكانت درجة الحرارة ضمن معدلاتها في فترة الدراسة ولم تشهد تغيرا غير طفيفا في درجات الحرارة حيث لم يحصل تنبذا في ارتفاع درجات الحرارة خلال فترة الدراسة (جدول رقم 10)، حتى نهاية الشهر السادس حزيران حيث بدأت تتصاعد درجة الحرارة الى درجات عالية مما ادى الى جفاف بعض البرك او انخفاض مستوى المياه في البرك الاخرى وهو السبب الرئيسي لتوقف هذه الدراسة البحثية.

جدول رقم (2): انواع واعداد الخلايا المشخصة في مواقع الدراسة الخمسة لشهر (آذار) 2013

تاريخ النمذجة	موقع النمذجة	الانواع المشخصة	اعداد الخلايا خلية 1 لتر
2013/03/12	1	<i>Chlymedomonas</i> sp. <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Chroococcus minor</i> <i>Cosmarium</i> sp. <i>Microcystis flos-aquae</i> <i>Oscillatoria limnetica</i> <i>Peridinium</i> sp.	20 22 50 21 11 10 12
	2	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Chroococcus minor</i> <i>Pinnularia</i> sp.	20 30 11
	3	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>Navicula resola</i> <i>O. limnetica</i> <i>Peridinium</i> sp. <i>Scenedesmus bijuga</i>	25 40 10 12 10 20
	4	<i>Amphora</i> sp. Blue-green filamentous <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Cryptomonas</i> sp. <i>Nitzschia palea</i> <i>Navicula resola</i> <i>O. limnetica</i> <i>Pseudochoraeiopsis</i> sp.	15 40 30 12 12 38 20 14
	5	<i>Anabaena</i> sp. <i>Chlorella vulgareis</i> <i>Peridinium</i> sp.	10 20 8



شكل رقم (2): العلاقة العكسية بين pH و [SO₄]



شكل رقم (3): العلاقة العكسية بين pH و [NO₃] في مياه الامطار

اما بالنسبة لتراكيز الفسفور فكانت قليلة نسبيا جدا حيث تراوحت بين 0.0049 و 0.006 جزء بالمليون الا انها كانت على عكس الكبريتات والنترات من حيث النتيجة اذ انخفضت تراكيز الفسفور مقابل ارتفاع كل من النترات والكبريتات.

فحصت نماذج الماء المسحوبة من المواقع الخمسة والمثبتة بمحلول لوغل بواسطة المجهر الضوئي وشخصت الطحالب الخضراء والخضراء المزرقه الجداول ارقام (2-5). اظهرت النتائج ان هناك تفاوت نسبي بسيط بين اعداد الخلايا ولمختلف الانواع المشخصة الا ان ما يميز موقع النمذجة الاول والثالث والخامس هو احتوائه على دينوفلاجليت مدرع وابعاد مختلفة، كما انها لم تصل الى حد حصول اثر غذائي للطحالب الخضراء والخضراء المزرقه طيلة فترة الدراسة.

لقد كانت المواقع التي تعاني من ملوثات أكثر من الاخرى، احتوت انواع أكثر من المواقع الاخرى. كذلك وفرت كميات النترات [NO₃] والكبريتات [SO₄] الذاتية اضافة الى الذائب في الامطار سيؤدي الى نفوق بعض الكائنات المائية الحساسة الى حمض المياه لكنه في الوقت ذاته يؤدي الى اثرات المغذيات في البيئة المائية مما يسبب زيادة في نمو بعض الانواع النباتية على حساب الانواع الاخرى من الطحالب (24). وقد حصل هذا النمو للطحالب بعد هطول الأمطار والتي تؤدي الى غسل التربة وجرف مكوناتها من الايونات والمواد المغذية التي تؤدي الى نمو الطحالب الخضراء بانواعها (11). و توضح الجداول ارقام (6-8)

تراكيز كل من النترات و الفسفور و الكبريتات في عينات المياه المفحوصة ولكل مواقع النمذجة. وتراوحت قيمة الدالة الهيدروجينية من 6.4-8.2 حيث كانت المواقع 4 و 5 تعاني من تلوث بمواد نفايات فقد ردم الموقعين سابقا بجهود المواطنين وامانة بغداد بنفايات صلبة التي بدورها تغير من خواص المياه الكيمائية

جدول رقم (3): انواع واعداد الخلايا المشخصة في مواقع الدراسة الخمسة لشهر نيسان 2013

اعداد الخلايا خلية \ لتر	الانواع المشخصة	مواقع النمذجة	تاريخ النمذجة
25 22 25 22 17 15 8	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Chroococcus minor</i> <i>Chlymedomonas</i> sp. <i>Cosmarium</i> sp. <i>Microcystis flosaquae</i> <i>O. limnetica</i> <i>Peridinium</i> sp.	1	2013\4\13
25 32 15	<i>Chlorella vulgares</i> <i>Chroococcus minor</i> <i>Pinnularia</i> sp.	2	
25 40 10 12 10	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Navicula resola</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>O. limnetica</i> <i>Peridinium</i> sp.	3	
20 45 33 10 15 38 22 16	<i>Amphora</i> sp. Blue-green filamentous <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Crypto monas</i> <i>Euglenia phacous</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>O. limnetica</i> <i>Pseudochoraeiopsis</i> sp.	4	
12 40 25 14 10	<i>Anabena</i> sp. <i>Chlorella vulgareis</i> <i>Euglenia phacous</i> <i>Navicula</i> sp. <i>Peridinium</i> sp.	5	

جدول رقم (4): انواع واعداد الخلايا المشخصة في مواقع الدراسة الخمسة لشهر آيار 2013

اعداد الخلايا خلية \ لتر	الانواع المشخصة	مواقع النمذجة	تاريخ النمذجة
10 117 11 11 11	<i>Cymbella</i> sp. <i>Glenodinium armatam</i> <i>Navicula Cicularis</i> <i>O. limnetica</i> <i>O. tenuis</i>	1	2013\05\16
70 40 20 22	<i>Chlorella volgaris</i> <i>Chroococcus minor</i> <i>Pinnularia</i> sp. <i>Navicula resola</i>	2	
38 18 14 15 12	<i>Chlorella volgaris</i> <i>Navicula. resola</i> <i>Nitzschia. palea</i> <i>O. limnetica</i> <i>Sendesmus bijuga</i>	3	
20 65 45 80 20 24	Blue green filamentous <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Navicula resola</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>O. limnetica</i> <i>Cryptomonas</i> sp.	4	
74 123 11 11	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Nitzschia acicularis</i> <i>Cymbella affinis</i> <i>Microcystis flosaquae</i> <i>O. limnetica</i>	5	

جدول رقم (5): انواع واعداد الخلايا المشخصة في مواقع الدراسة الخمسة لشهر حزيران 2013

تاريخ النمذجة	مواقع النمذجة	الانواع المشخصة	اعداد الخلايا خلية 1 لتر
2013\06\15	1	Blue – green filamentus <i>Glenodinium armatum</i> <i>Microcystis flosaquae</i> <i>Nitzschia acicularis</i> <i>O. limentica</i>	10 120 22 130 42
	2	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Chroococcus minor</i> <i>Cymbella</i> sp. <i>Navicula</i> sp. <i>Nitzschia acicularis</i>	60 35 20 35 60
	3	<i>Cymbella minuta</i> <i>Navicula cuspidate</i> <i>Navicula resola</i> <i>Navicula</i> sp. <i>Nitzschia amphibian</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>O. limentica</i>	12 9 40 18 14 22 40
	4	<i>Chlorella vulgaris</i> Blue – green filamentus <i>Eugleniaphacous</i> <i>O. limentica</i>	50 15 60 36
	5	<i>Chroococcus minor</i> <i>Microcystis flosaquae</i> <i>O. limentica</i>	30 40 35

جدول رقم (9): قيم الدالات الهيدروجينية pH لكل مواقع النمذجة

تاريخ النمذجة	موقع 1	موقع 2	موقع 3	موقع 4	موقع 5
2013\3\12	8.2	8.1	7.2	6.5	6.7
2013\4\13	8.1	8	7.3	6.4	6.5
2013\5\16	8	7.9	7.3	6.5	6.4
2013\6\15	7.9	8	7.1	6.6	6.7

جدول رقم (6): تراكيز النترات في عينات المياه [NO₃]

تاريخ النمذجة	موقع 1	موقع 2	موقع 3	موقع 4	موقع 5
2013\3\12	0.93	0.551	0.6033	1.7505	1.245
2013\4\13	1.1	0.66	0.62	1.782	1.324
2013\5\16	1.2	0.701	0.73	1.802	1.34
2013\6\15	1.5	1.02	1.03	1.921	1.64

جدول رقم (10): درجات الحرارة للمياه وقيست بدرجة مئوية °

تاريخ النمذجة	موقع 1	موقع 2	موقع 3	موقع 4	موقع 5
2013\3\12	19	20	22	22	22
2013\4\13	20	22	22	25	25
2013\5\16	22	22	23	26	26
2013\6\15	25	25	26	27	27

جدول رقم (7): تراكيز الفوسفور في عينات المياه [P]

تاريخ النمذجة	موقع 1	موقع 2	موقع 3	موقع 4	موقع 5
2013\3\12	0.084	0.0626	0.0443	1.0606	0.0287
2013\4\13	0.164	0.14	0.12	1.161	0.109
2013\5\16	0.27	0.25	0.24	1.281	0.211
2013\6\15	0.42	0.43	0.46	1.471	0.421

الاستنتاجات والتوصيات

1- قيم الرقم الهيدروجيني (pH) للحصاد الاول والثاني والثالث لم تكن ضمن مدياتها الاعتيادية وهذا يؤشر وجود أمطار حامضية في المنطقة قيد الدراسة للفترة من 2012/12/18 – 2013/1/27.

2- وجود تراكيز عالية للكبريتات (SO₄) من (45.6) جزء بالمليون الى (43.7) جزء بالمليون قد أثرت بشكل سلبي على درجة الحمضية وهو مؤشر مهم للتلوث.

3- تراكيز النترات [NO₃] كانت غير مرتفعة من 2.5 الى 3.23 جزء بالمليون وهذا يدل على ان هناك مواد اخرى ذائبة قد ادت الى حموضة الامطار ومنها ثنائي اوكسيد الكربون ومواد اضافية اخرى يجب دراستها بالتفصيل من قبل الباحثين مستقبلا.

4- أثرت كل من المواد الذائبة في مياه الامطار مع المواد الزراعية في التربة ايجابا على نمو انواع من الطحالب الخضراء والخضراء المزرققة والتي يمكن ان تكون مؤشرات تلوث مهمة

جدول رقم (8): تراكيز الكبريتات في عينات المياه [SO₄]

تاريخ النمذجة	موقع 1	موقع 2	موقع 3	موقع 4	موقع 5
2013\3\12	13.13	7.78	8.58	24.71	17.6
2013\4\13	18.6	11.6	10.5	30.123	18.7
2013\5\16	20.28	11.85	10.305	30.46	18.92
2013\6\15	21.18	14.4	14.54	27.12	23.15

14. محمود، طارق احمد. عبد الوهاب، سعدي. صالح، رياض محمود. (2007). التلوث الهوائي وخصائص مياه الامطار في مدينة الموصل. مجلة هندسة الرافدين 15: 2000: 1-12.

15. Ruangsomboon S.; Ganmanee M. and choochote S. (2012). Effects of different nitrogen, phosphorus, and iron concentrations and salinity on lipid production in newly isolated strain of the tropical green microalga, *Scenedesmusdimorphus* KMITL. J. Appl. Phycol. 25 (3): 867-874.

16. Konopka A. and Brock TD. (1978). Effect of Temperature on Blue – Green Algae (Cyanobacteria) in Lake Mendota. J. Appl. Environ. Microbiol. 36(4):572–576.

17. Fried S.; Mackie B. and Nothwehr E. (2003). Nitrate and phosphate levels positively affect the growth of algae species found in Perry Pond. Grinnell College. Tillers. 4:21-24.

18. Jessim AI. (2009). Investigation of Dinoflagellate population and Okadic acid detection in a coastal lake (Middle Tyrrhenian Sea). Ph.D. Thesis. Roma Tor Vergata University.

19. Yun YS.; Lee BS.; Park JM.; Lee CI. and Yang JW. (1997). Carbon Dioxide Fixation by Algal Cultivation Using Wastewater Nutrients. J. Chem. Tech. Biotechnol. 69: 451-455.

20. Reichwaldt E S. and Ghadouani A. (2012). Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: Between simplistic scenarios and complex dynamics. Water research. Sci. Direct. 46: 1372 -1393.

21. Sen B.; Alp MT.; Sonmez F K.; Mehemt A T. and Canopolat O. (2013). Relationship of Algae to Water Pollution and Waste Water Treatment. In Elshorbagy, Walid and Chowdhury RezaulKabir. water treatment. Hand book. In Tech. Chapter 14. Pp 337-354.

22. APHA. (1989). Standard methods for the examination of water and wastewater .17thed .American Public Health Association, 18 street, New York.

23. Caroll D. (2010). Rain water as a chemical of geologic process. A review. U. S. Geol. Surv. Water supply paper 1535 – G P. G1-G18.

24. GAO. (2013). EPA Faces Challenges in Addressing Damage Caused by Airborne Pollutants. Water quality. Report to Congressional Requesters. United States Government Accountability Office. 13-39.

لتحديد انواع الملوثات في البيئة البرية والمائية على حد سواء من غير ان يفصل بينهما.

5- مواصلة دراسة تراكيز المكونات الكيميائية للهواء ودرجة الحامضية بصورة مستمرة لمعرفة درجة التلوث التي وصلت إليها أجواؤنا قبل وصولها إلى مستويات صعبة المعالجة كما هو الحال في دول أخرى.

6- تقييم انواع الملوثات الكيميائية الزراعية المستخدمة كمبيدات او مغذيات من خلال الاستدلال عنها بواسطة المؤشرات الحيوية (انواع الطحالب الخضراء والخضراء المزرقّة).

المصادر

1. قاسم، أياد فضيل، يونس، رشا خالد، مظفر، رؤى. (2012). دراسة تأثير ملوثات الهواء على خصائص مياه الامطار في قرية العريج / ناحية حمام العليل جنوب مدينة الموصل. مجلة تكريت للعلوم الهندسية. 19(2): 2-12.

2. Haahti M.; Hedenström B.; Linke E.; Lundberg S.; Reisner C. and Wanamo GM. (2010). Eutrophication: Case-Study Report. Project Environmental Risk Governance of the Baltic Sea. The Nordic Environment Finance Corporation (NEFCO). Pp 1-7.

3. Adams M. and Lükewille A. (2010). The European Environment state and outlook 2010 - Air Pollution. European Environment Agency. doi: 10.2800/57792. Pp. 4-7.

4. Gillett RW.; Ayers GP.; Selleck P W.; Tuti M. and Harjanto H. (2000). Concentrations of Nitrogen and sulfur species in gas and rainwater from Six sites in Indonesia. Water, Air, and soil pollution. Kluwer Academic Publishers. 120: 205-215.

5. Galloway JN.; Likens GE. and Edgerton ES. (1976). Acid deposition in north eastern United States, pH and acidity. Science. 194:722–724.

6. Likens GE. and Butler TJ.(1981). Recent acidification of precipitation in North America. Atmos. Environ. 15: 1103–1109.

7. Cowling E B. (1982). Acid deposition in historical perspective. Environ. Sci.Techol.16:10a–23a.

8. Islam AM. (1978). Pollution problem of period.World of knowledge series.AuthorAladwany. A. M. Hand Book. Kuwait. 19-31, 69.

9. Singh A. and Agrawal M. (2008). Acid rain and its ecological consequences. J. environ. Biol. 29: 1: 15-24.

10. Fong MW. (2004). A demonstration of acid rain.Asia-Pacific Forum on Science Learning and Teaching. 5, Issue 1. 4.

11. عوض، عادل. حمود، نديم. شاهين، هيثم. (2000). دراسة تطور أجناس الطحالب في بحيرات الأأسدة للمعالجة البيولوجية لمياه الصرف الصحي في مدينة السلمية / محافظة حماد. مجلة جامعة دمشق. 16(2): 57-37.

12. Kuffner IB. and Paul VJ. (2001). Effects of nitrate, phosphate and iron on the growth of macroalgae and benthic cyanobacteria from Cocos Lagoon, Guam. Mar. Ecol. Prog. Ser. 222: 63–72.

13. Bergametti C.; Remoudaki E.; Losno R. and Steiner BC. (1992). Source, transport and deposition of atmospheric Phosphorus over the Northwestern Mediterranean. J. Atmosph. Chem. 14: 501-513.

دراسة تأثير الإصابة بداء المقوسات الكوندية على مستوى هرمون الكورتيزول عند المرضى المراجعين لبعض مستشفيات بغداد

إحسان مهدي الصقر (1)، هناء كامل حمد (2)، نور حمزة فائق (2)

(1) جامعة الإسراء / بغداد (2) قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد / جمهورية العراق

الملخص باللغة العربية

يهدف هذا البحث الى التحري عن الإصابة بداء المقوسات الكوندية عند المرضى المراجعين في مستشفيات اليرموك التعليمي والكرامة التعليمي في بغداد بالإضافة الى دراسة تأثير الإصابة بهذا الداء على مستوى هرمون الكورتيزول ومستوى الاجهاد ضمن العينات المفحوصة . أجريت الدراسة على مجموعتين من الأشخاص (نساء ورجال) شملت 94 عينة ، شملت المجموعة الاولى ثلاثون شخصاً من المصابين بداء المقوسات بينما شملت المجموعة الثانية اربع وستون شخصاً غير مصابين بداء المقوسات والتي استعملت كمجموعة سيطرة ، و تراوحت اعمار المجاميع الاربعه بين 18 – 60 سنة وذلك خلال الفترة من بداية شهر كانون الأول للعام 2013 ولغاية نهاية شهر نيسان للعام 2014 . وقد تم التحري عن وجود الاجسام المضادة الخاصة بطفيلي المقوسات IgG لكلا المجموعتين للكشف عن الإصابة الكامنة بطفيلي المقوسات الكوندية ، لوحظت الاجسام المضادة بواسطة الاختبار المناعي المحفز بالانزيم ELISA والذي أظهر نسبة إصابة بلغت 31.25% . كما تم قياس تركيز هرمون الكورتيزول في كلا المجموعتين بواسطة الاختبار المناعي ELISA والذي كشف عن ارتفاع في مستوى الهرمون عن الحد الطبيعي عند الأشخاص المصابين بداء المقوسات الكوندية (المجموعة الاولى) مقارنة بمستوياته عند الأشخاص غير المصابين بداء المقوسات الكوندية (المجموعة الثانية) إضافة الى اختبار عوامل متعددة كالجنس والعمر والحالة الاجتماعية ومكان السكن والوظيفة وفئة الدم.

الكلمات المفتاحية: طفيلي المقوسات الكوندية ، داء المقوسات ، هرمون الاجهاد ، غدة الكظر ، هرمون قشرة الكظر

Study the effect of toxoplasma gondii infection on cortisol levels as stress index in patients referred to some hospitals in Baghdad

Ihsan M. Al- Saqur (1) Hanaa K. Hamad (2) and Noor H. Faiq (2)

(1) Al- Isra University / Baghdad (2) Dept. of Biology / College of Sciences for Women/ University of Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

The current study was conducted to investigate the correlation between the Toxoplasma infection and cortisol level in patients visiting hospitals (Al-Yarmouk educational hospital and Al-Karamah educational hospital) in Baghdad and study the effect of the infection on cortisol level and stress index on these patients. The study contains two groups of people , the first group include patients with toxoplasmosis (30 person) and second group contain healthy people with no toxoplasmosis (64 person) . Samples were collected between December 2013 to the end of April 2014, IgG titer were measured by Enzyme Linked Immunosorbent Assay(ELISA) for both groups. The test indicated that 31.25% of population individuals were infected with T.gondii. Dependent factors like age , gender , marital status , occupation , geographical location and blood group. Levels of cortisol hormone also detected using ELISA test for all samples the results showed a remarkable raise of the hormone in patients with toxoplasmosis compared to non toxoplasmosis patients.

المقدمة

عينات الدراسة وطرق العمل

جمع العينات:

تم جمع 94 عينة من نساء ورجال قسمت الى مجموعتين (84 رجلاً و10 نساء)، من مراجعي مستشفى الكرامة التعليمي (50 رجلاً و5 نساء) ومستشفى البرموك التعليمي (34 رجلاً و5 نساء) في بغداد وذلك خلال الفترة من بداية شهر كانون الأول / ديسمبر للعام 2013 ولغاية نهاية شهر نيسان / إبريل من عام 2014.

المجموعة الأولى: المرضى المصابين بداء المقوسات:
Group 1 : Patients

شملت الدراسة 30 شخصاً (4 نساء و26 رجلاً) وأثبتت الفحوصات أنهم مصابون بداء المقوسات والذين تتراوح أعمارهم ما بين 18-60 سنة وقد تم تشخيص الإصابة عن طريق الفحص المختبري الذي يشمل التحري عن الأضداد النوعية IgG باستخدام فحص ELISA.

المجموعة الثانية: السيطرة (الأصحاء):
Group 2 control

تمثل مجموعة السيطرة وذلك لغرض تقييم نتائج الدراسة ومعرفة التغيرات الحادة في نسب المكونات المصلية المراد التحري عنها في المصابين قيد الدراسة، حيث تم جمع 64 عينة دم أخرى (6 نساء و58 رجلاً) وقد تم التأكد من عدم إصابتهم بداء المقوسات بواسطة فحص ELISA.

وقد أجريت الدراسة في محافظة بغداد / مدينة بغداد في كل من: مستشفى الكرامة التعليمي - شعبة المختبرات التعليمية والعيادة الاستشارية، ومستشفى البرموك التعليمي - شعبة المختبرات التعليمية والعيادة الاستشارية، وتم جمع المعلومات عن طريق الاستبيان الذي تم إعداده وتطويره لأغراض الدراسة.

معاملة عينات الدم:

تم سحب (5) مليلتر دم من كل شخص لكل المجاميع المصابين والسيطرة من الوريد العضدي باستخدام حقنة نبيذة معقمة ثم تم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي لمدة (5 دقائق على سرعة 3000 R.P.M) ثم اجراء الفحص المناعي ELISA للتحري عن الأجسام المضادة IgG لطيفلي المقوسات الكوندية، حيث أجري هذا الفحص في المختبرات التعليمية باستخدام عدة العمل المجهزة من شركة Biocheck (323 Vintage Park Drive Foster City, CA 94404, United States of America).

قياس مستوى هرمون الكورتيزول:

تم قياس تركيز هرمون الكورتيزول باستخدام عدة العمل المجهزة من شركة Monobind (100 NorthPointe Drive, Lake Forest, California) (92630 USA) بواسطة الاختبار المناعي ELISA لكلا المجموعتين وتم تسجيل تراكيز الهرمون لكل عينة في المختبرات التعليمية في مستشفى البرموك.

يعد داء المقوسات (Toxoplasmosis) من الأمراض التي تصيب الإنسان والحيوان ويسببه الطفيلي (*Toxoplasma gondii*) وهو مرض شائع الحدوث وذو انتشار واسع في المجاميع السكانية (1) ، و يعد هذا الطفيلي من الكائنات الابدائية (Protozoa) وله القدرة على التطفل داخل خلايا العائل من الحيوانات ذوات الدم الحار والثدييات والطيور ، ويعتمد في غذائه على المضيف، و تعتبر القطط المضيف الوسيط و النهائي لهذا الطفيلي وهي الوحيدة القادرة على طرح كيس بيض الطفيلي (Oocytes) عن طريق البراز الملوث، كما تعد لحوم الأبقار، الحليب ومشتقاته مضيفات وسطية ونواقل جيدة كمسببات للإصابة (2).

يعد هرمون الكورتيزول (Cortisol Hormone) من الهرمونات الستيرويدية التي تفرز من قشرة الغدة الكظرية ويسمى بهرمون التعب (Stress hormone) لأنه يفرز في حالة الإرهاق وانخفاض سكر الدم ، ويعمل هذا هرمون على زيادة مستوى السكر في الجسم وتنشيط الجهاز المناعي ، إضافة إلى دوره في أيض الدهون والبروتينات والكاربوهيدرات ، ويفرز هذا الهرمون استجابة للإجهاد الجسدي والنفسي ، وتنظم مستوياته في الجسم بواسطة هرمون قشرة الكظر Adrenocorticotrophic hormone (ACTH) الذي يفرز من الغدة النخامية ويحفز الغدة الكظرية على إنتاج الهرمون إلى الجهاز الوعائي ، ويمتلك الكورتيزول خاصية التغذية الارتجاعية السلبية negative feedback على الهرمون المحفز لإنتاجه (3) .

من المعروف أن مقاومة داء المقوسات تعتمد على المناعة الخلوية للجسم cellular immunity الذي يصاحب انخفاضها ارتفاع في مستوى الهرمونات الستيرويدية مما يساعد على بقاء الطفيلي في الجسم واستمرار الإصابة (4)، وقد أشارت الدراسات الحديثة إلى وجود علاقة بين الإصابة بداء المقوسات وارتفاع نسبة هرمونات الإجهاد لدى الأشخاص المصابين، إضافة إلى حدوث تغيرات سلوكية وشخصية عند هؤلاء المرضى ، كما أشارت الدراسات السابقة إلى دور طفيلي المقوسات في زيادة مستوى الدوبامين في الدماغ والذي يؤدي إلى زيادة في عمل المحور المهادي النخامي الكظري وبالتالي زيادة إفراز هرمون الإجهاد (الكورتيزول) (5) ، حيث بينت دراسة حديثة أن نسبة الكورتيزول عند الأشخاص المصابين بداء المقوسات والمُشخصين بالفصام تكون أعلى من الأشخاص غير المصابين بالداء ومُشخصين بالفصام (6) ، بالإضافة إلى ذلك أشارت عدة أدلة غير مباشرة إلى اعتبار داء المقوسات الكامن هو عامل مجهد متوسط التأثير ولكنه طويل الأمد (7)، ومن الممكن أيضاً أن يكون داء المقوسات الكامن والمصاب لارتفاع الكورتيزول وسيلة تكيفية يقوم بها الطفيلي لإضعاف جهاز المناعة وبالتالي زيادة فرص بقائه في الجسم (6) .

تختلف تأثيرات داء المقوسات عند المصابين بين النساء والرجال ويفسر هذا الاختلاف على أساس فرضية الإجهاد والتي تنص على أن الإصابة الكامنة بداء المقوسات تؤدي إلى نشوء إجهاد متوسط إلى طويل الأمد عن طريق تدهور الوظائف الفسيولوجية للإنسان المصاب (7) . وأشارت دراسة حديثة إلى اختلاف ردود الفعل بين الرجال والنساء تجاه الإجهاد حيث يميل الرجال للتصرف بعنيفة وتهجم بينما تميل النساء للتصرف بودية وهنوء ومراعات أكثر. وبصورة عامة فإن المستويات المرتفعة للكورتيزول نتيجة التعرض للإجهاد الحاد (المؤقت) أو الإجهاد المزمن ممكن أن تعطي تأثيرات فسيولوجية و نفسية في الشخص المصاب (8).

فحص مجاميع الدم:

قياس تركيز هرمون الكورتيزول في الدم:

أظهرت نتائج الاختبار المناعي الاليزا ELISA فروقا معنوية بين معدلات تركيز هرمون الكورتيزول في مصل الدم بين المجموعتين قيد الدراسة، فقد سجل الهرمون مستوى عاليا عند المجموعة الموجبة لداء المقوسات 24.398 mg/dl حيث سجل ارتفاعا معنويا (وفقا لاختبار Pearson Chi-square)، بينما بلغ معدل الهرمون في مجموعة السيطرة 7.444 mg/dl ، وبهذا، تتفق هذه الدراسة مع ما سجلته دراسة (10) والتي كان الهدف منها قياس تركيز هرموني (كورتيزول، تيبسترون) بالإضافة إلى عدد من المقاييس النفسية والسلوكية في عينة من النساء والرجال حيث بلغ معدل تركيز هرمون الكورتيزول في عينة الأشخاص المصابين بداء المقوسات 25.324 mg/dl ، كما سجل الهرمون ارتفاعا ملحوظا في مجموعة الأشخاص المصابين بداء المقوسات في الفئة العمرية (أقل من 20 سنة) حيث بلغ أعلى معدل له $24.36 \pm 6.20 \text{ mg/dl}$ ، أما أقل معدل للهرمون فقد كان ضمن الفئة العمرية (40 - 49) سنة بقيمة $9.07 \pm 11.69 \text{ mg/dl}$ ، وبالمقارنة مع القيم التي سجلها معدل مستوى الهرمون عند الأشخاص الأصحاء غير المصابين بداء المقوسات فإن هذه المجموعة سجلت مستويات طبيعية للهرمون حيث بلغ أقصى ارتفاع له ضمن الفئة العمرية (50 - 59) سنة بقيمة $11.28 \pm 10.77 \text{ mg/dl}$ ، أما أقل مستوى للهرمون كان ضمن فئة (30 - 39) سنة $4.59 \pm 1.91 \text{ mg/dl}$ (الجدول رقم 1)، وتعد هذه المستويات ضمن الحدود الطبيعية لمستوى الهرمون في الجسم حيث فشلت هذه المعدلات في تحقيق فروق معنوية بين الفئات العمرية المختلفة.

سجل الذكور المصابين بداء المقوسات ارتفاعا بسيطا في معدلات الهرمون حيث بلغ معدل مستوى الهرمون لديهم $22.26 \pm 11.00 \text{ mg/dl}$ ، أما الإناث فقد بلغ معدل مستوى الكورتيزول $15.81 \pm 8.30 \text{ mg/dl}$ وسجل أعلى تركيز للهرمون ضمن عينة الذكور 13.82 mg/dl (الجدول رقم 1) ولم تسجل أي فروق معنوية بين معدلات الهرمون بين الجنسين.

بينت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع معدلات الكورتيزول عند الأشخاص غير المتزوجين عن المتزوجين من الذكور والإناث حيث كان المعدل الأعلى من نصيب مجموعة الأشخاص غير المتزوجين والمصابين بداء المقوسات بمقدار $22.62 \pm 10.54 \text{ Mg/dl}$ ، أما المتزوجين فقد كان معدل مستوى الهرمون أقل من ذلك $18.55 \pm 11.43 \text{ mg/dl}$ ، وبالمقارنة مع أمثالهم من مجموعة الأشخاص غير المصابين بداء المقوسات فقد كان الفارق ملحوظا بين الفئتين، حيث بلغ معدل الهرمون عند الذكور والإناث غير المتزوجين $6.56 \pm 2.76 \text{ mg/dl}$ ، أما المتزوجين فسجلوا معدل مقداره $10.26 \pm 8.67 \text{ mg/dl}$ ومرة أخرى لم تسجل هذه المعدلات أي فروق معنوية بين المتزوجين وغير المتزوجين (الجدول رقم 1).

سجل ساكني جانبي الرصافة والكرك ارتفاعا ملحوظا في معدل الهرمون عند مجموعة المرضى المصابين بداء المقوسات (18.13 ± 13.51، 21.76 ± 10.69) على التوالي (الجدول رقم 1)، ولم تسجل هذه النتائج فروقا معنوية عند مستوى المعنوية ($P < 0.05$).

أظهرت ربات البيوت في هذه الدراسة مستوى مرتفع من الكورتيزول في مجموعة الأشخاص المصابين بداء المقوسات مقارنة مع ربات البيوت في المجموعتين الأخرى كمجموعة السيطرة، حيث بلغ معدل مستوى الهرمون لديهم

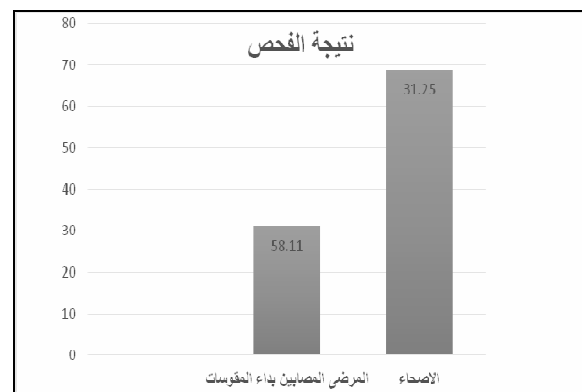
تم فحص مجاميع الدم الخاصة بمجموعتي المصابين والسيطرة باستخدام عدة الفحص من شركة (Human) HUMAN Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH Max-Planck-Ring 21, D 65205 Wiesbaden, Germany).

النتائج

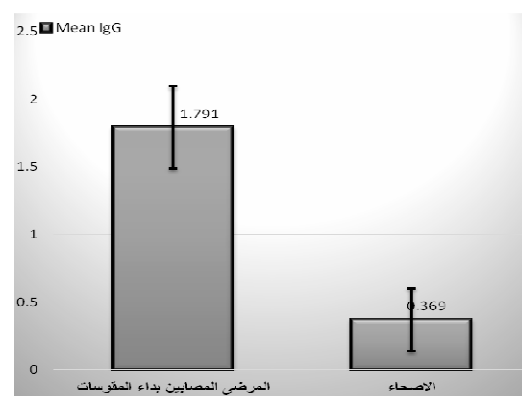
قياس نسبة تكرار الإصابة بداء المقوسات الكوندية:

اهتمت هذه الدراسة بتشخيص داء المقوسات الكوندية باستعمال الاختبار المصلي ELISA لعينات من الدم الوريدي للمرضى المراجعين لعدد من مستشفيات بغداد والتي جمعت بصورة عشوائية، حيث بلغت نسبة الإصابة بداء المقوسات في عينة المرضى 31.25 % (الشكل رقم 1).

أظهرت نتائج اختبار الاليزا المناعي مستوى الأضداد المناعية (IgG) المتخصصة ضد طفيلي المقوسات الكوندية والذي حدد وجود الإصابة الكامنة أو عدم وجودها، إذ أوضحت النتائج ارتفاعا في مستوى الضد المناعي IgG بمعدل 1.791 ± 0.404 وبنسبة 31.25 % عن مستواه عند الأشخاص الأصحاء غير المصابين بداء المقوسات بمعدل 0.369 ± 0.123 وبنسبة 68.75 % (الشكل رقم 2).



شكل رقم (1): نسبة الإصابة بداء المقوسات ضمن عينات الدراسة



شكل رقم (2): معدل مستوى الضد المناعي (IgG) ضمن العينات قيد الدراسة

بداء المقوسات الغوندية فقد كانت المستويات العليا من الهرمون عند الأشخاص حاملي فئة الدم A+ أيضا بمعدل بلغ 22.70 ± 10.88 mg/dl ، وبالمقارنة مع حاملي نفس الفئة من الأشخاص غير المصابين فأنهم سجلوا معدلا اقل بكثير 6.51 ± 2.30 Mg/dl (الجدول رقم 1) ولكن لم تصل هذه الفروقات الى مستوى المعنوية .

21.21±1.92 mg/dl ، اما الرجال فقد سُجل أعلى معدل للهرمون في مجموعة العاملين المصابين بداء المقوسات وبلغ معدل مستوى الهرمون لديهم 24.84 ± 9.68 mg/dl (الجدول رقم 1).

أظهرت مجاميع الدم ABO المختلفة تقريبا في مستويات هرمون الكورتيكوزول لحاملها في عينة الأشخاص المصابين

جدول رقم (1): نتائج الدراسة المتعلقة بخصائص ومتغيرات المجموعتين (الأصحاء والمرضى): العمر، الجنس، الحالة الاجتماعية، مكان السكن، الوظيفة، ومجاميع الدم

الأصحاء		المرضى المصابين بداء المقوسات		المتغير
Mean±SD (Range)	العدد (N)	Mean±SD (Range)	العدد (N)	
العمر / بالسنوات:				
6.03±0.88 (5.08-7.55)	6	24.36± 6.20 (16.99- 31.15)	5	< 20 years
6.94±3.20 (4.11-15.67)	13	22.07± 11.69 (3.54-37.75)	16	20- 29
4.59±1.91 (3.23-6.77)	3	20.87±1.44 (19.85-21.88)	2	30- 39
23.44	1	9.07±11.69 (2.32-22.56)	3	40- 49
11.28±10.77 (3.66-18.89)	2	2±10.77 (16.03-38.82)	4	=> 50 years
0.002		0.332		P value
الجنس:				
6.88±3.82 (3.23-18.89)	22	22.26±11.00 (2.32-38.82)	26	ذكر
11.58±10.27 (5.54-23.44)	3	15.81±8.30 (3.84-22.56)	4	أنثى
	0.121		0.273	P value
الحالة الاجتماعية:				
6.56±2.76 (3.77-15.67)	19	22.62±10.54 (3.54-37.75)	21	أعزب
10.26±8.67 (3.23-23.44)	6	18.55±11.43 (2.32-38.82)	9	متزوج
	0.108		0.352	P value
مكان السكن:				
23.44	1	18.13±13.51 (3.84-30.70)	3	الرصافة
6.78±3.66 (3.23-18.89)	24	21.76±10.69 (2.32-38.82)	27	الكرخ
--		0.589		P value

يتبع ... جدول رقم (1): نتائج الدراسة المتعلقة بخصائص ومتغيرات المجموعتين (الأصحاء والمرضى): العمر، الجنس، الحالة الاجتماعية، مكان السكن، الوظيفة، ومجاميع الدم

المتغير	المرضى المصابين بداء المقوسات		الأصحاء	
	العدد (N)	Mean±SD (Range)	العدد (N)	Mean±SD (Range)
الوظيفة:				
موظف حكومي	14	20.04±11.91 (2.32-38.82)	11	7.96±6.77 (3.23-23.44)
عامل	12	24.84±9.68 (3.54-37.75)	13	7.16±3.02 (4.11-15.67)
طالب	2	10.42±9.30 (3.84-16.99)	--	--
ربة بيت	2	21.21±1.92 (19.85-22.56)	1	5.54±
P value		0.331		0.864
مجاميع الدم:				
Rh+ve	23	21.05±11.38 (2.32-38.82)	14	6.91±4.95 (3.66-23.44)
Rh-ve	7	22.54±9.23 (3.85-31.15)	11	8.12±4.98 (3.23-18.89)
P value	0.273		0.121	
A	9	22.70±10.88 (2.32-37.75)	9	6.51±2.30 (3.66-10.44)
B	7	18.65±12.26 (2.32-36.47)	4	8.45±7.11 (3.23-18.89)
AB	2	36.35±3.50 (33.87- 38.82)	--	--
O	12	19.53±9.31 (3.54-31.25)	12	7.81±5.78 (4.11-23.44)
P value	0.189		0.770	

الذكور والاناث حيث كان مستوى الإجهاد لدى الذكور أعلى من الاناث (11) ، ومن المرجح ان تعود هذه الاختلافات في النتائج الى الاختلافات الفسيولوجية والتكوينية بين الذكور والاناث ، وهذه النتائج تدعم فكرة ان الزواج والعمل يسهمان في خفض مستوى الاجهاد وبالتالي انخفاض الكورتيزول (12) ، كما بينت دراسة أخرى ان الحياة الزوجية المستقرة والزواج اللاتي يتمتن بعلاقة زوجية ايجابية يمتلكون مستوى معتدل وطبيعي للكورتيزول (13) ، وفي دراسة شملت كلا الجنسين من المتزوجين سجلت ان الأزواج الذين يأخذون زمام الأمور في الحياة الزوجية لديهم مستوى اقل مما هو عليه لدى غير المتزوجين (14) .

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع ما توصلت اليه دراسة (15) حيث بينت في هذه الدراسة ان 74% من ربات البيوت الاتي شملتهن الدراسة يمتلكن مستوى كورتيزول اوطى في النهار وعلى مدار اليوم من مستوى الكورتيزول الاتي يمتلكه مثيلتهن من النساء العاملات اما في دراسة أجريت في الولايات المتحدة الأمريكية ان 75% من الموظفين يعدون العمل مصدر كبير للإجهاد وجاءت النتائج مفاجئة حيث بينت الفحوصات المصلية لعينة الدراسة ان النساء المشاركات في الدراسة سجلوا مستويات منخفضة من الكورتيزول خلال ساعات العمل عند مقارنتها بمستوياته في بيوتهم كما بينت ان الإباء والامهات يتعرضون لأجهاد اكبر ومستويات مرتفعة من الكورتيزول في البيت اعلى مما هو عليه في العمل (16) .

يعود هذا الاختلاف في معدلات الهرمون بين الأشخاص المصابين ومجموعة السيطرة وفقاً لمجاميع الدم الى ما اشارت اليه الدراسات عن كون حاملي صنف الدم A يمتلكون مستوى اعلى من غيرهم من هرمون الكورتيزول ، كما اكدت دراسة حديثة أجرتها طبيرة تغذية امريكية ان حاملي صنف الدم A يجب ان تكون لديهم حمية خاصة للأطعمة تعتمد على الخضار والمصادر النباتية للبروتين وذلك لأنهم يمتلكون جهاز هضمي حساس للبروتينات من مصادر حيوانية كما اكدت ان حاملي هذه الفئة لديهم استعداد اكثر من غيرهم للإصابة بالامراض المختلفة مثل ارتفاع سكر الدم وامراض القلب إضافة الى كونهم يمتلكون مستويات عالية من هرمون الكورتيزول ويستجيبون للأجهاد بصورة اسرع من غيرهم كما يُنصح هؤلاء الأشخاص بأجراء التمارين الرياضية للتخفيف من مستوى الاجهاد لديهم (17).

التوصيات

1- اجراء الفحص المصلي الخاص بالكشف عن الإصابة بطفيلي المقوسات للذكور والاناث قبل الزواج .

2- تقليل الاجهاد عند كبار السن عن طريق تناول الطعام الصحي وممارسة الرياضة اليومية والتعامل مع العوامل المجهدة بسلاسة وتجنب الاجهاد المفرط لما له من تأثيرات على صحة الجسم

3- يُنصح حاملو فئة الدم A بتناول البروتينات من المصادر النباتية والابتعاد عن المصادر الحيوانية لحساسية الجهاز الهضمي لتلك البروتينات إضافة الى ممارسة الرياضة لتخفيض مستوى الكورتيزول لديهم .

4- اجراء دراسات موسعة للتحري عن تأثير هرمون الكورتيزول على الجسم وعلاقته بالامراض المختلفة.

المناقشة

تعود هذه الاختلافات في معدلات الهرمون بين الفئات العمرية ربما الى حقيقة ان الاستجابة للاجهاد تكون أبطأ عند الأشخاص كبار السن حيث يرتفع مستوى الكورتيزول بنقد العمر فقد ذكرت الدراسات ان الأشخاص الذين تتراوح أعمارهم 50- 65 سنة لديهم مستوى هرمون الكورتيزول اعلى ممن يصغرونهم سنا نتيجة لتعرضهم لضغوطات اكثر في محيط حياتهم (4).

تختلف نتائج الدراسات في تحديد ما اذا كان للجنس تأثير على مستوى هرمون الكورتيزول ام لا ، حيث تشير عدد من الدراسات الى عدم وجود فروق بين الذكور والاناث في مستوى الكورتيزول، وفي بعض الدراسات سجل الذكور مستويات هرمونية اعلى بكثير من الاناث تصل الى الضعفين، كما بينت هذه الدراسات اختلافات في ردود الفعل تجاه العوامل المجهدة المؤقتة كالامتحانات الاكاديمية بين

12. Englert RC.; Dauser D.; Gilchrist A.; Samociuk HA.; Singh RJ.; Kesner JS.; Cuthbert CD. *et. al.* (2008). Marital status and variability in cortisol excretion in postmenopausal women. *Biol. Psychol.* 77(1):32-38.

13. Vedhara K; Tuinstra J.; Miles JN.; Sanderman R. and Ranchor AV.(2006). Psychosocial factors associated with indices of cortisol production in women with breast cancer and controls. *Psychoneuroendocrinol.* 31(3): 299-311.

14. Brummett BH.; Kuhn CM.; Boyle SH.; Babyak MA.; Siegler IC. and Williams RB. (2012). Cortisol responses to emotional stress in men: association with a functional polymorphism in the 5HT2C gene. *Biol.Psychol.* 89 (1): 94–98.

15. Adam EK.; Megan R. and Gunnar B. (2000). Relationship functioning and home and work demands predict individual differences in diurnal cortisol patterns in women. *Psychoneuroendocrinol.* 26(2):189-208.

16. Smyth J.; Zawadzki M. and Damaske S. (2014). Really Work lowers people's stress levels?. *Council on Contemporary Families.*

17. Johnson A. (2013). Blood type A diet food list. <http://www.femininex.com/blood-type-a-diet-food-list>

المصادر

1. Moradli F. ; Afshing B. ; Behrouz N. ; Keivan Z. and Saeed T. (2010). Seroprevalence of toxoplasmosis in high school girls in Bushehr city, south –west of Iran. *J . African. Micro . Res.* 4(11): 1117-1121.

2. Sevgili MCB. ; Nalbantoglu S. and Vatansever Z. (2005). Determination of seropositivity for *Toxoplasma gondii* in sheep in Sanliurfa Province. *Turkey. J. Vet. Anim. Sci.* 29:107-111.

3. Djuric Z.; Bird CE.; Furumoto-Dawson A.; Rauscher GH.; Ruffin MT.; Raymond P.; Stowe KL. and Masi CM. (2008). Biomarkers of Psychological Stress in Health Disparities Research. *Open Biomark J.* 1:7-19.

4. Raquel CAL.; Kobayashi M. and Carvalho LB. (2003). Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife. Northeast Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo.* 45: 229-34.

5. Garth H.; Ruffin IV.; Mack T.; Stowe RP.; Tucker K L. and Christopher M. (2008). Biomarkers of Psychological Stress in Health Disparities Research. *Open Biomark. J.* 1 (1): 7–19.

6. Flegr J. (2007). Effects of *Toxoplasma* on human behavior. *SchizophrBull.* 33:757–760.

7. Lindová J.; Novotná M.; Havlíček J.; Jozífková E.; Skallová A.; Kolbeková P.; Hodný Z.; Kodým P. and Flegr J. (2006). Gender differences in behavioural changes induced by latent toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* 36: 1485–1492.

8. Staufenbiel SM.; Penninx BWJH.; Spijker AT.; Elzinga BM. and van Rossum EFC. (2013). Hair cortisol, stress exposure, and mental health in humans: A systematic review. *Psychoneuroendocrinol.* 38: 1220–1235.

9. Shirbazou S.; Abasian L. and Talebi M F. (2011). Effects of *Toxoplasma gondii* infection on plasma testosterone and cortisol level and stress index on patients referred to Sina hospital, Tehran. *Jundishapur J. Microbiol.* 4(3): 167-173.

10. Talbott S. (2011). <http://www.cortisolconnection.com>

11. Brigitte M. and Kudielka C K. (2005). Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. Department of Clinical and Theoretical Psychobiology, University of Trier, Johanniterufer. Germany.

تأثير التسميد النيتروجيني والرش بالحديد في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات الداماس

Concarpus lancifolius Engl

نبراس إحسان عبد الجبار، جمال أحمد عباس، منصور عبد أبو حنة

كلية الزراعة / جامعة الكوفة / جمهورية العراق.

الملخص باللغة العربية

نفذت التجربة في مشتل بلدية النجف على شتلات نبات الداماس للموسم 2008-2009 لدراسة تأثير كل من التسميد النيتروجيني المستخدم على شكل يوريا بنسبة 46% في أربعة مستويات هي (0، 1000، 2000، 3000) ملغم. لتر⁻¹ والرش بالحديد المخلبي Fe-EDDHA بنسبة 6% وبثلاثة تراكيز هي (0، 500، 1000) ملغم. لتر⁻¹ في بعض مؤشرات النمو الخضري والمحتوى الكيميائي لنبات الداماس *Concarpus lancifolius*. نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة R.C.B.D بثلاثة مكررات وقورنت متوسطات المعاملات حسب اختبار وبمستوى احتمال 0.05.

بينت النتائج أن تسميد نبات الداماس بالنترجين بتركيز 2000 ملغم. لتر⁻¹ متداخلا مع الرش بالحديد بتركيز 500 ملغم. لتر⁻¹ قد حسن من الصفات المدروسة (ارتفاع النبات، المساحة الورقية، ومحتوى الأوراق من الكلوروفيل A وكلوروفيل B، نسبة الكربوهيدرات الكلية في الأوراق والسيقان، ومحتوى النبات من النترجين الكلي) مقارنة مع معاملة المقارنة، بينما أدت زيادة تركيز الحديد إلى 1000 ملغم. لتر⁻¹ إلى حصول زيادة في محتوى الأوراق والسيقان من الحديد مقارنة مع باقي المعاملات ومعاملة المقارنة.

الكلمات المفتاحية: نبات الداماس، التسميد النيتروجيني، الرش بالحديد المخلبي

Effect of Nitrogen Fertilization and Spraying of Fe-EDDHA 6% on growth of plant and chemical contents of *Concarpus lancifolius* Engl

Nibrass I. Abdul- Jabbar, Jamal A. Abbass and Mansoor A. Aboohanah

Faculty of Agriculture/ Kufa University / Republic of Iraq

ABSTRACT

An experiment was conducted at Najaf Municipality Nursery, Najaf -Governorate, using *Concarpus lancifolius* Engl. during 2008-2009 growing season to study the effect of supplying nitrogen fertilization $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 46%, (soil application, concentration (0.00, 1000, 2000 and 3000) mg.L^{-1} and three concentrations of Fe-EDAT (0.00 500 and 1000) mg.L^{-1} on growth parameters of plant *Concarpus lancifolius* Engl.

The experiment was carried out using Complete Randomized Design (RCBD) with three replications. The means were analyzed using L.S.D. at 0.05 probability.

The results showed that fertilizing *Concarpus lancifolius* with 2000 mg.L^{-1} interacting with Fe-EDDHA spray of concentration 500 mg.L^{-1} improved significantly plant growth characteristics (plant length, leaf area index, leaf content of chlorophyll A, B, plant content of total carbohydrate in leaves and stems, plant content of nitrogen in leaves and stems compared with comparison treatment, while the increase in Fe concentration by 1000 mg.L^{-1} had led to an increase in the leaves and stems of the Fe content compared with comparative and other treatments variables.

المقدمة

على 15 كغم تربة رملية مزيجية ، وتم تحليل بعض صفاتها الفيزيائية كما هو موضح في الجدول رقم (1).

جدول رقم (1): الصفات الفيزيائية والكيميائية لوسط الزراعة عند بدء التجربة

الصفات	نتيجة التحليل	وحدة القياس
نسيج التربة	رملية مزيجية	
الرمل	775	غم / كغم
الغرين	180	غم / كغم
الطين	45	غم / كغم
درجة حموضة التربة pH	7.7	
الإصلالية الكهربائية Ec	1.8	دسي سيمنز
النيتروجين الجاهز	0.8	ملغم / كغم
المادة العضوية	1.5	غم / كغم

نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل R.C.B.D بعاملين الأول تسميد الشتلات باليوريا (46% N) بتركيز (0 ، 1000 ، 2000 ، 3000) ملغم . لتر⁻¹ كدفعة أولى وبعد 30 يوم من الدفعة الأولى تم إعطاء الدفعة الثانية ، العامل الثاني فقد تم رش الشتلات بالحديد حتى البلل الكامل بتركيز (0 ، 500 ، 1000) ملغم . لتر⁻¹ من مادة الشتلات المنتجة من قبل شركة Syngenta والذي يحوي 1 كغم منه على Fe-EDDHA 6% (Fe-Ethylene diamine di (o-hydroxy phenyl acetic acid)) بعد 60 يوم من زراعة الشتلات ولمرة واحدة طول مدة التجربة ، حلت البيانات احصائياً وقورنت المتوسطات حسب اختبار L.S.D أقل فرق معنوي وتحت مستوى احتمال 5% (7). جلبت بيانات الأنواء الجوية من الهيئة العامة للأنواء الجوية / فرع النجف كما هو مبين في جدول (2) ، وأجريت عمليات الخدمة لكافة المعاملات من ري بكمية 1 لتر لكل أصيص مع إجراء عملية التعشيب كلما دعت الحاجة.

جمعت البيانات في نهاية التجربة بتاريخ 1 / 7 / 2009 وتم أخذ ارتفاع النبات بشرط القياس المعدني من مستوى سطح تربة الأصيص وحتى أعلى قمة للنبات ، المساحة الورقية ، ومحتوى الأوراق من الكلوروفيل A وكلوروفيل B ، نسبة الكربوهيدرات الكلية في الأوراق والسيقان ، ومحتوى النبات من النيتروجين الكلي في الأوراق والسيقان ، ومحتوى النبات من الحديد الكلي في الأوراق والسيقان.

جدول رقم (2): المعدل الشهري لدرجات الحرارة العظمى والصغرى والرطوبة النسبية

التاريخ	درجة الحرارة العظمى (°م)	درجة الحرارة الصغرى (°م)	المعدل	الرطوبة النسبية
2009/2/28-2/15	20.9	9.2	15.05	63.92
2009/3/31-3/1	25.5	12.2	18.85	61.33
2009/4/30-4/1	28.4	13.1	20.75	58.40
2009/5/31-5/1	34.4	14.3	24.35	51.9
2009/6/30-6/1	39.3	21.2	30.25	37.9

جلبت من الهيئة العامة للأنواء الجوية / فرع النجف

النتائج والمناقشة

يتضح من جدول رقم (3) أن مع زيادة التسميد النيتروجيني أدى إلى حصول زيادة معنوية في مؤشرات النمو الخضري من ارتفاع النبات والمساحة الورقية وصولاً إلى التركيز 2000 ملغم . لتر⁻¹ وبلغت هذه الزيادة 161.22 (سم) و 63723.2 (سم²) على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة التي كان ارتفاع النبات والمساحة الورقية فيها 118.28 (سم) و 10881.1 (سم²) على التوالي.

ينتمي نبات الداماس *Concarpus lancifolius* إلى العائلة Cambretaceae ، وهو من الشجيرات المستديمة الخضرة الكثيرة التفرع ويصل ارتفاع النبات إلى أكثر من ستة أمتار ، يصلح النبات في تنسيق الحدائق لأنه من النباتات القابلة للقص والتشكيل أو قد يزرع بشكل سياج نباتي بحيث يوفر العزلة في بعض جهات الحديقة أو لكتم الأصوات ، الأوراق بسيطة متبادلة الوضع على الأفرع ذات لون أخضر فاتح من السطحين العلوي والسفلي ويتراوح طول الورقة (7-12) سم وعرضها (2.5-4.0) سم وتكون الأفرع الحديثة ذات لون أخضر فاتح يشوبها اللون الأرجواني.

وتعتبر الشجيرات كنباتات الزينة المستخدمة في تنسيق الحدائق وتشجير المدن ومواجهة ظاهرة التصحر والتقليل من حدة الرياح وتوفير الظل وتخفيف حرارة الصيف عن طريق النتح وكذلك تسهم في تنقية الهواء من الأتربة وزيادة نسبة الأوكسجين فيه فضلاً عن أهميتها في تجميل الشوارع والطرق والجزرات الوسطية وذلك للتقليل من الضوضاء ومن انعكاس أضواء السيارات في الطرق الخارجية (1) ، فضلاً عن كون نبات الداماس *Concarpus lancifolius* من النباتات التي تحتمل ظروف الحرارة والجفاف والترب المالحة وتنمو بشكل جيد في الترب الطينية المزيجية وكذلك في الترب الفقيرة الصلدة . وقد انتشرت زراعة هذه الشجيرات بشكل كبير في دول الخليج العربي وذلك لجمال أوراقها الخضراء وسرعة نموها وقدرتها على تكوين ساتر نباتي في وقت قصير لكسر حدة الرياح ، فضلاً عن قابليتها للقص والتشكيل (2) .

يعد النيتروجين من أهم العناصر اللازمة لنمو وتطور النبات ، وتحتوي الأنسجة النباتية الجافة على نسبة (2-4%) من النيتروجين تتحدد وفقاً لنوع النبات وطبيعة نموه ، وتمتص النباتات النيتروجين من محلول التربة بشكل أساسي بصورة أيون نايتريت NO₃⁻ وفي بعض الحالات بشكل أيون الأمونيوم NH₄⁺ قبل أن يدخل التفاعلات الحيوية للأحماض الأمينية والبروتينات وغيرها من المكونات العضوية ، كما يعد النيتروجين أحد المكونات الهامة لبناء البروتين والأحماض النووية وبعض الهرمونات والكلوروفيل ، لذلك فإن أهم أعراض نقصه تتمثل في بطء النمو وتقرم واصفرار عام للأوراق ، وتحت ظروف نقص النيتروجين فإنها تؤدي إلى تراكم صبغة الأنثوسيانين في كثير من الأنواع النباتية (3). في الدراسة الحالية ، تم استخدام طريقة الرش عند التسميد بعنصر الحديد وذلك لكون المركبات المخلبية هي أحد الوسائل المتبعة لمعالجة نقص العناصر الصغرى فضلاً عن طبيعة الترب العراقية الكلسية ذات التفاعل القاعدي فتتعرض العناصر الصغرى إلى التثبيت نتيجة لارتباطها على سطوح دقائق الطين بشدة فيصعب امتصاصها عن طريق الجذور وبالتالي عدم تحقيق الفائدة منها ، ويعتبر الحديد المكون الأساسي في النظام الأنزيمي ويساعد في انتقال الإلكترونات وتكوين الكلوروفيل وتمثيل النيتروجين ، ومن علامات نقصه اصفرار الأوراق الحديثة ما بين العروق مع احتراق حواف الأوراق وقمم الأفرع في حالة النقص الشديدة (4). وقد توصلت إحدى الدراسات إلى أن إضافة 3 غم / أصيص من سماد السيكسترين (الحديد المخلبي 6%) قد أدى إلى تحسين النمو في جميع الصفات المدروسة لنبات الداماس (6) . وقد أدخلت هذه الشجيرات حديثاً إلى العراق ونجحت بشكل كبير ، لذلك أجريت هذه الدراسة للتعرف على مدى استجابة شجيرات الداماس للتسميد النيتروجيني والرش بالحديد في تحسين صفات النمو وإنتاج شجيرات ذات نمو خضري كثيف .

المواد وطرق العمل

أجريت التجربة في مشتل بلدية النجف بهدف دراسة تأثير أربعة مستويات من السماد النيتروجيني وثلاثة مستويات من الحديد في صفات النمو الخضري لنبات الداماس ، إذ تم زراعة 36 شتلة مستوردة من المشاتل الحكومية في دولة الكويت بتاريخ 2009/2/15 ، وبارتفاع 10 اسم في أصص بقطر 30 سم تحتوي

أما عند زيادة تراكيز رش الحديد إلى 1000 ملغم . لتر⁻¹ فإنها أثرت تأثير سلبي في صفات النمو الخضري وصفات المحتوى الكيميائي لنبات الداماس ويرجع سبب هذا إلى وصول الحديد إلى التركيز السام في النبات حيث لاحظ من هذا الجدول زيادة محتوى الأوراق والسيفان من الحديد الذي بلغ 611.95 ملغم . كغم⁻¹ كما لوحظ تلون الأوراق الحديثة باللون الأحمر البرونزي مع ضعف النمو الخضري فيها على خلاف الأوراق الحديثة في معاملة المقارنة.

يوضح الجدول رقم (5) التداخل المشترك بين التسميد النتروجيني والرش بالحديد وأثرهما على صفات النمو الخضري لنبات الداماس حيث نلاحظ تفوق معاملة التسميد النتروجيني بتركيز 2000 ملغم . لتر⁻¹ والرش بالحديد بتركيز 500 ملغم . لتر⁻¹ على معاملة المقارنة في تحسين معظم الصفات المدروسة وبشكل معنوي في ارتفاع النبات، المساحة الورقية، محتوى الأوراق من الكلوروفيل A و B، نسبة الكربوهيدرات الكلية والنتروجين في الأوراق والسيفان، حيث بلغت 179.20 سم²، 75449 سم²، 3.487 ملغم . غم⁻¹، 2.988 ملغم . غم⁻¹، 3.63 %، 3.08 %، 4.12 %، 1.49 % على التوالي وتتفق هذه النتائج مع ما توصلت إليه دراسة (12). ولكن مع زيادة تركيز الحديد أدى إلى حصول زيادة معنوية في محتوى الأوراق والسيفان من الحديد الذي بلغ 259.53 ملغم . كغم⁻¹ 114.35 ملغم . كغم⁻¹ على التوالي مقارنة مع باقي المعاملات. ويرجع سبب هذه الزيادة إلى دور النتروجين السدي يدخل في بناء الأحماض العضوية والأحماض الأمينية في النبات وفي بناء الأنزيمات والبروتينات فضلاً عن دوره أيضاً في بناء الكلوروفيل وساييتوبلازم الخلية بالإضافة إلى دوره المتداخل مع الحديد والذي يعد ضرورياً أساسياً في نظام العديد من الإنزيمات وخاصة الإنزيمات التي تدخل أو تساعد في عملية التنفس و Haem enzyme systems والتي منها Catalase و Peroxidase و Cytochrome oxidase . ويمثل اشتراك الحديد في تكوين هذه المركبات أهمية خاصة في عمليات الأكسدة وهو أحد الأدوار الهامة في عمليات الميتابوليزم بالخلية وبالرغم من عدم دخول الحديد في تركيب جزيء الكلوروفيل، إلا أنه مهم في تخليق والحفاظ على هذه المادة الخضراء داخل النبات وعلى ذلك فنقصه يؤدي إلى ظهور الشحوب الخضري ويظهر الاصفرار على النبات فضلاً ليعب دوراً أساسياً في تمثيل الأحماض النووية، والكلوروبلاست.

ولكن مع زيادة تركيز كل من عنصري النتروجين والحديد وصولاً إلى التركيز 3000 ملغم . لتر⁻¹ سماد نتروجيني والرش بالحديد بتركيز 1000 ملغم . لتر⁻¹ أدى إلى حصول انخفاض معنوي في معظم صفات النمو المدروسة لنبات الداماس مما قد يدل على وصول العنصرين إلى التركيز السام ومن خلال المشاهدات الحقلية لوحظ أن نباتات هذه المعاملة قد تلونت أوراقها بلون أخضر شاحب مع تلون الأوراق الحديثة التكوين باللون الأخضر البرونزي بالمقارنة مع نباتات المقارنة التي مانت أوراقها ذات لون أخضر غامق بالنسبة للقدمة التكوين أما الحديثة فقد كانت ذات لون أخضر فاتح (3، 13، 14).

وكذلك أدت هذه المعاملة إلى حصول زيادة معنوية في جميع صفات المحتوى الكيميائي المدروسة ، من محتوى الأوراق من صبغة الكلوروفيل A و B ومحتوى الأوراق والسيفان من الكربوهيدرات والنتروجين والحديد والتي بلغت 3.210 ملغم . غم⁻¹ ، 2.725 ملغم . غم⁻¹ ، 3.17 % ، 2.98 % ، 3.79 % ، 1.34 % ، 228.08 ملغم . كغم⁻¹ ، 100.35 ملغم . كغم⁻¹ على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة التي سجلت أدنى القراءات ولجميع صفات المحتوى الكيميائي المدروسة وكانت 2.222 ملغم . غم⁻¹ و 1.929 ملغم . غم⁻¹ و 2.23 % و 1.74 % و 2.86 % و 0.92 % 119.87 ملغم . كغم⁻¹ و 51.96 ملغم . كغم⁻¹ وهذا قد يرجع إلى دور النتروجين الذي يدخل في بناء الأحماض الأمينية التي تدخل في تكوين البروتين فضلاً عن كونه يدخل في بناء الكلوروفيل إذ تتحد أربع ذرات نتروجين مع ذرة مغنسيوم لتكوين جزيئة كلوروفيل وكذلك دوره في بناء الأغشية الخلوية والفيتامينات ومن ضمنها مجموعة فيتامين B والتي تساهم بمجموعها على زيادة طول النبات وعدد الأوراق واتساعها وعدد الفروع الجانبية والوزن الطري والجاف للنبات وهذا يتفق مع ما جاء به كل من (3، 8) .

ولكن مع زيادة التركيز النتروجين وصولاً 3000 ملغم . لتر⁻¹ أدى إلى حصول إنخفاض في جميع قياسات الصفات المدروسة مما قد أثر سلباً على صفات النمو الخضري والكيميائي للنباتات مما يدل على الوصول إلى التركيز السام في النبات مقارنة مع النباتات التي تم معاملتها بتركيز 2000 ملغم . لتر⁻¹ ومع هذا فإنها قد تفوقت معنوياً مع معاملة المقارنة وفي جميع الصفات وهذا قد يرجع إلى زيادة كمية النتروجين ووصولها إلى الحدود السامة والذي يؤدي إلى زيادة تكوين البروتوبلازم الناشئ من تكوين البروتين والذي يحتوي على كميات كبيرة من الماء فإن ذلك يؤدي إلى فقد الماء نتيجة لاختلاف التركيز الأزموزي في منطقة الامتصاص للشعيرات الجذرية وتعرضها للإتكماش نتيجة لزيادة تركيز النتروجين في التربة وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره أبو ضاحي واليونس ، (1988) وتختلف مع ما وجدته (9) عندما قاما بتسميد خمسة أنواع من نبات اللوسينيا *Leucaena spp* بتركيز 4000 ملغم / لتر من السماد النتروجيني وأدى إلى زيادة معنوية في صفات النمو الخضري.

ومن النتائج المتحصل عليها في جدول رقم (4) يلاحظ أن رش نبات الداماس بالحديد بتركيز 500 ملغم . لتر⁻¹ أدى إلى حصول زيادة معنوية في مؤشرات النمو الخضري لنمو نبات الداماس من ارتفاع النبات والمساحة الورقية والتي بلغت أقصاها 155.32 سم و 42218.9 سم² لكل منهما على التوالي .

وكذلك أدت هذه المعاملة إلى حصول زيادة معنوية في محتوى الكيميائي للصفات المدروسة لنبات الداماس لكل من الكلوروفيل A و B ونسبة الكربوهيدرات والنتروجين في الأوراق والسيفان والتي بلغت 2.214 ملغم . غم⁻¹ ، 2.571 ملغم . غم⁻¹ ، 2.96 % ، 2.58 % ، 3.70 % و 1.13 % على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة التي أعطت أدنى القراءات وقد يرجع سبب هذا الاختلاف إلى دور عنصر الحديد في العديد من العمليات الحيوية للنبات ، إما عن طريق اشتراكه المباشر كجزء تركيبي لمواد البناء أو تنشيطه للعمليات الأنزيمية داخل النبات ، إذ يدخل الحديد عاملاً مساعداً ومنشطاً لتفاعلات تكوين الصبغات الخضراء عبر سلسلة مركبات تنتهي بتكوين جزيئة الكلوروفيل وهذا يتفق مع ما ذكره (4، 10) ، أو من خلال دوره المهم في عملية تمثيل RNA للكلوروبلاست في الأوراق والتي هي عبارة عن أجسام تحتوي على الكلوروفيل ، كما وقد يدخل الحديد في تكوين أنزيمات Cytochromes ذات الأهمية الكبيرة في عمليتي البناء الضوئي والتنفس من خلال دوره في استقبال ونقل الإلكترونات وأن أي خلل يحصل في هذه الصبغات الأنزيمية نتيجة لنقص الحديد يؤدي إلى اختلال في عملية البناء الضوئي واصفرار الأوراق الفتية واحترق حوافها وقمم النباتات (3)، لهذا فإن تسميد النباتات بالحديد ضروري لتحسين صفات النمو الخضري وزيادة كمية الكلوروفيل في النباتات المسمدة وزيادة ارتفاع النبات والوزن الجاف للمجموع الخضري ويتفق هذا مع ما ذكره كل من (5، 11) .

جدول رقم (3): تأثير إضافة السماد النتروجيني في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات الداماس

Conocarpus lancifolius

الصفات										تراكيز النتروجين ملغم. لتر ⁻¹
محتوى السيقان من الحديد (ملغم. كغم ⁻¹)	محتوى الأوراق من الحديد (ملغم. كغم ⁻¹)	نسبة النتروجين في السيقان (%)	نسبة النتروجين في الأوراق (%)	نسبة الكاربوهيدرات في السيقان (%)	نسبة الكاربوهيدرات في الأوراق (%)	كلوروفيل B (ملغم. غم ⁻¹)	كلوروفيل A (ملغم. غم ⁻¹)	المساحة الورقية سم ²	ارتفاع النبات (سم)	
c 51.96	c 119.87	c 0.92	c 2.86	d 1.74	d 2.23	c 1.929	d 2.222	d 10881.1	d 118.28	صفر
b 81.64	b 189.37	b 1.02	b 3.34	b 2.50	b 2.84	b 2.438	b 2.952	c 32610.8	c 130.41	1000
a 100.35	a 228.08	a 1.34	a 3.79	a 2.98	a 3.17	a 2.725	a 3.210	a 63723.2	a 161.22	2000
b 83.39	b 185.98	d 0.86	b 3.23	c 2.33	c 2.51	b 2.261	c 2.490	b 39353.2	b 148.73	3000

* معدلات المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لا تختلف معنويًا فيما بينها ضمن العمود الواحد عند مستوى احتمال 0.05

جدول رقم (4): تأثير الرش بالحديد في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات الداماس *Conocarpus lancifolius*

الصفات										تراكيز الحديد ملغم. لتر ⁻¹
محتوى السيقان من الحديد (ملغم. كغم ⁻¹)	محتوى الأوراق من الحديد (ملغم. كغم ⁻¹)	نسبة النتروجين في السيقان (%)	نسبة النتروجين في الأوراق (%)	نسبة الكاربوهيدرات في السيقان (%)	نسبة الكاربوهيدرات في الأوراق (%)	كلوروفيل B (ملغم. غم ⁻¹)	كلوروفيل A (ملغم. غم ⁻¹)	المساحة الورقية سم ²	ارتفاع النبات (سم)	
c 49.08	c 450.13	b 1.03	b 3.27	b 2.28	b 2.28	b 2.144	b 1.952	b 34504.3	b 131.55	صفر
b 62.06	b 565.33	a 1.13	a 3.70	a 2.58	a 2.96	a 2.571	a 2.214	a 42218.9	a 155.32	500
a 67.36	a 611.95	c 0.95	c 2.94	b 2.30	b 2.30	b 2.300	b 1.950	c 33203.0	b 133.61	1000

* معدلات المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لا تختلف معنويًا فيما بينها ضمن العمود الواحد عند مستوى احتمال 0.05

جدول رقم (5): تأثير إضافة السماد النتروجيني والرش بالحديد في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات الداماس *Conocarpus lancifolius*

الصفات										تراكيز الحديد ملغم. لتر ⁻¹	تراكيز النتروجين ملغم. لتر ⁻¹
محتوى السيقان من الحديد (ملغم. كغم ⁻¹)	محتوى الأوراق من الحديد (ملغم. كغم ⁻¹)	نسبة النتروجين في السيقان (%)	نسبة النتروجين في الأوراق (%)	نسبة الكاربوهيدرات في السيقان (%)	نسبة الكاربوهيدرات في الأوراق (%)	كلوروفيل B (ملغم. غم ⁻¹)	كلوروفيل A (ملغم. غم ⁻¹)	المساحة الورقية سم ²	ارتفاع النبات (سم)		
33.54 i	79.97 i	0.94 f	2.67 f	1.65 h	2.25 g	1.851 c	2.256 ef	9607 f	102.44 h	صفر	صفر
56.76 h	129.97 h	1.04 d	3.37 cd	1.85 fg	1.93 h	2.072 c	2.446 de	12521 f	135.30 d-f	500	
65.59 g	149.67 g	0.79 h	2.53 f	1.72 gh	2.50 f	1.863 c	1.965 f	10516 f	117.10 f-h	1000	
74.38 f	169.73 ef	1.04 d	3.27 de	2.36 e	2.66 e	2.115 c	2.564 de	29090 e	116.00 gh	صفر	1000
83.17 de	189.40 d	1.09 c	3.72 b	2.58 d	3.10 b	2.683 ab	3.224 ab	35814 de	143.30 c-e	500	
87.36 cd	198.80 cd	0.94 f	3.02 e	2.55 d	2.77 d	2.515 b	3.067 b-c	32928 e	131.93 e-g	1000	
81.18 e	185.07 de	1.44 b	3.62 bc	2.88 bc	3.09 b	2.508 b	3.235 ab	90976 b	159.40 bc	صفر	2000
105.51 b	239.63 b	1.49 a	4.12 a	3.08 a	3.63 a	2.988 a	3.487 a	75449 a	179.20 a	500	
114.35 a	259.53 a	1.09 c	3.62 bc	2.99 ab	2.78 d	2.680 ab	3.027 bc	54745 bc	151.06 b-d	1000	
72.65 f	165.40 fg	0.69 i	3.53 b-d	2.24 e	2.28 g	2.102 c	2.356 e	38345 de	148.37 b-e	صفر	3000
85.57 de	194.77 cd	0.91 g	3.60 bc	2.82 c	2.96 c	2.542 b	2.771 cd	45092 cd	163.47 ab	500	
91.95 c	207.93 c	0.99 e	2.57 f	1.94 f	2.30 g	2.140 c	2.342 ef	34623 e	134.36 d-f	1000	

* معدلات المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لا تختلف معنويًا فيما بينها ضمن العمود الواحد عند مستوى احتمال 0.05

13. ديفلين ، روبرت . ويذام ، فرانسيس . (1993) . فسيولوجيا النبات . ترجمة شوقي محمد محمود ، عبد الهادي خضر ، علي سعد الدين سلامة ، نادية كامل ومحمد فوزي عبد الحميد . الدار العربية للنشر والتوزيع.
14. النعيمي ، سعد الله نجم عبد الله . (1999) . الأسمدة وخصوبة التربة - طبعة ثانية منقحة - دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . العراق.

الاستنتاجات

- 1- أن تسميد نبات الداماس بالسماد النتروجيني بتركيز 1000 و 2000 ملغم . لتر⁻¹ يؤدي إلى تحسين في معظم الصفات المدروسة ولكن عند زيادة تركيز النتروجين إلى 3000 ملغم . لتر⁻¹ أدى إلى حصول تدهور في نمو النبات بسبب الوصول إلى التركيز السام في النبات أو حصول اختلاف في الضغط الأزموزي في الجذور.
- 2- عند رش الشتلات بالحديد بتركيز 500 ملغم / لتر أدى إلى تحسين في جميع الصفات المدروسة لدوره في زيادة امتصاص النتروجين ومحتوى الأوراق من الكلوروفيل A و B ومحتوى الأوراق والسيفان من الكربوهيدرات الكلية والنتروجين الكلي مما انعكس هذا على باقي الصفات المدروسة 3- أظهر جدول التداخل بين التسميد النتروجيني والرش بالحديد أن التوليفة المكونة من إضافة 2000 ملغم . لتر⁻¹ نتروجين و 500 ملغم . لتر⁻¹ حديد مخلي إلى حصول زيادة في معظم الصفات المدروسة وأدى استخدام التراكيز العالية من النتروجين والحديد إلى حصول تدهور في معظم الصفات المدروسة.

المصادر

1. البطل، نبيل. (2005). نباتات الزينة الخارجية. كلية الزراعة. جامعة دمشق. مطبعة المجلوني. دمشق. سوريا.
2. عبد الغفار، عبد الحميد. (2006). البدائل المثلى للتشجير في البيئة المحمية. البحرين نموذجاً منظور اقتصادي للاستدامة. مؤتمر العمل البلدي الأول. دولة البحرين.
3. أبو ضاحي، يوسف محمد ، اليونس، مؤيد أحمد. (1988). دليل تغذية النبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد. العراق.
4. Gibson JL.; Nelson PV.; Pitchay DS. and Whipker BE. (2001). Identifying nutrient deficiencies of bedding plants. State University.
5. Kelk LN. (2002). Effect of micronutrient rate on the growth of containerized *Quercus palustris* seedling in pine bark. Master Thesis, Virginia polytechnic Institute and State University U.S.A.
6. عباس ، جمال أحمد . (2010) . تأثير سماد السيكوسترين وكبريتات المغنسيوم في مؤشرات النمو لشتلات نبات الداماس *Conocarpus lancifolius* Engl ، مجلة جامعة كربلاء ، 8(3): 252-261.
7. الراوي، خاشع محمود ، خلف الله، عبد العزيز محمد. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. العراق.
8. Hopkins WG. and Huner NPA. (2004). Introduction to Plant Physiology. 3rd ed. John Wiley and Sons, Inc.
9. Ahmed ET. and Aly MK. (1998). Response of five *Leucaena* species grown in calcareous soil to fertilization with macro and micro nutrients. J Agric. Soil Mansoura Univ. 23 (9): 3935-3951.
10. Hopkins WG. (1999). Introduction to Plant Physiology. 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc.
11. El- Sallami IH. (1996). Response of *Ficus benjamina* L. to different potting media and doses of nutrient solution. Assiut. J. Agri. Sci. 27(3) : 34- 52.
12. عثمان ، جبريل محبوب ، دهشان، اسماعيل حبيب، سندس السيد. (1995) . استجابة شتلات الجوافة للتسميد المعدني والرش بالعناصر الصغرى للنمو الخضري . وقائع المؤتمر . جمهورية مصر العربية . 253-264.

تأثير المستخلص المائي لقشور ثمرة الرمان وبجرع مختلفة في فروج اللحم المصاب بالإشريشيا القولونية تجريبيا

أفراح عبد الواحد غلام

قسم صحة المجتمع / معهد الديوانية التقني / جامعة الفرات الأوسط / جمهورية العراق

الملخص باللغة العربية

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير المستخلص المائي لقشور ثمرة الرمان على أفراخ اللحم المصابة بالإشريشيا القولونية تجريبيا. نفذت الدراسة على عينة قوامها 100 طير فروج لحم، قسمت الى مجموعتين: أعطيت المجموعة الاولى المكونة من (25 طير) جرعة 5 مل من مرق trypticase soya الخالي من الجراثيم واعتبرت مجموعة سيطرة في حين أعطيت المجموعة الثانية المكونة من (75 طير) جرعة 5 مل من المرق نفسه والذي يحتوي على 2×10^8 خلية / مل. وبعد ظهور أعراض الإصابة تم إعطاء المجموعات جرعة المستخلص المائي لقشور الرمان وبتركيزات 75، 50، 100 ملغم / مل. أظهرت النتائج انخفاضاً في معدلات الأوزان للطيور المصابة مع قلة استهلاك العلف وزيادة استهلاك الماء بعد الإصابة، وعند إعطاء جرعة المستخلص المائي وجد تحسن ملحوظ في معدلات أوزان الطيور وكذلك زيادة في استهلاك العلف مع تحسن الوضع الصحي للأفراخ بازدياد التركيز المستخدم.

الكلمات المفتاحية: الإشريشيا القولونية، قشور ثمرة الرمان، فروج اللحم

The effect of watery extracts of pomegranate peel (*punica granatum*) with different doses on broiler infected with *Escherichia coli* experimentally

Afrah A.W. Ghulam

Dept. of Community Health /Al- Dewaniyah Technical Institute / Al- Furat Al- Awsat Technical University/ Republic of Iraq

ABSTRACT

This study was designed to determine the effect of extract watery of Pomegranate peel (*Punica granatum*) on broiler infected with *Escherichia coli*. 100 chicks were used in the study, which were divided into two groups. The first group (25 chicks) given 5ml of sterile trypticase soya broth (control group) while the second group (75 chicks) given 5ml of trypticase soya broth which containing 2×10^8 CFU / ml of *Escherichia coli* (infected group). When the symptoms of infection were appearing extracting watery of Pomegranate peel was given at the concentrations 50, 75 and 100 mg /ml.

The results showed a decreased in body weight, and food - and water intake after infection and when we given the extract watery, there was an increase in body weight, food intake, and the health of chicks according to the increase in concentration infused.

المقدمة

تحضير العالق الجرثومي:

حضر العالق الجرثومي بنقل الجرثومة من الخزين الاصلي وزرع بطريقة التخطيط على السطح المائل للوسط المغذي ، ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة ، ثم غسل النمو من السطح المائل باستخدام 10 مل من المرق المغذي ورج العالق جيدا ونقل الى انبوبة اختبار نظيفة وتم تقدير العدد الكلي للجرثومة وذلك من خلال مقارنة النمو في المرق المحضر مع محلول ماكفرلاند القياسي وقد تم اختبار الانبوبة الحاوي على 10×2^8 خلية / مل .

تحضير الأفراخ:

تم شراء 100 فرخ لحم بعمر يوم واحد ومن عرق (روز) من الاسواق المحلية، وقسمت الى مجموعتين :

- مجموعة السيطرة وتضم (25 طيرا).
- مجموعة العلاج وتضم (75 طيرا) وهذه المجموعة قسمت الى ثلاثة مجاميع لتأخذ كل مجموعة جرعة علاجية مختلفة وهي 75، 50، 100 ملغم / مل . وتم تربيتها لحين وصولها لعمر 20 يوما وجرعت بالمرق الحاوي على الجرثومة.

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج إحصائيا باستعمال البرنامج الإحصائي (spss) الإصدار (2003) والمتضمن حساب المتوسط الحسابي والخطأ القياسي وإجراء المقارنات بين المتوسطات عند مستوى احتمال $(p < 0.05)$ (15) .

النتائج والمناقشة

بعد إعطاء الجرع ، لوحظ حدوث تغيرات على الطيور ، حيث لوحظ خمول الطير و بعد 24 ساعة ظهرت حالات الاسهال في المجاميع المصابة وقلة في استهلاك العلف ، وزيادة في رطوبة الفرشة نتيجة زيادة استهلاك الماء (جدول رقم 1) ، ومن ثم انخفاض في اوزان الطيور عن مجموعة السيطرة (جدول رقم 2) ، حيث كانت معدلات الاوزان متقاربة في كل المجاميع قبل الإصابة، وبعد الإصابة والتجريع بأسبوع كان هناك انخفاض معنوي في معدلات الاوزان بين المجاميع المصابة ويزداد الوزن مع زيادة تركيز الجرعة المعطاة من العلاج $(722 \pm 33 \text{ غم/طير})$ في تركيز العلاج 50 ملغم /مل و $(761 \pm 5.3 \text{ غم/طير})$ في تركيز العلاج 75 ملغم /مل و $(798 \pm 37.5 \text{ غم/طير})$ في تركيز العلاج 100 ملغم /مل ، ويرجع سبب الانخفاض في الاوزان إلى الإصابة بالاسهال وقلة في استهلاك العلف (جدول رقم 3)، وقلة في كفاءة التحويل الغذائي، حيث ان هناك فارقا معنويا بين المجاميع ومجموعة السيطرة ، ويقل الفارق مع زيادة الجرعة ويختفي الفارق المعنوي في نهاية التجربة (جدول رقم 4)، ويستمر التحسن في الاوزان حتى نهاية التجربة حيث كانت معدلات الاوزان مقاربة من اوزان مجموعة السيطرة.

الايشريشيا القولونية واسمها العلمي *Escherichia coli*. وهي عصيات سالبة لصبغة كرام وتتواجد في الامعاء (1) وهي واحدة من ست مسببات للإسهال وتم عزلها في خروج الانسان والحيوان (2).

توجه الاهتمام حديثا الى استعمال الادوية المعزولة من الاعشاب والنباتات المختلفة كمواد علاجية ضد الجراثيم المرضية لضمان فاعليتها من جهة ولأمانها واقتصاداتها من جهة اخرى (3) وعلى مر العصور أثبتت النباتات والاعشاب الطبية قدرتها الفاعلة في معالجة الكثير من الامراض واثار جانبية محدودة لا تكاد تذكر مقارنة مع الادوية الكيميائية ذات التأثيرات الجانبية المتعددة (4) . ومن بين هذه النباتات نبات الرمان *Punica granatum* ويعرف بالانكليزية باسم Pomegranate (وبعني الرمانات) (5) الذي ينتمي الى العائلة الرمانية *Punicaceae* ويزرع في معظم البلدان العربية خصوصا حوض البحر الابيض المتوسط والعراق وبلاد الشام (6) وهو غني بمركبات متعدد الفينول *polyphenolic compounds* (يحيي على حلقة الفينول مع مجاميع الهيدروكسيل (7)، وتستخدم قشور ثمرة الرمان في مجال الطب الشعبي في علاج قرحة المعدة والأمعاء لأنها تعمل على تغيير طبيعة بروتينات الامعاء كما ويقلل من ارتشاح السوائل فضلا عن انه يقتل الجراثيم ويمتص السموم الجرثومية (6، 8، 9)، وأشير إلى أن نقيع القشور يستخدم بمفرده او مخلوطا مع الرز لعلاج الأم المعدة والتهابات الامعاء والقولون (10) ، كما وتستخدم عصارة ونقيع القشور والسيقان لعلاج كثرة الافرازات المهبلية وذلك لخوصها القاتلة للجراثيم والفطريات (9، 11، 12) ، ووجد الباحث (13) ان لعصارة ثمار الرمان فعلا قاتلا على نمو الجراثيم المرضية ، وأظهرت خلاصة قشور الرمان تأثيرا فاعلا ضد الجراثيم الموجودة في امعاء الجرذان المختبرية (14) ونظرا للأهمية الطبية والعلاجية التي تتمتع بها خلاصات الرمان اجريت هذه الدراسة للكشف عن التأثير المستخلص المائي وبتركيز مختلفة على فروج الحم المصاب بالايشريشيا القولونية.

المواد وطرائق العمل

تحضير مستخلص قشور الرمان:

تم جمع كمية من قشور الرمان من الاسواق المحلية في مدينة الديوانية وتم تنظيفها من المواد العالقة بها وذلك بغسلها وتجفيفها ثم طحنت باستعمال المطحنة الكهربائية لحين الحصول على مسحوق ناعم وزن 100 غم من المسحوق ووضع في دورق حجمي سعة (1000 مل) وأضيف إليه 100 مل من الماء المقطر لغرض الحصول على المستخلص المائي ، ثم وضع الدورق على سخان مغناطيسي بدرجة 500 °م وترك ليمتزج جيدا بوساطة مسازج مغناطيسي مدة 24 ساعة ، وبعدها رشح المزيج باستعمال ورق ترشيح من نوع Whatmann No.2 وبخر بجهاز المبخر الدوار بدرجة حرارة 60 °م ويضغط منخفض لحين الحصول على المستخلص .

تحضير التراكيز المختلفة لمستخلص قشور الرمان:

تم تحضير المحلول المستخدم للدراسة وذلك بإذابة 1 غم في 10 مل من الماء المقطر للحصول على التركيز 100 ملغم / مل ، حضرت منه بقية التراكيز 50 ، 75 ملغم / مل .

جدول رقم (1): معدل استهلاك الماء للمجاميع للأسبوع الأول بعد الإصابة

مجموعة السيطرة المعدل \pm الخطأ القياسي	معدل استهلاك الماء مل / طير المعدل \pm الخطأ القياسي			العمر باليوم
	التركيز 100 ملغم / مل	التركيز 75 ملغم / مل	التركيز 50 ملغم / مل	
6.1 ± 2.2^a	5.7 ± 2.5^a	5.9 ± 2.7^a	5.6 ± 2.1^a	19
8.5 ± 0.1^a	10.5 ± 1.8^b	11.3 ± 2.1^b	13.3 ± 2.2^b	26

*الحروف المختلفة تعني وجود فارق معنوي بين المجاميع ($p < 0.05$) أفقياً

جدول رقم (2): معدل أوزان الجسم للمجاميع قبل وبعد الإصابة والتجريع

مجموعة السيطرة المعدل \pm الخطأ القياسي	معدل أوزان الجسم غم / طير المعدل \pm الخطأ القياسي			العمر باليوم
	التركيز 100 ملغم / مل	التركيز 75 ملغم / مل	التركيز 50 ملغم / مل	
6.8 ± 690^a	6.6 ± 695^a	9.1 ± 687^a	9.6 ± 691^a	19
39.5 ± 871^d	37.5 ± 798^c	45.3 ± 761^b	33 ± 722^a	26
56.8 ± 1150	66.1 ± 1050	26.8 ± 998	67.1 ± 965	33
63.4 ± 1750^a	54.8 ± 1753^a	44.3 ± 1697^a	26.6 ± 1683^a	40

*الحروف المختلفة تعني وجود فارق معنوي بين المجاميع ($p < 0.05$) أفقياً

جدول رقم (3): معدل استهلاك العلف للمجاميع بعد الإصابة والتجريع

مجموعة السيطرة المعدل \pm الخطأ القياسي	معدل استهلاك العلف الأسبوعي غم / طير المعدل \pm الخطأ القياسي			العمر بالأسبوع بعد التجريع
	التركيز 100 ملغم / مل	التركيز 75 ملغم / مل	التركيز 50 ملغم / مل	
6.8 ± 510^a	7.8 ± 423^b	5.4 ± 386^c	9.8 ± 332^d	الأسبوع الأول
9.2 ± 632^a	10.1 ± 594^b	9.6 ± 564^c	9.6 ± 522^d	الأسبوع الثاني
12.4 ± 708^a	11.0 ± 698^a	10.0 ± 657^b	10.0 ± 587^b	الأسبوع الثالث
11.0 ± 832^a	12.1 ± 845^a	14.1 ± 812^a	13.3 ± 824^a	الأسبوع الرابع

*الحروف المختلفة تعني وجود فارق معنوي بين المجاميع ($p < 0.05$) أفقياً

جدول رقم (4): معدل كفاءة التحويل الغذائي للمجاميع قبل وبعد الإصابة والتجريع

مجموعة السيطرة المعدل \pm الخطأ القياسي	معدل كفاءة التحويل الغذائي الأسبوعي المعدل \pm الخطأ القياسي			العمر بالأسبوع بعد التجريع
	التركيز 100 ملغم / مل	التركيز 75 ملغم / مل	التركيز 50 ملغم / مل	
2.6 ± 0.06^a	2.1 ± 0.3^b	1.9 ± 0.4^c	1.8 ± 0.2^c	الأسبوع الأول
2.7 ± 0.2^a	2.1 ± 0.4^b	2.0 ± 0.6^b	1.9 ± 0.2^b	الأسبوع الثاني
3.4 ± 0.8^a	3.0 ± 0.8^a	2.5 ± 0.5^b	2.2 ± 0.7^b	الأسبوع الثالث
3.5 ± 0.2^a	3.4 ± 0.5^a	3.4 ± 0.2^a	3.3 ± 0.4^a	الأسبوع الرابع

*الحروف المختلفة تعني وجود فارق معنوي بين المجاميع ($p < 0.05$) أفقياً

الفلافونويدات flavonoids والتربينات الثلاثية triterpens والفينولات phenols والمعروفة في فعلها المضاد للميكروبات (22، 23) وبالنتيجة فإن الفعل المضاد للجراثيم لخاصة قشور الرمان تعود إلى الفعل التآزري للمركبات المذكورة أعلاه وهذا يؤكد ما بينته نتائج الدراسة في أن الفعل المثبط والعلاجي للمستخلص بتركيزه الثلاثة لقشور ثمرة الرمان المستخدمة ضد جرثومة *Escherichia coli* يتناسب تناسباً طردياً مع زيادة المادة أو المواد الفاعلة ضد الجراثيم وذلك بزيادة التركيز المستخدم.

وهذه النتائج تؤكد ما توصلت إليه بعض الدراسات التي أكدت على فاعلية قشور الرمان ومستخلصاتها ضد الجراثيم الممرضة من غير جرثومة *Escherichia coli* ، إذ سجلت دراسة كل من (16) و (17) التأثير المضاد للجراثيم لمنقوع قشور ثمرة الرمان بجانب عدد من النباتات والمواد الكيميائية على الجراثيم الموجبة لصبغة كرام والجراثيم السالبة لصبغة كرام، كما أشار (18) إلى تأثير قشور ثمرة الرمان على الجراثيم المرضية. ونققت عدد من الدراسات على أن مادة العفصيات (tannins) الموجودة في أجزاء شجرة الرمان المختلفة وخصوصاً قشور الرمان هي المادة الفاعلة ضد الجراثيم وبقيّة الأحياء المجهرية الممرضة (5، 19، 20)، وذكر (21) أن منسوب العفصيات العالي في قشور ثمرة الرمان يؤدي إلى تغير طبيعة بروتينات الجراثيم وبالنتيجة إلى قتلها. كما وأشارت التحليلات الكيميائية لمستخلصات قشور ثمرة الرمان واحتوائها على نسبة جيدة من

food intake and growth of chickens .Ph.D thesis Leeds University.

17. عبدالرحمن ، غادة يونس.(1995). تأثير بعض النباتات الطبية والمواد الكيميائية على نمو الجراثيم المرضية .المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد الثامن ، ص 108.
18. باقر ، ميعاد غالب (1997). تأثير قشور الرمان وبعض النباتات الطبية المضادة للجراثيم والفطريات المرضية .رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة البصرة ، العراق.
19. Vijayanand S. and Hemapriya J. (2011). *In vitro* Antibacterial Efficacy of Peels and Seed Extracts of *Punica granatum* L. against Selected Bacterial Strains. Int. J. Medicobio. Res. 1(4): 231-234 .
20. Vasudha PA.; Thangjam RC.; Rituparna CH.; Bangar RA.; Richard LO. and Mamatha BA. (2011). Evaluation of the antimicrobial activity of *Punica granatum* peels against the enteric pathogens: An *invitro* study. Asian J. Plant Sci. Res. 1(2):57-62.
21. Samuelsson G. (1999). Drug of natural origin .Swedish pharmaceutical press ,Sweden.
22. Vidal A.; Fallarero A.; Pena BR.; Medica M.E. and Gra B. (2003). Studies on the toxicity of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. J. Ethno. Pharmacol. 89: 295-300.
23. Reddy MK.; Gupta SK.; Jacob MR.; Khan SI. and Ferreira D. (2007). Antioxidant antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. Planta Med. 73: 461-467.

المصادر

1. Vogt RL. and Dippold L. (2005). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with consumption of ground beef, June-July 2002. Pub. Health Rep. 120(2):174-178.
2. Smith SI.; Aboaba OO.; Odeigha P.; Shodipo K.; Adeyeye JA.; Ibrahim A.; Adebisi T.; Onibokun H. and Odunukwe NN. (2003). Plasmid profile of *Escherichia coli* O157:H7 from apparently healthy animals. Afr. J. Biotech. 2:322-324.
3. Glombitaz KW.; Mahran GH.; Mirhon YW.; Michel KG. and Motawi TK.(1994). Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of zizyphus spinachrist in rats. Plan.Med. 60:244- 247.
4. المياحي، عبدالرضا اكبر علوان (2001) النباتات الطبية والتداوي بالاعشاب ، ط (1). مركز عبادي للدراسات والنشر ، صنعاء ، ص 291.
5. Lansky EP. and Newman RE. (2007). *Punica granatum* (Pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer J. Ethno. Pharmacol. 19(2): 177-206.
6. سعدي ، شكري ابراهيم ، عبدالله القاضي محمد، صالح عبدالكريم. (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي .جامعة الدول العربية والمنظمة العربية للتنمية الزراعية الخرطوم. ص 59-61.
7. Dahham SS.; Ali MN.; Tabassum H. and Khan M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) Amer. Eurasian J. Agri. Environ. Sci. 9(3): 273-281.
8. Machado TB.; Pinto AV.; Pinto MC.; Leal IC. and Silva MG. (2003). *In vitro* activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus*. Int. J. Antimicrob. (21): 279-284.
9. Borton SD.(1986). Advanced in medicinal phytochemistry .Center De Recherche Pierre faber. P 64.
10. Watt I. and Breter BM. (1962). The medicinal and poisons of souther and eastern Africa. Livigston Ltd. Edinburgh and Lonndon. pp:875-876.
11. الجنابي، علي الحسين (1996). تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الانسان . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، العراق.
12. Naz S.; Siddiqi R.; Ahmed S.; Rasool SA. and Sayeed SA. (2007). Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. J. Food Sci. (72): 341- 345.
13. Moneam NM.; El-Sharaky AS. and Badreldin M. (1988). Oestrogen content of pomegranate seeds. J.chromatogr.2:438-442.
14. عبدالحسين ، منذر عبدالواحد. (2001). الامراض المتسببة عن طفيلي الزحار الاميبي *Entamoeba histolytica* وتأثير قشور الرمان المضادة للطفيلي في الجرذان المختبرية .رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة البصرة ، ص 86.
15. George A.; Darren G.; Mallery D. and Paul S.(2003). SPSS for windows step by step. Boston ,Pearson Education.Inc,55-65.
16. Injidi MH.(1981).The involvement of melatonin , thyroid hormone , and glucose in the control of

دراسة المواصفات الصحية لنماذج من الحليب المصنع الأكثر استهلاكاً من قبل الأطفال والمعروضة في أسواق بغداد

مريم مال الله غزال، علياء سعد الحافظ

قسم الاقتصاد المنزلي/كلية التربية للبنات/جامعة بغداد/جمهورية العراق

الملخص باللغة العربية

إن معظم الحليب الذي تنتجه الدول المنتجة الرئيسية للحليب ومنتجاته تتم معاملته حرارياً بعملية البسترة ، والغرض من البسترة هو القضاء على الأحياء المجهرية المرضية الموجودة فيه وجعله آمناً للشرب، وتؤدي البسترة إلى هلاك جميع البكتيريا المرضية ومعظم البكتيريا غير المرضية ، وبالتالي تتحسن صفات الحليب الحفظية ، إلا أن عكس ذلك يؤدي إلى ظهور تدهور في خواصه وبالتالي تأثيره السلبي على الصحة ، لاسيما عندما يستهلك من قبل أطفال صغار وتبقى عملية الاختيار للأفضل مربكة لتتنوع المنتجات وكثرتها وخاصة عند عدم الإلمام بمعلومات كافية عن النوع الذي يقتنيه الطفل، ولإعطاء الإجابة الواقية عن أكثر الأنواع من الحليب إستهلاكاً للأطفال بعمر (3-8 سنوات) تم إجراء التحليلات المختبرية للنماذج الشائعة الإستهلاك والتي تضمنت صفات الحليب الحسية وخواصه الطبيعية وكذلك شمل فحوص بكتريولوجية للحليب وايضا نسبة الدهن والبروتين وفحص عنصر الكالسيوم ، وكانت النتيجة بأن أفضل الصفات كانت متوفرة في حليب نوع Kids Judo و حليب KDD لاسيما الخالي من النكهة ، إذ إن احتواء النماذج على بعض المضافات قد يعيق أو يثبط امتصاص بعض العناصر المعدنية المهمة وخاصة الكالسيوم ، كالكافور مثلا ، لذا يفضل اقتناء نماذج الحليب الخالية من الإضافات الغير معلومة التأثير، وأن تتم عملية الشراء من قبل الأسرة لضمان صحة الاختيار و من محلات جيدة الحفظ والعرض لضمان سلامة المنتج الغذائي، والتركيز على الحليب الطازج المعامل حرارياً وبشكل جيد لكي يكون أطفالنا في الجانب الآمن والسليم من اختيارنا الغذائي لهم ، وبما يضمن حصولهم على المواد الغذائية الضرورية لنموهم الصحيح.

الكلمات المفتاحية: فحوصات الحليب ، النوعية الميكروبية، الأطفال

Study of healthy specifications for the types of manufactured milk that are most consumed by children in Baghdad's markets

Maryam M. Ghazal and Alia S. Al-Hafud

Dept. of Home Economics/ College of Education for Women/ University of Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

Most kinds of milk, which are produced by major production countries for milk and dairy products, which is treated thermally with pasteurization process. The purpose of pasteurization is killing the pathological microorganisms in the milk and makes it safe for drinking. Thus, the conservational qualities of milk become better, the opposite leads to bad qualities and its negative impact on health, especially after being consumed by children. The selection process for the best remains confusing because of product's variety, especially when unfamiliarity with sufficient information of the type which is consumed by the child. To give the best answer about the most consuming types of milk by children at the age (3-8) years. Laboratory analysis was conducted for the common types of consumption. Include bacteriology test and percentage of fat, protein, also Examination of calcium. And the result shone: that the best quality is in kids judo and kdd milk, especially without flavor, the samples which contain additional Additives impede absorption elements, especially calcium, for example coca, the best thing is to buy pure milk, which is free from additional substances with unknown effects, and from places with good conservation and supplying to ensure product safely. focus of the fresh milk which is processed thermally to keep our children on safe side and the proper nutrition choice for them which ensure getting the necessary nutritional element for their proper development.

المقدمة

يعد الغذاء إحدى ضرورات الحياة لجميع الكائنات الحية البسيطة والراقية ، فهو ضروري للإنسان من المرحلة الجنينية وحتى مرحلة الشيخوخة ، وأن التغذية الجيدة للطفل منذ الولادة ولغاية ما بعد فطامه ، تعد من الأمور المهمة للبناء الجسمي والعقلي والفكري السليم (1)، ويعد الحليب من أهم المواد الغذائية للإنسان وذلك لاحتوائه على معظم العناصر الغذائية الأساسية التي يحتاجها في غذائه وفي مراحل الحياة المختلفة ، وبصورة خاصة في مرحلة الطفولة ، فبالعديد من الأطفال ينمون نموا جيدا حتى نهاية الشهر السادس على حليب الأم أو حليب الأبقار المعدل ، في حين يحتاج أطفال آخرون إلى مقادير إضافية من العناصر الغذائية (الطاقة ، البروتين بالدرجة الأساس) في غذائهم أكثر مما يوفرها لهم حليب الأم عند نهاية الشهر الرابع وذلك لمكافحة الزيادة السريعة في نموهم (1)، لذا توصي معظم الجهات الصحية في البدء باستخدام ما يسمى بأغذية الأطفال المساعدة Adjunct Baby Food أو أغذية الفطام Weaning Food ، عند نهاية الشهر الرابع من حليب الأم أو حليب الأبقار المعدل لضمان استمرار نمو الطفل بشكل سليم وصحي ، ولاتعد الحالة الغذائية للرضع مثار قلق دائم في معظم دول العالم فحسب ، وإنما لصغار الأطفال Young Children خاصة الذين تتراوح أعمارهم بين 1-3 سنوات الذين يتعرضون كثيرا للحرمان الغذائي ، وبالتالي يعدون الأسوأ بين ضحايا سوء التغذية لذلك يقتضي التنويه ، أن أغذية الأطفال ليست بديلة عن حليب الأم مهما كانت الظروف ، إذ أن كثرة أنواع أغذية حليب الأطفال المسوقة والدعاية الكبيرة المصاحبة لها ، فضلا عن التقدم الكبير الذي شهدته الصناعات الغذائية في العقود الأخيرة في مجال تقنية الغذاء وتنوع المنتجات الغذائية أسهم بشكل فعال في تلبية إحتياجات المستهلك المتغيرة للأغذية الجاهزة ، ومن أشكال أغذية الأطفال المنتوجات السائلة Liquid Product وهي سهلة التناول (1)، ومن تلك المنتجات الحليب المبستر الذي يتوفر أما بنكهات مختلفة أو خالي منها ، ويعرف الحليب المبستر بأنه ذلك الحليب الذي تم تعريضه إلى درجات حرارة 61 م° لمدة نصف ساعة أو 71 م° لمدة 15 دقيقة وذلك كما جاء في المصدر (14) . ويعرف أيضا أنه عملية تسخين الحليب إلى درجة حرارة ولمدة كافية للقضاء على المكروبات المرضية ، وإن لا يؤدي ذلك إلى الإضرار بالخواص الحسية أو الطبيعية أو الكيميائية أو القيمة الغذائية للحليب (2) وتميل العديد من العوائل إلى التأكيد على ضرورة أن يكون الحليب من الأغذية التي تفضل أن يقتنيها الطفل عند شرائه اليومي ، وذلك لكي تضمن حصوله على غذاء مفيد ، ونظرا لإحتواء السوق على العديد والمتنوع من أنواع الحليب الخاص بالأطفال تجد العوائل الكثير من الحيرة والتردد في اختيار النوع الجيد لكي تقتنيه لأطفالها، ومن أجل الوقوف على تحقيق إجابة مسندة إلى إجراءات مختبرية لتحليل مكونات أكثر أنواع الحليب إستهلاكاً والتعرف على خواصها الصحية ومدى مطابقتها للمواصفات العراقية الخاصة بالحليب المبستر والحدود الميكروبية للحليب ومنتجاته، لكي نضع الاختيار على الجانب الآمن والسليم وهو ما هدفت إليه دراستنا الحالية.

المواد وطرائق العمل

أخذت جميع النماذج للحليب من النماذج الأكثر إستهلاكاً وذلك على وفق ما جاء في استمارات وزعت على 200 عائلة لديها أطفال بعمر (3-8 سنوات) في مدينة بغداد الكرخ / الرصافة وتفضل أن يكون من أولويات شراء أطفالها الحليب المعقم (الذي عرض لحرارة عاليه UHT بلغت 130 م°) (15). والمطعم أو الخالي من النكهة ، وبلغ مجموع الأطفال (500 طفل وطفلة) وكانت الأنواع المستهلكة وهي حسب تقصير المستهلك كما يأتي:

- 1- حليب KDD (3،2،1) منكه بالموز قليل الدسم بحجم 125 مل .
- 2- حليب Kids Judo بدون نكهة الكامل الدسم بحجم 125 مل .
- 3- صافيو بنكهة الموز الكامل الدسم بحجم 200 مل .
- 4- ملك مان حليب بالشوكولاتة قليل الدسم بحجم 200 مل .

- 5- حليب ندى بالموز قليل الدسم بحجم 125 مل
- 6- حليب بباي بنكهة الفراولة قليل الدسم بحجم 125 مل .
- 7- حليب KDD (3،2،1) الكامل الدسم بدون نكهة.
- 8- حليب سيونج بوب بنكهة الموز قليل الدسم .

وقد تم إجراء الفحوصات التالية :

- أولاً: صفات الحليب الحسية و خواصه الطبيعية وتتضمن الآتي:
- 1- الطعم والرائحة 2- اللون 3- درجة إنجماد الحليب 4- درجة غليان الحليب 5- الوزن النوعي (الجدول رقم 1).
 - ثانياً: فحوص تقويم الحليب بكتريولوجيا وتشمل :
 - 1- فحص التخثر 2- فحص الكحول 3- فحص بكتريا القولون 4- فحص البكتريا المحبة للحرارة 5- فحص البكتريا المحبة للبرودة 6- فحص البكتريا المكونة للحموضة (الجدول رقم 2).
 - ثالثاً: التركيب الكيميائي للحليب : نسبة الكالسيوم والدهن والبروتين (الجدول رقم 3).

وقد شمل الفحص المايكروبي على حضن الحليب في نفس العبوة وبالشكل الآتي :

- 1- فحص التخثر Coagulation test أخذت مجموعتين من العبوات للوجبة الواحدة ، لكل مجموعة خمسة عبوات حضنت المجموعة الأولى في الحاضنة على حرارة (55 م°) لمدة ثلاثة أيام وتمت ملاحظة تخثر الحليب أو حدوث تغيرات فيزيائية خلال هذه الفترة ، ففي حالة حدوث تخثر في أي من العبوات يعاد الفحص بعدد نماذج مضاعف من نفس الوجبة (3).
- أما الحليب المعبأ بعلب كرتونية (UHT) فقد تم حضن النموذج بحرارة (30 م°) لفترة (5-7 أيام) ثم تقدير عدد بكتيريا *Mesophile*.
- 2- فحص التخمر يعطي فكرة عن نوعية الأحياء المجهرية وذلك بالاعتماد على المظهر الخارجي للجزء المتخثر والحرارة المثالية الملائمة لتكاثر الجراثيم من نوع *E Coli* وكما يأتي:

- تتضمن طريقة العمل وضع 40 سم³ من الحليب في أنبوتي إختبار كل على حدة لفحصه ، وتغلق فوهتها بسداد قطني مناسب وتجري عملية الحضن لها لمدة 24 ساعة وعلى درجة حرارة 37 م° ، وتجري عملية الفحص بعد مرور 12 ساعة ، فالحليب الجيد النوعية لن يتخثر بعد مرور هذا الوقت (3).
- 3- فحص الكحول وأساس هذه الطريقة يعتمد على فعل الكحول بسحب الماء من الكازين حيث ترتفع قابلية التآين للمجاميع الأيونية، وطريقة العمل تتضح بالآتي:
 - تم استخدام طريقة النسب المتساوية وتتضمن أخذ أنبوبة إختبار ، وحجم معين من الحليب ونفس الحجم من الكحول الأيثلي الذي تركيزه 68% (وقد أستعمل اسم مع اسم) ويمزجان جيداً ، ويلاحظ بمساعدة الضوء الاعتيادي صفات المزيج على الجدران في الأنبوبة من الداخل عندما تكون بحالة مائلة قليلاً (4).
 - 4- فحص بكتريا القولون (*Coliform*) ، تم استخدام الوسط المغذي كرسنال الأحمر الأرجواني مع الأكاز Violet Red Bile Agar (4)، حيث لقع وسط مرق احمر المثل بجزء من المزروع البكتيري ، وحضنت الأنبوب عند درجة حرارة 37 م° لمدة 48 ساعة ، وأضيفت بضع قطرات من محلول أحمر المثل إلى الوسط ، تعد النتيجة موجبة عند ظهور اللون الأحمر (3).
 - 5- فحص البكتريا المحبة للحرارة *Thermophiles* واستخدمت طرق غير مباشرة والتي تعتمد على عدد ونوع الأحياء المجهرية المتواجدة في أنموذج الحليب والتي تطي دلالة على عمر الحليب وظروف حفظه ، وأساس هذه الطريقة هو فحص المثليين الأزرق methylene blue test ، ويعد هذا الفحص من الفحوصات السريعة والاقتصادية للتعرف على مدى تلوث الحليب الخام بالأحياء المجهرية ومدى اتباع الطرق الصحية في إنتاج الحليب إذ تسبب الاعداد الكبيرة من بكتريا *Streptococcus lactis* الاسراع من عملية اختزال لون الصبغة المستعملة ومعظم البكتريا المحبة للحرارة (5، 6).

جدول رقم (1): الصفات الحسية والخواص الطبيعية لأنواع الحليب المستخدم في عينات البحث

نوع الحليب/ الصفات والخواص الطبيعية	النكهة (الرائحة والطعم)	اللون	اتجماد الحليب	غليان الحليب	الوزن النوعي/الكثافة
ندى منكه بالموز (قليل الدسم)	مقبول	أصفر حسب نكهة الموز	0.50-	96.5	1.025
ملك مان منكه شوكلاتة (قليل الدسم)	مقبول	بنّي حسب نكهة الشوكلاتة	0.54-	97.4	1.032
بباي منكه بالفراولة (قليل الدسم)	مقبول نوعا ما	لون وردي حسب نكهة الفراولة	0.45-	100.1	1.033
سيونج يوب منكه بالموز (قليل الدسم)	مقبول نوعا ما	أصفر حسب نكهة الموز	0.45-	97.3	1.034
KDD (1، 2، 3) منكه بالموز (قليل الدسم)	مقبول جدا	أصفر حسب نكهة الموز	0.55-	94.2	1.032
KDD بدون نكهة (كامل الدسم)	مقبول جدا	أبيض	0.54-	93.3	1.027
صافيو منكه بنكهة الموز (كامل الدسم)	مقبول	أصفر حسب نكهة الموز	0.53-	100.2	1.022
Kids Judo بدون نكهة (كامل الدسم)	مقبول جدا	أبيض	0.55-	93.11	1.028

جدول رقم (2): فحوص الحليب البكتريولوجية مقدرة بوحدة CFU*

نوع الحليب / الفحوصات	بكتريا القولون	بكتريا محبة للحرارة	بكتريا محبة للبرودة	بكتريا مكونة للحموضة
حليب ندى منكه (قليل الدسم)	10×1^4	10×5.6^4	10×3^2	10×2^3
ملك مان منكه (قليل الدسم)	10×3^4	10×5.5^4	10×3^2	10×2^5
بباي منكه (قليل الدسم)	10×3^4	10×5.7^4	10×2^2	10×3^6
سيونج يوب منكه (قليل الدسم)	10×4^4	10×5.6^4	10×4^2	10×3^5
KDD (1، 2، 3) منكه قليل الدسم	10×1^4	10×5.5^4	10×3^2	10×2^3
KDD (كامل الدسم)	— **	10×4.1^4	10×1^2	—
صافيو منكه (كامل الدسم)	10×1^4	10×4.2^4	10×2^2	10×2^3
Kids Judo (كامل الدسم)	—	10×2.3^4	10×1^2	—

CFU وحدة تكوين مستعمرة

جدول رقم (3): النسب المئوية للتركيب الكيميائي للحليب

النسب المئوية للعناصر %			نوع الحليب
البروتين	الدهن	الكالسيوم	
1.5	1.1	45	ندى (قليل الدسم)
2.1	1.5	6.5	صافيو (كامل الدسم)
0.1	0.1	31	ملك مان (قليل الدسم)
0.1	0.2	26	بباي (قليل الدسم)
0.7	0.01	23	سيونج يوب (قليل الدسم)
1.5	1.7	48	KDD (1، 2، 3) قليل الدسم
1.6	1.8	50	KDD (كامل الدسم)
1.7	1.8	54	Kids Judo (كامل الدسم)

7- فحص البكتريا المكونة لحمض اللاكتيك وتتضمن طريقة العمل كما في المصدر (6).

6- فحص البكتريا المحبة للبرودة، أتبع طريقة APHA (1992) حيث استخدم وسط nutrient Agar وصب الوسط في الاطباق وترك يتصلب ثم وضع 0.1 مل من التخفيف المناسب ثم نشر على سطح الأكار بشكل جيد ثم قلبت الاطباق وحضنت في 5°م لمدة 5-7 أيام وحسبت المستعمرات النامية على الوسط (7).

النتائج والمناقشة

قبل مناقشة النتائج ينبغي التطرق إلى تعريف الحليب المبستر كما أوردته المواصفة العراقية بالرقم 608/2 وهو الحليب الذي تم تعريضه إلى درجة حرارة وزمن كافيين لقتل الاحياء المجهرية المرضية ومعظم الاحياء المجهرية الاخرى بطريقة تضمن سلامة الحليب وقميته الغذائية .

لقد بين الجدول رقم (1) نتائج الفحوصات الحسية Sensory evaluation والتي تعرف بأنها تقدير لمدى جودة الحليب ومنتجاته وتقبل المستهلك لها باستخدام الحواس البشرية ، طعم الحليب ورائحته يتميز بحلاوة خفيفة مصدرها سكر اللاكتوز وملوحة أخف غير ظاهرة مصدرها كلوريد الصوديوم ، ورائحة خفيفة جيدة غير متميزة وكل اختلاف عن طعم ورائحة الحليب الطبيعي يعد غريبا وغير مرغوب فيه (6).

وحصلت نماذج حليب على مجموع درجات التقويم كما يلي :
1. 80 – 90 مقبول جدا وتمثلت بنماذج حليب 1.2.3 KDD بنكهة الموز قليل الدسم / ونموذج Kids Judo كامل الدسم بدون نكهة.

2. 70-79 مقبول نوعا ما وتمثلت بنماذج حليب بباي بنكهة الفراولة قليل الدسم / ونموذج سيونج بوب بنكهة الموز خالي الدسم.

3. 50-59 مقبول وتمثلت بنماذج حليب ندى بنكهة الموز قليل الدسم / نموذج ملك مان بنكهة الشوكولاتة قليل الدسم / نموذج صافيو بنكهة الموز كامل الدسم.

ان النماذج التي يقتنيها الطفل من الحليب وخصوصا الشخصيات الكرتونية لا تمثل جودة انتاج بل مجرد الربح المادي بأستثمار تأثير تلك الشخصيات في الطفل من قبل الجهات المنتجة .

من ملاحظة النتائج في جدول رقم (1) نجد أنواع الحليب الخالي من الدسم أو القليل الدسم ، كثافته مرتفعة سبب ذلك كما بينه (6) يعزى إلى سحب المواد الدهنية ذات الوزن الأخف من بين مكونات الحليب وهنا نجد أن سبب أخر يضاف أيضا في النماذج السابقة نجد الأنواع المنخفضة الكثافة قد يكون سببها غش المادة الغذائية بالماء حيث تنخفض الكثافة نتيجة لذلك ، لكون الماء أقل كثافة من الحليب ، وقد صنفت أنواع الحليب حسب كثافته إلى ما يأتي:

- 1- النوع الممتاز والجيد كثافته 1.028-1.032
- 2- النوع المتوسط الكثافة 1.029-1.034 (6) وتبلغ كمية الماء المضافة (1.2%-3.6%) إذا تراوحت درجة الانجماد (-0.45م°/-0.53م°) (4).

وقد يعزى للكثافة ارتباطها بالنكهة فالأنواع القليلة الدسم كانت مقبولة نوعا ما إلى مقبولة ، وذلك يعود إلى القيمة الغذائية التي يعطيها الدسم للمادة ، إذ إن الأنواع الكاملة الدسم مقبولة بشكل كبير من النوع الآخر ، فضلا عن تقوية الحليب بإضافة بعض المغذيات يحسن من كفايته التغذوية ، وعادة ما تتم عملية التقوية بأضافة فيتامين A ، D وكذلك Y إضافة المنكهات فيعرف الحليب بالحليب المنكه Flavored Milk وهو أما يكون كامل الدسم يضاف له نكهة وسكر ، أو قليل الدسم فيسمى مشروب منكه Flavored Milk Drink والذي هو حليب منزوع الدسم أو قليل الدسم ، وهناك نوع آخر هو الحليب الشوكولاتة Chocolate Milk وهو يحتوي على 1% كالكاو و 5% سكر أو أقل من 1% مواد مثبثة (4، 10)، ونماذج النوع الأول في عينة البحث (صافيو بنكهة الموز) ونماذج النوع الثاني في عينة البحث (حليب ندى بنكهة الفراولة / بباي بنكهة الفراولة / سيونج بوب بنكهة الموز والفراولة / KDD (1، 2، 3) بنكهة الموز) ، أما حليب الشوكولاتة فكان النموذج (ملك مان) وعند أستعراض البطاقة الاعلامية ، نجد ان بعض الأنواع كانت مفقودة فيها ومنها (بباي / سيونج بوب / KDD / صافيو / ملك مان) بينما البطاقة الاعلامية كانت موجودة في نماذج (ندى / صافيو / حليب KDD كامل الدسم / Kids Judo) وتتضمن البطاقة الموجودة المعلومات الآتية:

التركيب الكيميائي للحليب ، وتضمن الآتي :

1- الكشف عن عنصر الكالسيوم الأجهزة المستخدمة :
جهاز الامتصاص الذري اللهب Atomic Absorption Flame Spectrophotometer (680A) Company Shimadzu
الغاز المستخدم في الجهاز : غاز (الاستيلين - نايتروز) طريقة تحضير النموذج حسب المصدر (8)

2- نسبة الدهن : وتستند طريقة العمل على أساس طريقة كيربر بواسطة قنينة زجاجية مدرجة تعرف بـ (Butyrometer) أي مقياس الدهن ، وحسب ما اشار اليه المصدر (4).

3- نسبة المواد البروتينية : تحسب مقدار بروتينات الحليب الكلية بطريقة (Walker الفورمالينية) وحسب المصدر (4).

الصفات الحسية والخواص الطبيعية للحليب ، وتشمل:

1- طعم ورائحة الحليب (النكهة) :وقد اعتمدت على رأي المستهلك فالحليب الطازج يكون قريبا للحلاوة ، بسبب وجود سكر اللاكتوز ، ويتأثر ذلك بوجود الاحياء المجهرية ، وكذلك بطرق الحفظ المتبعة. وتتم إضافة العديد من نكهات الفاكهة ، أما بشكل عصائر أو مستخلصات نقيه من هذه النكهات ، وبذلك يدعى الحليب المنكه (Flavored Milk). (9 ، 10)

2- لون الحليب : اللون الأبيض للحليب هو انعكاس الضوء بواسطة جسيمات الكازين الغروية المنتشرة فيه ، والحليب الاعتيادي الذي له أس هيدروجيني 6,8 يتلون بلون رمادي غامق مع محلول Mast rapid ، أما الحليب القاعدي التفاعل يتلون بلون بنفسجي غامق . والحليب الذي له أس هيدروجيني 5.2 أو أقل فإنه يتلون بلون أصفر مع المحلول (4) .

3- درجة انجماد الحليب : يتجمد الحليب بمعدل -0,55م° ويستفاد منها لمعرفة أن كان الحليب مغشوشا أم لا ، وتعتمد هذه الطريقة على إيجاد درجة انجماد الحليب باستخدام محلول ملحي متلج وإستعمال جهاز (Cryscope) بمساعدة محرار خاص Beckmann لا يوجد عليه تدرج صفر . حيث يغسل الوعاء الخاص بالجهاز عدة مرات بالحليب المراد إختياره ثم يسكب فيه حوالي 30سم³ من الحليب نفسه ، نحصل على عدة قراءات ومن ثم نأخذ المعدل (4).

4- درجة الغليان : كما هو الحال مع درجة الانجماد ، تعد من الثوابت لصفات الحليب وهي عادة تتراوح ما بين (100.17م°-100.27م°) (2، 4).

5- الوزن النوعي (الكثافة): أما أنواع الحليب المبستر فهي : 1- الحليب المبستر الكامل الدسم 2- الحليب المبستر المنزوع الدسم (القليل الدسم) 3- الحليب الفرز الخالي الدسم

أما الحليب المنكه flavored milk فقد عرفه (11) بأنه مشروب لبني يصنع من إضافة نكهات صناعية للحليب المحلي والمواد الداخلة في صناعته هي السكر بنسبة 5-7% نكهة الفاكهة بنسبة 2% ، وهذه النسب تختلف حسب تركيز النكهة ونوع المستهلك ويضاف لون مناسب للفاكهة.

وبالنسبة لحليب الشوكولاتة فقد عرفه (6) بأنه منتج الابيان المصنع من الحليب الذي يحتوي على الحد الأدنى المقبول من الدهن مضافا له مسحوق الكاكاو أو مشروبه المركز وسكر ومواد مثبثة بالنسب التي تضمن طعما وقواما مقبولين والمواد الداخلة في صناعته الكاكاو بنسبة 1% بشكل مسحوق أو بنسبة 1,5% بشكل سائل مركز والسكر بنسبة 5-7% حسب الذوق .

من يقوم بعملية الشراء والاختيار دون رقيب من الأهل، إذ تعري الطفل الصغير ألوان الأشياء وأشكالها دون وعي منه بمحتواها وفائدتها، وتشير نتائج الدراسات السابقة إلى أن الحليب يصنف إلى أصناف فيما يتعلق بالعناصر المعدنية ومنها الكالسيوم وحددت نسبته ب (58ملغم / 100سم³) ، وبذلك يمكن أن نقارن بين أفضل منتج في نسبة محتواه من الكالسيوم مع الصنف الجيد ، أما فيما يتعلق بالنسب المئوية للدهن فقد صنف الحليب إلى درجات وهي (4):

أ/ النوع A ونسبة الدهن فيه 3.2%

ب/ النوع B ونسبة الدهن فيه 2.8%

ج/ النوع C ونسبة الدهن فيه 2.6%

وتمثل النسبة غم دهن / 100غم حليب، ومن خلال مقارنة النتائج نجد أعلى النسب كانت KDD و Judo وهي بمعدل قريب من النسب المطروحة في أعلاه ، والعنصر الغذائي الآخر المهم هو البروتين والذي لا يخفى دوره الضروري في بناء خلايا الجسم ، ونموه السليم . وقد أوضحت البحوث والدراسات العلمية أن المعدل العام للبروتين هو (1.92غم) وأقرب النماذج لهذا المعدل هو : (KDD الكمال الدسم / Kids Judo كامل الدسم) أما حليب نوع بباي وسبونج بوب فكانت نسبتهما الأدنى ، فضلاً عن النقص في معلومات البطاقة (12،6).

الاستنتاجات والتوصيات

- 1-الحليب الطازج هو الأفضل للطفل شريطة ضمان خواصه الصحية السليمة.
- 2-يجب أن تتولى الأسرة عملية شراء ما يريد الطفل والابتعاد عن الحالة التي يأخذ فيها المصروف والذهاب لاقتناء ما يريد لوحده .
- 3-من الضروري أن تطلع الأسرة على بعض المفاهيم الضرورية الخاصة بالغذاء لا سيما أنواع المضافات الغذائية المسموح والممنوع منها والتعرف على أثارها الجانبية .
- 4-لا تلتزم البطاقة الإعلامية معلومات دقيقة عن محتوى المادة الغذائية من عناصر .
- 5- النوعية الميكروبية للنماذج تقع ضمن الحد المسموح به للموصفة العراقية ، إلا أن المواد الملونة المضافة لها آثار سلبية تتفاوت بين التهاب القولون وتقلص المعدة ، ووزيادة النشاط المفرط hyperactivity وكذلك نوبات ربو عند البعض ، فينبغي الألمان بالمعلومات الكافية عن المضافات الغذائية .
- 6- الحليب المحتوي على الكاكاو يثبط أمتصاص عناصر مهمة في الجسم .
- 7- ظروف العرض والخزين ولمعظم النماذج الغذائية غير مرضية ولا ترقى إلى أدنى متطلبات الحفظ الصحيح والسليم .
- 8-العمل على التوعية والثقافة الغذائية من خلال وسائل الإعلام وإقامة ورش عمل عن الوعي الغذائي لأغذية الأطفال .
- 9-توجيه المستوردين للمواد الغذائية أن يركزوا على نوع المنتج وليس ثمنه .
- 10-تحديث المواصفات المتعلقة بالغذاء بشكل خاص للوقوف على أهم المستجدات فيما يتعلق بالفحوص الخاصة بالأغذية .

1-وجود رموز المواد المضافة وهي (نموذج ملك مان / صافيو وكان : E407 كارجينان وهي مستخلص من الطحالب البحرية وهي مادة مثبته ، ومثخنة ومعلقة ، تساعد على تكوين الجل ، وتستخدم في منتجات الألبان وهي مسموح بها (11).

2-المادة E412 وهي مادة صمغية مستخلصة من بذور البازيلاء الهندية ، وهي مادة مثبته ومثخنة ، ورافعة للزوجة ومعلقة ، تستعمل في منتجات الألبان ، وهو مسموح به (11).

3-المادة E124 (نموذج سبونج بوب بنكهة الفراولة) وهي عبارة عن لون أحمر مسموح به.

والمواد السابقة الثلاثة مضافة لنماذج حليب (KDD كامل الدسم منكه / صافيو المنكه الكامل الدسم / Kids Judo) .

وبعض النماذج كانت مدعمة بفيتامين D,A وهي حليب (KDD الكامل والقليل الدسم / Kids Judo الكامل الدسم) وتبين من نتائج الجدول السابق أن درجات الانجماد أظهرت تباين في ذلك ، فالنماذج الخالية من المواد الحافظة وهي (KDD 1، 2، 3) / ملك مان (Kids Judo) وكانت مرتفعة بحسب ما جاء في دراسة (12).

وتتضمن بطاقة الدلالة للمواد الغذائية المعبأة والمعلبة كلا من (11): اسم المنتج ونوعه ، النسبة المئوية لدسم الحليب ، صافي المحتويات حجماً بالوحدات الدولية ، اسم وعنوان المنتج، تاريخ الإنتاج وتاريخ انتهاء الصلاحية ، وان تتم التعبئة للحليب المبستر بأنواعه في قناني زجاجية أو عبوات بلاستيكية من النوع الغذائي ، من النوع الكرتوني المعقم ومبطنة بمادة غير منفذة للرطوبة وان تكون الاغذية مصنوعة من رقائق الألمنيوم في حالة استعمال القناني الزجاجية (13).

يعزى انخفاض درجة الانجماد إلى احتمال زيادة في الحموضة ، وعموماً فإن المعدل العام لدرجة الانجماد (-0.55م°) ، والتغير بسبب الحموضة يخفف درجة الانجماد (0.001-0.007م°) كما أن المواد الحافظة والماء المضاف يرفع الانجماد والعلاقة من الممكن أن تبقى درجة انجماد الحليب ضمن الحدود الاعتيادية بمعادلته بالتخفيف بالماء وإضافة مواد معدلة للحموضة (4).

والصفة الأخيرة هي درجة الغليان وهي تتراوح (100.17-100.27م°) (4)، والمعدلات الخاصة بالنماذج تقع ضمن المدى (93.1-100.2)، وتلعب المكونات الموجودة في الحليب دوراً في رفع درجة الغليان ، لاسيما المواد الصلبة غير الدهنية وتلعب المعاملة الحرارية دوراً في الإسراع بالتخثر فضلاً عن عامل الحموضة المتطورة أعلى من الحد الطبيعي (6).

وقد أظهرت نتائج الجدول رقم (2) أن بكتريا القولون كانت معدومة في بعض النماذج وموجودة في نماذج أخرى ويعزى سبب ذلك إلى سوء التداول والخزن وسوء العرض ، أما البكتريا المحبة للبرودة توفر شرط الحفظ الجيد بالبرودة المطلوبة نجد أنها منعدمة ، أو قليلة المحتوى ، أما وجود البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز فإنه يسبب ارتفاع الحموضة ، ويرتبط ذلك بقيمة الأس الهيدروجيني (pH) وفي النماذج الخاصة بالبحث تراوحت بين (5- 6.9) المدى الطبيعي هو (6.6) ويزداد اقتراب الحليب من القيمة الحامضية كلما ارتفعت درجة حرارة المحيط المحفوظ فيه .

ومن الفقرات التي تضمنتها المواصفة القياسية العراقية الخاصة بالحليب المبستر (11) الناحية الصحية فقد نصت (القواعد العامة لشؤون صحة الاغذية) عند تصنيع وتداول المنتج إضافة إلى التعليمات التي تصدرها الجهات الصحية مايلي:

- 1- يكون المنتج خالي من الجراثيم المرضية .
- 2- تطابق الحدود المايكروبية للمنتج ما ورد في دليل الحدود الميكروبية المعد من قبل الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية .
- 3- لا يزيد تركيز المواد الناتجة عن الاحياء المجهرية عن الحدود المسموح بها صحياً (11).

عند التدقيق فيما ورد بالجدول رقم (3) من نتائج نجد أن نسب الكالسيوم قد تنبذت النسب بين (23- 54ملغم / 100مل) وسجلت العينة Judo النسبة الأعلى أما سبونج بوب وبباي فقد حصلت على أدنى النسب ، والملاحظ أن الأطفال يقبلون على اقتناء وشراء الحلويات والأغذية التي تظهرها شخصياتهم الكرتونية المحببة مثل سبونج بوب وبباي ، لاسيما إذا كانوا هم

المصادر

1. ساجدي ، عادل جورج. (2000). الصناعات الغذائية – الجزء الأول. الطبعة الأولى ، الدار الجامعية للنشر والترجمة، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . ص337-351.
2. الحجر اوي ، ابراهيم سالم. (1996). اللبن السائل ومنتجاته ، دار المعارف ، مصر.
3. المواصفة القياسية رقم (2270 / 5) الحدود الميكروبية في الأغذية ، الجزء الخامس ، الحدود الميكروبية للحليب ومنتجاته ، م ق ع 2270/5/2006.
4. ستانسواف ، رمارلينيكي ، يوليان كافو، وأرينا مولسكا ، ترجمة الراوي ، طازق ساكن حكيم. (1985). الطرق العملية لتحليل الحليب ومشتقاته، الطبعة الاولى ، مطابع جامعة الموصل.
5. Jack L. (1980). Laboratory microbiology. 3rd ed. Saunders Company , London.
6. محمود، ابراهيم ، منصور ، كاظمية، والي (1992). مبادئ الألبان العملي لطالبة الصف الثاني ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة البصرة ، كلية الزراعة.
7. A.P.H.A (1992). American Public Health Association . Compendium Of methods for the Microbiological Examination of food , 3rd ed . Washington , DC. New York.
8. الحافظ، علياء سعد. (2009). دراسة مسحية عن المحتوى الميكروبي والعناصر النزرة في الحليب واللبن الرائب المحلي، رسالة ماجستير ،جامعة بغداد.
9. الرجب، وفاء جاسم ، القزاز ، حسن محمد علي. (1988). أساسيات علم الاحياء المجهرية الغذائي ، دار الكتب للنشر والتوزيع ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
10. ساجدي ، عادل جورج. (2001) الصناعات الغذائية ، الجزء الثاني ، الطبعة الاولى ، الدار الجامعية للنشر والتوزيع والترجمة ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
11. المواصفة العراقية القياسية رقم 608 / 2 منتجات الالبان الحليب المبستر .
12. جعفر، عبد الله محمد. (2006). المواد الحافظة والمضافة في الصناعات الغذائية ، الطبعة الاولى ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، القاهرة ، مصر.
13. السماحي ، صلاح كامل ، شطا ، عادل ابو بكر ويوسف، خالد محمد. (2011). تكنولوجيا الأغذية ، الطبعة الاولى ، دار المسيرة للنشر والتوزيع ، عمان – الاردن.
14. الربيعي، ليث عباس. (1983). تأثير المعاملات الحرارية البسترة على نوعية وقابلية الحليب على الحفظ، رسالة ماجستير ،كلية الزراعة.
15. نجم، حسين طه. (1967). علم الألبان. مطبعة الحكومة، بغداد.

الجزور والمعاني الرمزية لمكونات المسكن البرجي في عمارة صنعاء القديمة

أحمد عبد ربه النهمي * (1)، علي حاتم جبر (2)، علاء الدين عبد المحسن شاهين (3)

قسم الهندسة المعمارية / كلية الهندسة / جامعة زمار / جمهورية اليمن * طالب دكتوراه في جامعة القاهرة (2) قسم الهندسة المعمارية / كلية الهندسة / جامعة القاهرة / جمهورية مصر العربية (3) كلية الآثار / جامعة القاهرة / جمهورية مصر العربية

الملخص باللغة العربية

تعد العمارة من أكثر المنتجات المادية تعبيراً عن تفاعل الإنسان مع بيئته ومعتقداته، وأكثرها تأكيداً على هوية المكان. وتتناول هذه الدراسة عناصر ومفردات العمارة اليمنية التقليدية، بهدف معرفة الجذور القديمة للأفكار والأسس الفلسفية التي أسست قواعد العمارة التقليدية في اليمن. وقد تشكلت منهجية البحث من خلال طرح إطار نظري لنظام المعتقدات والرموز الدينية القديمة، ومن ثم تطبيقه على العمارة اليمنية التقليدية، واتخاذ المسكن البرجي في صنعاء القديمة نموذجاً تطبيقياً. وقد خلصت الدراسة إلى معرفة جذور العناصر والمفردات المعمارية للعمارة اليمنية التقليدية، ومعرفة المعنى الذي يقف خلفها.

الكلمات المفتاحية: صنعاء القديمة، العمارة اليمنية، الديانة اليمنية القديمة، المعنى، المسكن البرجي

Roots and symbolic meanings of the elements of tower house in architecture of old Sana'a

Ahmed A. Al- Nehmi * (1), Aly H. Gabr (2) and Alaa El-Din A. Shaheen (3)

Dept. of Architecture/Faculty of Engineering / Thamar University/ Yemen * Ph.D. student / Cairo University (2) Dept. of Architecture/ Faculty of Engineering/ Cairo University/ Egypt (3) Faculty of Archaeology/ Cairo University/ Egypt

ABSTRACT

Architecture is the most physical product expressing the human interaction with the environment and beliefs, the most confirm the identity of the place. This study examines the elements of traditional Yemeni architecture, so as to know the roots and philosophical foundations that established the rules of traditional architecture in Yemen. The research methodology is formed through putting a framework for a system of beliefs and ancient symbols, and then applied to the traditional architecture of Yemen, and take tower house in Old Sana'a as a model. The study concludes to determine the roots of the elements of traditional Yemeni architecture, and learn the meaning behind them.

المقدمة

إن العمارة اليمنية التقليدية زاخرة بمجموعة من المفردات المعمارية، شكلت في مجملها لغة معمارية، و أنتجت نمطا معماريا مميزا وفريدا، اختلف عن بقية الأنماط المعمارية الأخرى. فقد حملت هذه المفردات في مضمونها مجموعة من المفاهيم المرتبطة بالعقائد الدينية القديمة؛ حيث توارثت تلك المعتقدات وانعكست على العمارة اليمنية التقليدية المتوارثة. فبعد دخول الإسلام إلى اليمن تجسدت بشكل تجريدي في ضوء تحريم العقيدة الإسلامية للتجسيد، بينما استمرت الأشكال المجردة مع بعض التحويرات التي طرأت عليها (1).

لقد تناولت بعض الدراسات والبحوث العمارة اليمنية التقليدية، حيث قام الصليحي (2) بدراسة الواجهات المعمارية اليمنية؛ لمعرفة العلاقة بين الواجهات المعمارية لمباني مدينة صنعاء والشعر، باعتبارهما مرتكزين أساسيين للتعبير عن الثقافة اليمنية، وعمل نموذج يمكن من خلاله ترتيب وتنظيم العناصر والمبادئ الأساسية لتشكيل الواجهات المعمارية، كالزناج والنيش والإيقاع وغيرها. وقام لوكوك (3) بدراسة مكونات مدينة صنعاء والمفردات المعمارية للسكن والمسجد. وقام الشيباني وآخرون (1) بتطبيق القيم والمضامين الإسلامية على المبادئ التخطيطية والتصميمية الحضرية والمعمارية لطراز صنعاء القديم؛ لقياس معاني الفكر الإسلامي، كما قاموا بدراسة التشكيل المعماري؛ لاستخلاص القيم الروحية والمضامين التشكيلية في واجهات المباني. هذا وقد سعت بعض الدراسات إلى حل مشكلة التفرغيب التي تتعرض لها العمارة اليمنية المعاصرة، حيث طرحت الباحثة العرشي (4) في اتجاه متوافق بين الأصالة والحداثة - حالة مدينة صنعاء - في محاولة لإيجاد اتجاه تقليدي بمفهوم معاصر يتوافق فيه القديم والحديث، وحاولت الباحثة تتبع المفاهيم الأساسية التي شكلت العمارة اليمنية التقليدية خلال البعد الزمني من بداية القرن السادس عشر وحتى وقتنا الحاضر، وتناولت جميل (5) في رسالتها الخصائص المعمارية والعمرانية لمدينة صنعاء القديمة، والاستفادة منها في العمارة المعاصرة.

والحقيقة، أن معظم الدراسات والبحوث السابقة، والتي قامت بدراسة العمارة اليمنية التقليدية كانت إما دراسات وصفية أو دراسات تحاول الكشف عن العلاقات الشكلية والهندسة في عناصر ومفردات الشكل الخارجي، أو التشكيل الفضائي الداخلي. ولم نجد أي دراسة تهتم بتفسير العمارة اليمنية التقليدية بمفاهيم البنية العميقة، ومحاولة الربط والتوازن بين ثنائية الروح (المعنى) والمادة (الشكل)، حيث ركزت البحوث السابقة على أحد قطبي هذه الثنائية، وقامت بدراسة العمارة اليمنية التقليدية، من خلال أشكالها وعناصرها المادية دون التطرق بشكل جدي إلى مضامينها ومعانيها.

مشكلة الدراسة

إن تغلب المفاهيم والأفكار المعاصرة على المفاهيم الفكرية والثقافية المحلية، قد أوجد عمارة يمنية حديثة ابتعدت عن مضامينها وقيمها الروحية الكامنة في بنيتها المكانية، وذلك بظهور مفردات معمارية في المباني الحديثة، وهي إما مفردات غريبة دخيلة على الثقافة اليمنية، أو مفردات يمنية قديمة استخدمت كشكل جمالي تم استعمالها من قبل المعماريين من خلال النقل والتقليد دون فهمها للأفكار الرمزية والمعاني الضمنية التي تقف وراء تلك المفردات. ويرجع ذلك إلى عدم معرفة ممارسي العمارة والنخبة بالمدلولات الرمزية لمفردات العمارة التقليدية، نتيجة عدم توفر بحوث معمارية تطرقت لموضوع الرموز في العمارة اليمنية، أو قامت بدراسة المرجعية الأساسية للرموز والأشكال التي جاءت منها. لذلك فإن المشكلة البحثية هي: "غياب فهم جذور وأصول ومعاني مفردات العمارة اليمنية التقليدية".

أهداف الدراسة

تهدف الدراسة الحالية إلى أن تكون إضافة علمية إلى محاولات فهم العمارة اليمنية التقليدية، من خلال البحث عن معاني العناصر المعمارية والأسس التصميمية التي صاغت، كما تهدف إلى الكشف عن جذور وأصول المفردات والعناصر المعمارية في العمارة اليمنية التقليدية.

الفرضية البحثية

استنادا إلى مشكلة البحث والأهداف البحثية، فإن الدراسة تفترض أن "المفردات والعناصر المعمارية الموجودة في العمارة اليمنية التقليدية، هي رموز متوارثة تحمل معاني دينية جاءت أصولها من المعتقد والفكر الديني لليمن القديم".

منهجية الدراسة

تباينت الآراء السابقة حول أهم منهج يمكن استخدامه في دراسة العمران التقليدي والتاريخي، فظهر عدد من المناهج البحثية كان أبرزها: المنهج التاريخي والمنهج التقليدي، والفرق يكمن في أن الأول يركز على الإطار الزمني والعوامل السياسية التي أثرت على العمارة، فيما يركز الثاني على دراسة الأنساق الثقافية والعقائدية التي كانت المحرك الأساسي في حياة المجتمع ونتائجها البنائي، وهي المفاهيم والقيم التي صاغت أشكاله ورموزه (6). وكون الدراسة الحالية ستركز على دراسة العمارة اليمنية التقليدية؛ بهدف تتبع أصول المفردات والعناصر التقليدية والمعاني التي تقف خلفها، لذا ينبغي علينا اعتماد المنهج التقليدي. وحيث أن المعتقدات هي التي أعطت العمارة نظامها القيمي عبر مجموعة من الرموز، لذا يتطلب الأمر استعراض النظام العقائدي والرمزي لليمن القديم. ومن ثم تطبيقه على العمارة اليمنية التقليدية، واتخاذ المسكن البرجي في صنعاء القديمة نموذجا تطبيقيا.

النظم العقائدية والرمزية

من أكثر المظاهر بروزا في الفترة التي سبقت التاريخ المدون في اليمن، هي تقديس الأحجار والنصب. وعبادة الحجر لدى اليمنيين القدماء مرتبطة بالاعتقاد في حلول الروح والمعبود فيه (7). وقد كان الاعتقاد بأن المعبودات تسكنها وتستقر فيها، واعتبروا المنطقة المحيطة بكاملها مقدسة تقام فيها العبادات والطقوس (8). وقد قُدمت الجبال والأماكن المرتفعة والعالية في اليمن واستمر ذلك حتى العصور التاريخية، كما تم تقديس آلهة الخصوبة وآلهة الأمومة في هذه الفترة (9)، وقد تم تمثيل معبودات لها علاقة بالخصوبة في أشكال نحتية ذكرية وأنثوية وجدت في صبر وخولان الطيال تعود إلى الألف الثالثة والثانية ق.م (10). وفي الفترات التاريخية (بداية الألف الأول ق.م) تشكلت الديانة اليمنية على أساس ثلاث آلهة رئيسة هي القمر والشمس والزهرة (11)، وكان القمر الإله الحامي للشعب، وإله الخصب، والأب الذي ينتسب إليه الملك والشعب وتربطهم رابطة الدم فسمي الملك بالمكرب؛ أي المقرب إلى الإله، والشمس هي الأم الحامية والراعية للأسرة وهي إلهة الخصب الزراعي، والزهرة الابن الذي يسمى (عثر) وهو إله الحماية للمنشآت والمباني والمقابر. ولأجل توطيد الصلة بين العبد والإله أقيمت الطقوس والشعائر، ومن أول الطقوس ظهورا في اليمن القديم هي الطواف حول حجر أو مكان مقدس (9)، وفي الفترة التاريخية تحددت الطقوس نتيجة لتطور نظم الديانة والمعتقدات، فظهرت طقوس الصيد المقدس، والحج القومي، وشعائر الاستسقاء، وحرق البخور، والطهارة، والاعتراف العلني بالذنوب.

وقد لجأ اليمنيون القدماء إلى الرموز كوسيلة للتقرب للمعني من الآلهة، فكان الثور وخصوصاً رأس الثور، وكذلك الوعل والنعيس والأفعى رموزا للقمر، ورُمز للشمس بالأسد والنسر والحصان (12)، فيما رُمز للزهرة "عثر" بالوعل (13). وجاءت النخلة من

1- الجذور الأولى للنمط البرجي:

في الحقيقة، إن لكل منتج بناي عريق جذورا تمثل اللبنة الأولى فيطور منها حتى يصل إلى نموذج مثال بطيخ الإنسان في أكثر من مستوى. ومحاولة لمعرفة الجذور الأولى للنمط البرجي، ومعرفة الأسس الفكرية التي صاغته وشكلته. فقد أشار عدد من الباحثين إلى أن أبراج المراقبة (النوبة) هي النموذج الأول للبناء البرجي، فيما يعتقد آخرون بأن بدايته تعود إلى القرون الميلادية الأولى، حيث كان قصر غمدان هو النموذج الأول للنمط البرجي (20). وهذا لا يتفق مع ما كشفت عنه البعثات الأثرية في عدد من المناطق اليمنية، والتي تؤكد وجود هذا النمط منذ الألف الأول ق.م (21). وما قصر غمدان إلا حصيلة مسيرة تطويرية تبلورت مع الزمن لينتج ما يمكن أن نطلق عليه نسخة لنموذج مثالي. إن تطور هذه الأشكال إلى أشكال أكثر ملائمة للبيئة وتطويعها لخدمة الإنسان، كان له دوافع رمزية لتشكل وسيلة جماعية أكثر فاعلية في نقل الرسائل الدينية التي تحمل معاني يدرجها كافة أفراد المجتمع. فلو نظرنا إلى شكل البناء البرجي في الجبال، ومدى تشابهه مع أشكال النصب "القيف"، التي كانت تتموضع في الجبال والأماكن البعيدة عن السكان، والتي تحمل معاني الإحاطة والحراسة والحماية للحدود (12)، فالدرج (القطب) الذي يرتكز عليه فكرة النظام البرجي ونظامه الإنشائي يشبه النصب، والحركة حول الدرج (القطب) بشكل دائري تشبه طقوس الطواف. ومن ناحية أخرى، فقد قارن أحد الباحثين بين مساقط المعابد والمسكن والمقابر فوجدها تتشابه من ناحية الشكل والتفاصيل مع بعض الحالات التي استبدلت فيها الأعمدة في صالة المعبد بقواطع في المسكن والمقابر، مما يوحي بوجود نموذجاً معمارياً واحداً استخدمه اليمنيون، ثم تم تحويله على حسب الوظائف (22). وقد أخذ الشكل الرأسي للمسكن من المبخار فجاء مكعباً في حجمه، وهذا النوع من المبخار يتشكل من هرم مقطوع يعوله شكلاً مكعباً، جاء نموذجاً متطوراً لأشكال القياف (12). ومن الملاحظ أن الجزء المكعب الأعلى في المبخرة يشبه النوافذ المتدرجة والمرتدة، مما يؤكد ارتباطهما، وأن استعارة أشكالها لم يكن اعتباطياً بل جاء ليعكس مفاهيم رمزية لمنتجات فنية جاءت تجسيدا لمعتقدات يمنية قديمة (الشكل رقم 1).



الشكل رقم (1): تشابه شكلي بين المبخرة القديمة ومسكن برجي (نوبة)

ومما يؤكد ذلك أن بعض الكتاب قد فسر الشكل المكعب للمكعب "بمنزلة امتداد للمكعب الحجري الذي كان يمثل الألوهة" قبل الإسلام (17)، وأن عمودية المبنى البرجي قد جاءت نتيجة مفاهيم فكرية أنتجها أصحاب فكر يتسم بعموديته وتوجهه إلى السماء حيث يتواجد الإله والأب السماوي الذي ينتسب إليه الشعب. فقد كان نتاج المجتمع الفكري متجهاً بشكل عمودي، حتى إن بعض الكتاب قد شبه الخط المسند بالعمارة اليمنية فقال "الخط المسند يميل إلى رسم الحروف رسماً دقيقاً مستقيماً على هيئة الأعمدة. فالحروف عندهم على شكل العمارة التي تستند إلى أعمدة. وعلى العموم فإن حضارة جنوب بلاد العرب عقلية تنحو نحو الأعمدة في عمارة القصور والمعابد والأسوار والسود وأبواب المدن"، وهذا الرأي

الشجر المبارك، وكانت رمزا للشمس، وسعفا رمزا لأشعة الشمس (14)، وأغصان الكروم رمزا لآلهة الكروم ولآلهة الشمس في اليمن القديم (15)، والهلال رمزا للقمر والقرص رمزا للشمس، وكان القرص والهلال معا رمزا لعنتر (16)، ورموز أخرى مجردة كاسم عنتر كتابيا (13).

وانتشرت اعتقادات كثيرة حول الجن فكانوا يعتقدون أن التنظيم الاجتماعي للجن منسوخ عن التنظيم لدى العرب، بحيث يتوزعون في عشائر وقبائل لها ملوكها وساداتها، ولهم معاهدات وتحالفات مثلهم مثل البشر (17). وإن الاعتقاد بوجود قوى خفية تؤثر في الإنسان سواء بالسحر والعين، حملهم على العمل لاتخاذ وسائل للتغلب على تلك القوى، فقد كانت تستخدم التماثيل والتعاويذ المصنوعة من الفضة ومن الأحجار والخشب، وتحمل هذه التماثيل رموزاً مثل: (ود أب، ود الحامي) وتعاويذ ضد عين الحسد التي تسمى في النقوش (ش ص ي)، وأحيانا يد من البرونز للحماية بواسطة تآلب ريام (7)، أو رسم كفوف آدمية بأصابع على المخريشات الصخرية كوسيلة لدفع العين الشريرة، وحرق البخور واللبان التي لا تزال النساء تحرقها كل صباح لطرد الشياطين والأرواح الشريرة (18). كما يعتقدون في تأثير النجوم والكواكب على حياتهم فهم يميلون لمعرفة طبائعها، فإذا أرادوا الغزو تخيروا الأوقات والطوالع المشاكلة لمواليدهم (19). وكانت نظرتهم إلى المكان نظرة تقديسية تعتمد على عدم تجانس الفضاء واحتواءه على قسمين هما: جزء مدنس وآخر مقدس، فالمدنس تسكنه الأرواح والجن. بينما تسكن الآلهة المكان المقدس. والمكان المقدس يتدرج ليبدأ من المركز الذي يكون المقدس بامتياز والذي فيه يتجلى الإله ويسكنه، ثم يأتي الحرم أو المحرم ثم الحمى الذي يطوق المكان المقدس ويحدد معالمه (9). وقد تم تجسيده في بناء المعبد اليمني القديم حيث أخذ المذبح المركز (المقدس) وأخذ المعبد الحرم أو المحرم وحدد السور معالم الحمى. ويمثل المركز المكان الذي يسكنه المقدس (الإله) ويكون أما قدس الأقداس في المعبد أو المعبد في المدينة، والحرم هو الحدود المقامة بين المقدس والمدنس (17)، والحرم أو المحرم عبارة عن مساحة كبيرة من الأرض يمتلكها الإله أو يقيم المجتمع على قدسيته وتخصص للإله، وهذه المساحة لها حدود معينة تفصل بينها وبين الأراضي العادية. والحمى هو مجال وهمي من الأرض يحمي ويطوق الحرم، ويعرف الحمى في نقوش المسند بلطف (محميت) و(محميم) ومعناها الأرض المحمية، والحمى هو المحجر (14)، وفسرت لفظة "حجر" في النقوش بمعنى "حماية بطلسم أو تعويذة"، والحجر في اللغة يعني المنع والحماية (19).

عمارة صنعاء: المبنى السكني البرجي

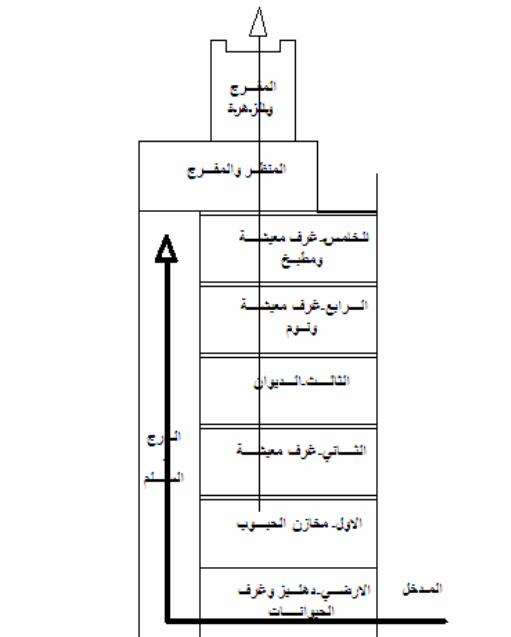
جاء اختيار المسكن البرجي في صنعاء القديمة كنموذج للتطبيق؛ كونه سائداً في اليمن ككل، ولكونه نظام تقليدي متوارث ذو جذور قديمة يخدم هدف دراستنا. ويمثل النمط البرجي للمسكن في اليمن، نظاماً سائداً في جميع المناطق باستثناء المناطق الساحلية الغربية. ويرتبط السكن البرجي بثلاثة مفاهيم: المفهوم الأمني لمجابهة هجمات الأعداء والنهب؛ والمفهوم الاقتصادي باستغلال مساحة الأرض المحدودة؛ والمفهوم الاجتماعي بفصل الطوائف المخصصة للعائلة عن أماكن الضيوف، والاستجابة للتوسعات الأسرية المستقبلية (20). وعند البحث في معاني المسكن لغوياً، نجد أنه جاء في النقوش المسندية باسم "بيت" وهو ذات الاسم الذي أطلق على المعبد قديماً ويحمل معنى الحرم والقدسية، ولهذا الاسم دلالات ومعاني لدى عرب الجنوب (اليمن)، حيث يدل مفهومه في الأصل على معاني الحرم والإجلال والحماية (7). ويسمى المسكن بالدار من الفعل "دار" والذي يشير إلى الدوران، وذلك انعكاساً لطقوس الطواف. كما يوحي إلى شكل الحركة، حيث يتم الصعود للأدوار بالدوران والحركة في الدرج (السلم) حول القطب.

3- مسقط السكن البرجي الصناعي:

سادَ التخطيط قائم الزاوية-المربع والمستطيل- في أغلب مساقط المنازل الصناعية، حيث مثل الشكل المستطيل والمربع نمطا عاما لمساقط المساكن في صنعاء القديمة. ولهذه الأشكال دلالات ومعاني، فهي أشكال تتميز بالاستقرار والتوازن والثبات وتشكل تماثلا رباعيا يعطي إحساسا بالمركزية عند النقطة الوسطية التي يتقاطع عندها أقطار الشكل. إن سيادة المسقط المربع والمستطيل على مستوى المدينة، جاء ليكرر نموذج أمثل تكرر قديما في جميع أنواع العمران الديني والمدني. وفي اعتقادنا فإن مسقط المسكن ما هو إلا تكرار لمسقط المعبد، فقد أخذ الدهليز (صالة المدخل) مكان المحور الوهمي الذي يربط البوابة بقدس الأقداس، وبقيت البوابة لنفس الوظيفة، فيما احتل الدرج (القطب) مكان قدس الأقداس. وبذلك فقد أصبح هذا النوع من الأشكال مقدسا، نتيجة استنساخ شكلا مقدسا (المعبد) الذي هو صورة للعالم (24)، ومنها جاءت فكرة مسقط النمط البرجي انعكاسا للمعتقد اليمني القديم، والذي بدوره انعكس على مساقط المعبد، ثم انتقل إلى مساقط المساكن، حيث أخذ الممر الذي تتوزع على جانبيه الغرف من المحور الأفقي الذي يربط البوابة بقدس الأقداس، وحل المحور الرأسي (الدرج والقطب) وكذلك تعدد الطوابق باتجاه السماء محل المحور العمودي الذي يربط المركز (المذبح) مع السماء.

4- التنظيم الوظيفي للمسكن البرجي:

صنمت المساكن في صنعاء القديمة على أساس وظيفي رأسي بشكل أدوار (طبقات)، بحيث يخصص الدور الأرضي كأماكن فراغية للحيوانات ومخازن، والدور الأول للحبوب والغلال، ثم تأتي غرفة الاستقبال (الديوان) الخاصة بالضيوف، تليها غرف النوم ثم طابق الخدمات المحتوي على المطبخ وغرف المعيشة، وفي أعلى المسكن يوجد غرف تسمى المنظر والمفرج، وبهذا التوزيع انعكس التنظيم الاجتماعي والطبقية على الفراغ بشكل عمودي بزيادة الارتفاع (الشكل رقم 3). ويحمل هذا الأسلوب من التنظيم دلالات ومعاني مرتبطة بالمفاهيم والرؤى الدينية القديمة، فالثلاثية في العالم (الرجل والمرأة) والمفاهيم المرتبطة بالإحاطة للحمى والحد الفاصل بين مكانين مختلفين، كل ذلك انعكس بدوره على التصميم الوظيفي للمسكن فتم الفصل بين أماكن الرجال والنساء من خلال توزيع الأدوار رأسيا، فكل دور خصص لوظيفة يتحكم فيه باب.



الشكل رقم (3): التنظيم الفراغي والحركي للمسكن البرجي في صنعاء (الباحث)

يتفق مع (لينزبارسكي) "إن أشار إلى أثر العمارة والأعمدة في شكل هندسة حروف الخط المسند" (14). وللمعتقد الديني اليمني القديم وعلاقته بالنظام النجمي والكوكبي دوراً في شكل البناء البرجي. فمن حيث الدلالة في لفظ "البرج" وجمعها "البروج" يذكر الطبري أن البروج تعني الكواكب والنجوم ومنازل الشمس والقمر، ويضيف بأن "البروج" جمع "برج" وهي المساكن التي تتخذ عالية ومرتفعة عن الأرض، ومنها قوله تعالى "ولو كنتم في بروج مشيدة"، أي المنازل العالية في السماء (14)، لذا فقد مثل هذا النمط البنائي أهم إفرازات الفكر الديني لليمن القديم، حيث استمر المجتمع اليمني يحاكي أشكال المباني وموائد القرابين ويقدم الجبال والمرتفعات.

2- المادة والروح في الشكل للنمط البرجي:

تؤثر الكتلة للمبنى البرجي بشكلها وهيئتها بشكل عاطفي وروحي يسمو إلى السماء، فالندرج المتناقص بالارتفاع، وميل جدران الكتلة على مستوى الواجهة قليلاً إلى الداخل وتصادياً نحو الأعلى، وكتلة المفرج التي حولت الكتلة في قمته إلى جزء مدبب يشير إلى السماء، مما جعل الإنسان يسمو بنظره وروحه إلى أعلى (الشكل رقم 2).



الشكل رقم (2): منظر لمسكن برجي يوضح التدرج الكتلي والتشكيلي للأعلى (الباحث)

وجاء التتابع الشكلي للأعلى ليحقق معاني روحية لا متناهية تدعو المشاهد إلى البعد اللامحدود بتشكيل يجعل الشعور يتجه نحو الإله في السماء. وانعكس المعتقد اليمني القديم المتمثل بالقرابة بين الشعب والأب السماوي (الإله) على الفكر المعماري فحاول اليمني التقرب بالبناء رأسياً (متعدد الأدوار) وعزز ذلك بكتلة صغيرة في الأعلى، فيبدو المبنى مرتبطاً يسمو عالياً في السماء، فقال الهمداني عن قصر غمدان "حتى تبوأ غمدان وشيدها...عشرين سقفاً يناجي النجم عاليها*فإن تكون جنة الفردوس عالية...فوق السماء فغمدان يحاذيها" (23).

تفصل بين فضاءين باعتبار الشارع (المدنس) وداخل المسكن (المقدس)، وباب الحوي يمثل الحدود النهائية للمكان المقدس.

6-2: **بئر الماء (المنزعة):** يوجد في أغلب مساكن صنعاء القديمة آبار للمياه، فعادة ما توجد هذه الآبار في الطابق الأرضي، وفي اتجاه أماكن الطبخ والحمامات، ووظيفة هذه الآبار هي إمداد المبنى بالماء. وتاريخ الآبار التي تحفر في المساكن قديم، فتروي لنا الأخبار، أنه حين بُني قصر غمدان حُفرت بئرُه بعد البناء (23)، وفي المعابد ومنها: معبد بران الذي تقع بئرُه في قلب الفناء مما يؤكد تأصل جذور هذه التقاليد. والماء من أساسيات الحياة الضرورية، فيجوده تقام الحياة وتزدهر، والماء أحد مكونات الثالوث الطبيعي المقدس (الماء، الحجر، الشجرة) للتجلي الإلهي (26).

6-3: **مدخل المسكن البرجي:** يمثل المدخل أهم عنصر تشكيلي في واجهات المساكن الصنعائية، حيث يقع على محور الواجهة، فيعطي شعوراً بأهميته، ويتم إبرازه من خلال التصميم العام والتقسيلي. وصُممت المداخل من جزئين هما: الباب المفرغ نفسه، والجزء الوهمي الذي يعلوه عقد نصف دائري بداخله مجموعة من الفتحات الصغيرة للتهوية والإضاءة (الشكل رقم 5). ويعتبر المدخل بوصفه العنصر الأكثر تميزاً في تصميمه وفي حجم المعالجات والكثافة الزخرفية التي تعطيه أكثر تعبيراً وترميزاً، الفاصل الذي يتطلب عند عبوره نوع من السلوكيات التي تعطي هذا الموضع مكانته.

فالمعتقد الشعبي اليمني مليء بالسلوكيات التي تجرى عند عبور هذا النقطة، فيعد البناء قد تدبج عنده شاه، وعند العبور عليه يتم ذكر أدعية لإبعاد كل كائن غير خير. وحين تدخل العروسة بيتها الجديد تكسر البيض وتدوس على الجنينة (خناجر الرجال) وذلك من باب دور الزوج والخصوبة (27).



الشكل رقم (5): الجزء النافذ والكاذب للباب وعلى الجزء الكاذب نوافذ (الباحث)

5- أسلوب وتقنية بناء المسكن البرجي:

يمتلك معمار مدينة صنعاء تقنية بناء جاءت لتلبي متطلبات النظام البرجي، بحيث يُبنى أساس المسكن بصخور بازلتية، ثم تُبنى من فوقها بالأحجار الصفراء حتى الدور الثالث، ثم تُبنى بالأجر (الياجور). وبذلك فقد عبّر المبنى البرجي عن حقيقة الإنشائية وأعطى نوعاً من الإبهار، فالحوائط الحجرية في الأسفل وخلو الواجهة من النوافذ جعل المبنى يبدو كحصن منيع. كما حملت ألوان المواد البنائية المستخدمة عدد من المعاني، فالأسود في الأسفل يرمز إلى لون الجبال، يليه الأصفر والبيج لون التربة والأرض فيرمز إلى الأرض وأصل خلق الإنسان، ثم يأتي البني المحمر ليرمز إلى طقس الذبح، وتُطلّى وتحدد عناصر الواجهة بالأبيض رمزاً للصفاء ورمزاً للمعبود القمر. وبهذا المزج في الألوان أُكسبت واجهات المباني توافقاً مع البيئة المحيطة والمعتقدات القديمة.

كما بُنيت الجدران بميل بسيط إلى الداخل مع ارتفاع البناء، وهو تطور لنمط البناء السبئي المتدرج الذي نتراجع فيه المداميك للخلف مع الارتفاع (25)، ويظهر هذا الأسلوب في الأبنية القديمة في الجهة الشرقية لمدينة صنعاء (الشكل رقم 4). وحسب وصف الهمداني بأن البناء كان من الأسفل بأحجار جروب وفي الأعلى بأحجار رخام (23)، وعليه فإن التدرج والتراجع للخلف هو في أسفل البناء فيما يسمى جروب. وكلمة "جروب" جاءت من أصل كلمة "جربة" بمعنى المدرجات الزراعية التي تقام على الجبال (14)، لذا جاء هذا التدرج والتراجع في البناء محاكياً للمدرجات الزراعية والجبال. حيث تطورت هذه التقنيات البنائية، وانتقلت بطريقة التقليد المتوارث مُحملة بمعانيها الرمزية للجبال المقدسة، ودورها في الاعتقاد بالصعود إلى السماء والتقرب من الإله. وفضلاً عن الغرض الإنشائي لميل الجدران الخارجية للبناء للداخل، فلها غرض جمالي يُعنى بالإدراك البصري في تصحيح المد البصري لاستقرار الاستقامة للخطوط الرأسية (1).



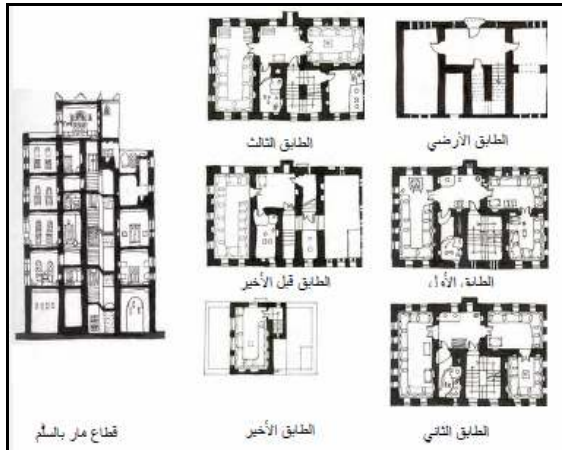
الشكل رقم (4): تدرج وتراجع المداميك في مسكن برجي في صنعاء القديمة (الباحث)

6- المعنى الرمزي لعناصر التشكيل الفضائي:

جاء كل عنصر معماري محملاً بمعاني رمزية لقيم ومفاهيم عقائدية ترجع جذورها إلى فترة ما قبل الإسلام في اليمن. ولذلك سوف يتم تحليل وقراءة كل عنصر بمفرده ابتداءً من الخارج، وانتقالاً إلى الداخل.

6-1: **مدخل وفناء الحوش (الحوي):** تتباين الارتدادات الكتلية لمباني صنعاء القديمة، فالبعض منها يشرف على الشارع الرئيس، والبعض الآخر يُشرف الحوش (الحوي) على الشارع الرئيس. والحوي في بعض مساكن صنعاء عبارة عن فناء مكشوف له دور تهيئة نقل الحركة من الخارج إلى الداخل، ويستخدم لبعض الأنشطة، بحيث يؤمن الخصوصية لساكني المنزل. ويعكس هذا الفضاء السور الذي يحدد حدود الحمى وهو بذلك يرمز إلى التدرج في قيمة وأهمية المكان في المعتقد القديم، فيحدد المرحلة التي

في نقل وتهئية الشخص من جو الحياة الصاخبة في الشارع إلى الفضاء الداخلي المليء بالسكون والهدوء. كما أن تصميم المسكن كنموذج ثابت في عمارة اليمن القديم قد احتوى على ممر وسطي يربط البوابة بالسلم وتتوزع على جانبية غرف. وهذا النموذج جاء ليكرر تصميم المعبد الذي يتوسطه فناء سماوي يربط المدخل بالمقدس. وبالمقارنة فقد أخذ الدهليز الذي يربط المدخل بالسلم (القطب) مكان المحور الوهمي الذي يربط البوابة بالمقدس في المعبد والذي أصبح بدوره يربط المقدس مع السماء. وهذا الفضاء غالبا ما يرتفع دورين، جاء في إطار محاولة من المعمار اليمني لتجسيد الفناء السماوي للمعبد، إلا أنه نظرا لتصميم المسكن البرجي الذي تقيده السقوف المتكررة لمحاولة إيجاد فضاء سماوي مفتوح، فقد جاء التصميم ليأخذ دورين في محاولة للتعبير عن هذا الفضاء بشكل رمزي.

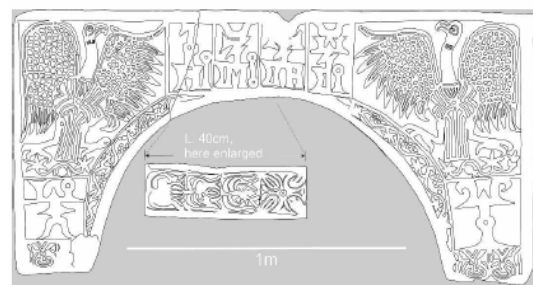


الشكل رقم (7): مساقط ومقطع لأحد المسكن البرجية في صنعاء (34)

6-5-: السلم- بيت الدرج (القطب): السلم هو عنصر الحركة الرأسية في المسكن البرجي، والنواة المركزية لربط وظائفه. والقطب هو أساس المبنى الإنشائي، ومحور حركته الروحية، فيقال "إذا خرب القطب انهار الدار" (1)، وغالبا ما يقع بيت الدرج في الجهة الشمالية، ويتم إضاءته بفتحات صغيرة متجمعة. وأحيانا يفصل بين الدرج والدهليز باب يسمى باب الدهليز الداخلي (27)، وقد يكون للمبنى البرجي سلم واحد أو أكثر من سلم. ويمثل السلم في عمارة صنعاء العمود المركزي الداعم لبنية المسكن، وهو بذلك يشبه العمود الكوني الذي يدعم السماء، والعمود الواصل بين الأرض والسماء. ولهذا المحور أصولا ترجع بجذورها إلى العمود الحجري (القيف)، الذي كان يحدد المركز؛ أي مكان تجلي المقدس في معتقد اليمن القديم. وقد انتقل فيما بعد إلى تصميم المعابد ليتماثل بالمذبح، الذي يربط الأرض بالسماء.

6-6- الحجرة (صالة التوزيع الأفقية): الحجرة فضاء وسطي يوجد في جميع طوابق المبنى، بحيث يتصل ببيت الدرج ويسمى (مكان الوسط). وظيفته الرئيسية توزيع الحركة أفقيا بين فضاءات كل طابق، كما يمثل فضاء وسطيا يحول بين الفضاء ذو الاستخدام العام (الدرج) وبين الفضاء ذو الاستخدام الخاص (غرف النوم وفراغات النساء)، حيث يتم الفصل بينهما بباب يسمى باب الحاجز. ويوحى لنا دلالة الاسم "حجرة" الذي يأتي من الفعل "حجر" بعض المعاني الرمزية المتمثلة في الحجر والمنع والحجز والتحرير على اجتياز المكان أو التعدي على حرمة الفضاءات التي تليه (27). وهذا الفضاء يُمثل منطقة فصل (حد) لها حدود محددة بباب الحاجز، وبذلك يمثل الحد بين العام والخاص، وبالمقارنة فالمدخل الخارجي يحدد معالم الحرم، فيما تحدد الحجرة المقدس في قدسية المكان، على اعتبار أن غرف النوم أماكن محرمة على الغرب فلا يمكن تجاوزها.

وللباب عتبة سفلية من حجر البازلت من قطعة واحدة تسمى (المعقم) والمثل يقول (نصف الطريق معقم الباب)، وتكون هذه العتبة مرتفعة يصعد لها بدرجة أو عدد من الدرجات، وبذلك فهي ترمز إلى الصعود إلى الأعلى. وعملية رفع مستواها عن الفضاءين الخارجي والداخلي جاء انعكاسا لمعتقد اليمن القديم حول تحديد حدود الفضاء المقدس بحيث يحدد حدود الفراغ المقدس (الداخل) والحد الفاصل بين العام والخاص. كما يوجد للباب عتبة علوية قد تكون مستقيمة أو معقودة، ولهذه العتبة في معتقد اليمن قوى تحميها ضد أي قوى شريرة، فتمتة نقش يعود تاريخه إلى نهاية القرن الرابع ق.م، كان على حجر تمثل عتبة باب البيت ميفعم، ووضعه على عتبة الباب كان بغرض حماية البيت ومباركته، ومنع دخول الشر لمسكنهم، ويوثق بناء وتملكه بأمر الإله أنثي، وأنهما عهدا حماية البيت للآلهة عم وأنثي وذات رحبان (28). وفي الفترة الحميرية كانت عقود الأبواب تحتوي على نسور ناشرة أجنحتها في وضع متقابل لحماية المدخل (الشكل رقم 6). ولا تزال هذه الاعتقادات موجودة حتى اليوم، فيتم نقش تعاويذ أو تكتب عبارات تصرف الشياطين منها "أعوذ بالله من الشيطان الرجيم، وما شاء الله" وعبارات "قف على باب كريم كلما طرق الطارق بالخير فتح، وأدخلها بسلام آمين" وعبارات شيعية مثل "الخمس أطفئ بهم نار الجحيم الحاطمة* المصطفى والمرضى وبنبيهما والفاطمة" (29).



الشكل رقم 6: عقد حجري لباب علي جانيه نسور - مصنعة مارية (32).

وتبدو مداخل المساكن في صنعاء القديمة من الشارع ضخمة، ولكن سرعان ما يتضيق للزائر ضيق وتقلص المدخل حين يعبر خلالها. جاءت هذه الضخامة نتيجة احتواء المدخل على إطار مستطيل يعلوه عتبة مستقيمة أو معقودة، ثم عقد وهمي (كاذب) مرتفع، ويُغلق الجزء المستطيل بباب خشبي يفتح من خلاله باب ضيق فقط، فيبدو الباب للمشاهد شبيه بالكوكة التي يتم عبورها بقدر من الجهد. وبفضل عناصر المدخل التشكيلية المادية والرمزية تحول الباب إلى نظام دلالي. فتشكل المدخل من جزء نافذ وجزء وهمي (كاذب). فالجزء الوهمي يشير إلى النوافذ الوهمية القديمة (25)، التي تعبر عن العبور بالبصير وعبور الروح، فالجزء النافذ للبشر والجزء الوهمي لعبور الإله وحلول بركته على المسكن وساكنيه. ويحتوي المدخل على عدد من النوافذ الصغيرة، عادة تكون ستة نوافذ مكونة من ثلاث تعلوها ثلاث، تعبر عن الثالوث الإلهي القديم، وتكرر نسخها يعطي تشديد أكثر. كما ترمز هذه الفتحات عند تجمعها إلى الثريا التي تتشكل من ستة نجوم فقال المبرد "إذا ما الثريا في السماء تعرضت* يراها حديد العين ستة أنجم" (31). وظهرت النقاط الست في الألف الأول ق.م حيث رجح بعض الباحثين رمزيتها للإلهة الشمس ذات حميم (12).

4-6- الدهليز (الصالة): يفتح باب المسكن البرجي الصنعاني على الدهليز (الصالة) الذي يربط المدخل مع السلم (بيت الدرج)، وتتوزع على جانبيه فضاءات تستخدم لأغراض خدمية واقتصادية (الشكل رقم 7). وفي بعض الأحيان تكون الصالة بارتفاع دورين لتشمل الطابق الأرضي والأول، يحمل سقفها عقودا حجرية كبيرة، وتطغى على الفضاء الظلمة إلا ما سمح به الباب والفتحات التي تعلوه من إدخال الضوء. والضوء الخافت في الدهليز يلعب دورا

شربها... وبرأسه من فوق ذلك منظر" (23). ومن المنظر يأتي النظر، وهذا يحمل دلالات ليس فقط حول الاستمتاع بمنظر الطبيعة بل يحمل دلالات روحية ودينية مرتبطة بالمكان الذي يكون منه النظر والتوجه إلى الإله في السماء. أما الزهرة فهي غرفة صغيرة تسمى (الطيرمانة)، وسميت كذلك لكونها مرتفعة وتحكي كوكب الزهرة في السماء. واسمها يذكرنا بالمعبود الرئيس لليمن القديم الزهرة "عنتر" الذي غطت عبادته جميع أراضي جنوب غرب الجزيرة العربية، فكان الإله الحامي للمنشآت والمدن، وإله السقي والمطر. ووقوفها في أعلى جزء من المبنى يقوي ويعزز المحور العمودي، إضافة إلى حجم الفضاءات وارتدادها مع الارتفاع مما يجبر الناظر على التوجه بنظره للسماء (الشكل رقم 8).



الشكل رقم (8): منظور لأحد مباني صنعاء يظهر أعلاه المفرج والمنظر والزهرة (الباحث)

7- عناصر تشكيل وإجهات المساكن:

امتازت عمارة المسكن الصنعائي بعناصر ومفردات تشكيلية غاية في الروعة، اشتركت جميعها في وحدة الروح الكامنة وراء تكويناتها المعمارية وتشكيلاتها الزخرفية التي أصبحت تقليداً يتوارثه الأجيال. فتنشكّل الواجهة من الفتحات بنوعها النافذ والمصمت، والزخارف الأفقية والعمودية، سواء كانت من استخدام مادة البناء أو مادة مضافة. وتتميز الواجهة بالفتحات التي تعطيها نوعاً من الثراء الفني والتشكيلي.

طرح الشيباني وآخرون (1) فكرة أصول المفردات التشكيلية في عمارة صنعاء، حيث أشاروا إلى أن المعماري اليمني القديم اتجه إلى محاكاة الأشكال الواقعية قبل الإسلام، وأتجه المعماري إلى التجريد بعد الإسلام لتتحول إلى دلالات رمزية. وكان للدين الإسلامي دوراً في نبذ فكرة التجسيد من خلال الصور والتمائيل، لذلك فقد عمد المعماري اليمني إلى تجريد الرموز الحيوانية والإبقاء على الرموز النباتية والهندسية. وعرض الباحثون مجموعة من مفردات العناصر التي اعتبروها رموزاً منها: رمز رأس الوعل والذي يأتي في الأشرطة والأحزمة الزخرفية، بالإضافة لرمزية جسم الثعابين المنفردة والمتنوعة والمتداخلة، والمفردات التعبيرية ذات معاني العنب (الكروم المقدس)، واعتبر الباحثين تشكيلات الخطوط المتنوعة في الكنائس (كاسرات الشمس) تحمل معاني رمزية مرتبطة بالمياه والتشكيلات الزخرفية العمودية والأفقية رمزية لسعف النخيل (الشجرة المقدسة). وعليه، يتضح أن الباحثين اعتمدوا المقارنة والتشابه الشكلي لقراءة معاني المفردات، ولذلك سوف تتم قراءة وتحليل العناصر والمفردات اعتماداً على نموذج النظم المعقاني والرمزي.

6-7: **الديوان (غرفة الاستقبال):** الديوان عبارة عن غرفة مستطيلة كبيرة الحجم تستغل في الاستخدام العام ويخصص الفضاء بشكل رئيس لاستقبال الضيوف، وإقامة الاحتفالات كالأعراس والولادة؛ حيث يتسع لعدد كبير من الأشخاص. ويأتي موقع الديوان في الطوابق الوسطى وعادة يأخذ الواجهة الرئيسية المطلّة على الشارع. ويعطي هذا الفضاء في حجمه وشكله الكبير ووظيفته العامة، إحياء بالفضاء الكبير (الفناء) الذي وجد في المعابد ومنها معبد بران، لاستقبال زوار الإله وضيوفه. وقد انتقل إلى عمارة القصور حيث كان يتقدمها فضاء كبير لاستقبال الضيوف وزوار الملك (23)، أما عن شكله المستطيل فيشير إلى قدسيته ومضامينه الفكرية المرتبطة بالنموذج الأمثل الذي جسّد في مساقط المعابد والمساكن.

6-8: **غرف النوم:** غرف النوم عبارة عن فضاءات وظيفية مستطيلة تحظى باهتمام كبير في الزخرفية والتوجيه. وتتوزع غرف النوم بشكل رئيس في الأدوار الوسطى والعليا. تسمى غرف النوم في بعض الأماكن "خلوة"، وهذا المصطلح يعبر عن الانفصال والانقطاع في زمن معين عن الناس، والخلوة بمعناها العام، تكون إما خلوة الفرد مع الإله في عبادة أو الخلوة بين الزوجين. وتسمى غرف النوم في صنعاء "مكان" وهذا المصطلح يوحي بأهمية المكان الذي يجب أن يأخذ هذا النوع من الفضاءات. ولفظ "مكان" جاء في نقوش المسند بلفظ (مكنث) والذي يرد في المعجم السبئي والمعجم القتباني وعند بيلا بمعنى مكان ملكي أو قدس الأقداس أو جزء من معبد، وجاء عند روبان بمعنى مكان مقدس (33).

6-9: **المطبخ (الديمة):**

تقع الديمة عادة في الأدوار العليا وتحت السطح (الجبا) في الغالب، ويوضع لها فتحات قوية فوقها، وأخرى جانبية على الجدران، وذلك لتصريف الدخان المتصاعد خارج المسكن، وتمثل الديمة مكان الطبخ، وفيها يتم إشعال النار، فجاءت كأحد فراغات المعبد اليمني القديم كمكان لحرق الجمر المطلوب لبخور الإله. وطريقة تصريف الدخان من الأعلى، وشكل المبنى الشبيه بالمباخر يبدو عند تصاعد الدخان، وكأنه مشاركا طقسياً بطقوس حرق البخور القديمة. ويذكر الألوسي في حواشي كتابه بلوغ الأرب أن "الديم. مطر ديمة والديمة مطر يبقى أياماً لا يقلع" (34)، لذلك فقد عبر عن الخصوبة ودوام الخير باعتباره مكان تجهيز الطعام والغذاء.

6-10: **الحمام ووسائل التخلص من العوادم:** زود كل طابق من طوابق المبنى البرجي في صنعاء القديمة بحمام أو أكثر. وتنقسم الحمامات بشكل عام إلى قسمين، إحداهما يسمى (مستراح) مرحاض، والآخر يسمى (مطهار). فالمستراح يستخدم لقضاء الحاجة، وله قناة تصريف يقام لها غرفة محكمة الإغلاق (نقرة) في الدور الأرضي، أما المطهار فيستخدم للاغتسال. ووسيلة التخلص والصرف للمطهار تكون منفصلة عبر قناة خارجية تُعمل من القضاض. وكلمة "مطهار" تحمل معاني ذات جذور قديمة، حيث تُشير دراسة الجرو (7) إلى أن اليمنيين قد أخذوا من أسلافهم فكرة إنشاء مطاهر كانت تستخدم في المعابد القديمة، واستخدموا في مساكنهم الخاصة مواضع بعينها للمطاهر في المنزل السكني البرجي.

6-11: **المفرج والمنظر والزهرة:** المفرج عبارة عن غرفة في الطابق قبل الأخير، وله جذور قديمة ذكرها المؤرخين عند وصفهم قصر غمدان الذي كان المفرج يعلو القصر. وفي قصر (هجرام) بظفار "أوسع شرجيل لهوجه -نوافذه- وأبدع في سطح القصر مفرجاً- غرفة جلوس تطل على مناظر جميلة" (35). يتوج المفرج قمة المبنى البرجي، ويعطي شعوراً بأن المسكن البرجي بارتفاعه الشاهق ملك يسيطر على ما حوله. والمفرج عادة ما يتوسط سطح (الجبا) فيزيد في ارتفاع المبنى ويقوي المحور العمودي الذي يتجه إلى السماء. أما المنظر فهو غرفة أصغر من المفرج، تأتي في أعلى المبنى أو بجانب المفرج. والمنظر فضاء متوارث جاء ذكره في شعر للهمداني يصف قصر غمدان فقال "ينبوع عين لا يصرد

أ- مستطيلة تعلوها نافذة دائرية وعقد: يتشكل هذا النوع من نافذة مستطيلة في الأسفل، ونافذة دائرية تعلوها عقد في الأعلى تغطي حديثاً بالزجاج الملون والجص، وقديماً كانت تغطي بالرخام (الشكل رقم 10). ويعكس تشكيلها عدد من المفاهيم الدينية، فالجزء الأسفل من النافذة يدخل ضوء الشمس إلى الفضاء فيعكس دور الشمس، بينما يدخل الجزء العلوي الضوء الخافت الذي يشبه ضوء القمر، فيعكس دور القمر. والجزء الأسفل عبارة عن مستطيل يحمل معاني رمزية للنموذج الأمثل، الذي يمثل المائدة المقدسة. والجزء العلوي يحمل معاني متعددة، منها أن الجزء الدائري يرمز إلى الشمس في شكلها المجرد، والشمس في المعتقد القديم إلهة الحماية، بينما العقد الذي تعلوها يحاكي القمر في طور الهلال، والقمر إله للخصب والحماية، وبذلك فالشكل العام للنافذة في الجزء العلوي يرمز إلى الهلال والقرص (الشمس والقمر) في حالة تزواج، والذي يحيل المعنى إلى الإله عتتر (الزهرة) ابن الشمس والقمر. ويمكن قراءتها بالاعتماد على حروف خط المسند، فالعقد يأخذ حرف الراء من حروف المسند، بينما تأخذ الدائرة حرف العين، فيكون قراءة النافذة (عر)، وهذان الحرفان يشكلان الحرف الأول والأخير لاسم الإله "عتتر" الحامي، بل أن بعض النقوش المسندية ذكرته بهذان الحرفان فقط (13).



الشكل رقم (10): نافذة مستطيلة تعلوها عقد بداخله نافذة دائرية (الباحث)

ب- مستطيلة تعلوها نافذتان دائريتان وعقد: يحتل هذا النوع من النوافذ الأدوار الوسطى في المباني. وتتكون هذه النافذة من نافذة مستطيلة في الأسفل تعلوها نافذتان متصلتان رأسياً داخل إطار مع جزء وهمي غائر يطوق بعقد (الشكل رقم 11). ويحمل هذا النوع من النوافذ مفاهيم عقائدية فالجزء المستطيل يحمل معاني رمزية للنموذج الأمثل. أما الجزء العلوي من النافذة، فالدائرتان المتصلتان معاً تشبه حرف الناء في حروف المسند وكل دائرة منهما تمثل حرف العين في حروف المسند، والعقد الذي تعلوها يمثل حرف الراء، وبذلك يتشكل اسم الإله "عتتر أو عثر" كما جاء اسمه بحروف المسند، وهو الإله الحامي للমন والمقابر. ويتكون العقد الذي تعلو النافذتان من أحجار تركب بشكل مجزأ وبانحناء يحاكي شكل العقد التي توجد على قرون الوعل رمز للإله عتتر. وبذلك فالعنصر ككل يرمز إلى الإله "عتتر"، ويكشف عن مضمونه بطلب الحماية من الأرواح الشريرة والأعداء.

1-7: المعنى في واجهة المسكن الصناعي: إن الاعتقاد بثنائية الوجود، وثنائية العالم الذي تسكنه كائنات غير مرئية وكائنات مرئية انعكس على العمارة اليمنية، فجاء تشكيل الواجهة مزيجاً من الثنائية بين النافذ والمصمت، فالنافذ يعبر عن الجانب الفيزيائي (المادة)، بينما يعبر المصمت عن الجانب الميتافيزيقي (الروح). وأن زيادة الانفتاح بزيادة عدد الفتحات واتساعها تصاعدياً إلى الأعلى، يعطي انطباعاً تعبيرياً يعكس أهمية الوظيفة التي تشغلها الطوابق العليا، والمكانة الاجتماعية. ومن أكثر هذه العناصر والمفردات بروزاً في الواجهة هي: العقود، والقمريات التي تفردت بها العمارة الصناعية والعمارة اليمنية بشكل عام. وتُعد العقود من العناصر الإنشائية والزخرفية البارزة في العمارة اليمنية، والتي تضرب بجذورها إلى فترات قديمة. ففي بداية الأمر كان العقد النصف الدائري يرمز إلى الهلال، الذي يمثل الإله القمر "المقه" إله الخصب والحماية، والدائرة (القرص) كانت رمزاً للشمس، وباقتراحهما يشيران إلى تزاوج الشمس والقمر فيرمزاً معاً إلى ابنهما الإله "عتتر" الزهرة. وعند تحليل اتجاه حركة العقد، يتبين أنها تتحرك من نقطة تقع أسفل أحد جوانبه، وتتجه إلى الأعلى (السماء)، ثم تعود باتجاه الأسفل (الأرض) عند النقطة المقابلة، وعليه فقد عبر العقد عن السكون فقام المعمار الصناعي بتعديل ذلك عن طريق إضافة جزء مدبب من الجص في قمة العقد (على الأسلوب الهندي) لتعديل قوى الحركة في العقد، وجعل محصلته تتجه إلى السماء (الشكل رقم 9).



الشكل رقم (9): منظر لأحد المساكن يظهر العقود التي تعلوها جزء مدبب (الباحث)

2-7: الفتحات- النوافذ في عمارة صناعاء: تكون النوافذ على واجهة المبنى البرجي صغيرة الحجم في الأدوار السفلية ثم يزداد عددها واتساعها مع الارتفاع للأعلى. وتنقسم الفتحات حسب أسلوب البناء والشكل إلى نوعين هما: نافذة (شفافة)، وصماء (وهمية)، ويصمم النوع النافذ من جزآن: الجزء الأسفل عبارة عن نافذة مستطيلة أو مربعة لها مصاريع خشبية والجزء العلوي عبارة عن نافذة نصف دائرية أو دائرية، يتوجها عقد حجري أو من الأجر.

يلفت نظر المشاهد عن رؤيته واجهة المباني الصناعية، أن النوافذ بشكل عام تتشكل من عناصر محددة هي: الدائرة، وعقد نصف دائري، ومستطيل. وهذه العناصر لها جذوراً دينية مقدسة، فالدائرة كانت تمثل رمزاً لقرص الشمس (الأم الحامية)، ونصف الدائرة (الهلال) ترمز إلى الإله والأب القمر (إله الخصب والحماية)، وكان المستطيل النموذج الأمثل للرؤى الفلسفية، الذي جسّد بشكل عام في القطع الفنية (المذابح)، وأعتمد كنموذج لتصميم مسقط المعبد والمسكن. ويمكن تقسيم النوافذ في الواجهة السكنية حسب الجزء العلوي إلى:

د- مستطيلة يعلوها عقد نصف دائري: هي نافذة مستطيلة في الأسفل تعلوها نافذة نصف دائرية كبيرة في الأعلى توجد عادة في الأدوار العليا، ويعلوها عقد حجري أو من الحجر، وبداخله قمرية نصف دائرية من الجص المعشق بالزجاج (الشكل رقم 13). ويفصل العقد عن النافذة المستطيلة بكاسرات شمس خشبية بارزة عن الجدار لحماية النافذة من الأمطار وأشعة الشمس. وعادة ما يرافق هذا النوع من النوافذ نوافذ صغيرة (شواقيص) على جانبيها. وترجع أصولها إلى الفترة الحميرية، فقد وجدت القطع الأثرية بكثرة في مواقع المدن الحميرية، وخير مثال هو عقد مصنعة مارية الشهير (الشكل رقم 6) الذي يظهر عليه الرمز الديني الحميري النسر- رمز الشمس- في جانبي العقد للحراسة، وقد استبدلت بنافذتين صغيرتين (شواقيص) تقع في مكان النسر وتحمل معاني ودلالات رمزية منها، أن العقد الذي يعلوها يرمز إلى الهلال الذي يرمز بدوره إلى القمر، فيما تطور الجزء الذي بداخلها من النافذة الدائرية، ليصبح نصف دائرة ترمز إلى القمر.



الشكل رقم (13) : نافذة مستطيلة تعلوها نافذة نصف دائرية بداخلها نافذة دائرية، تحاكي شكل القرص والهلال (الباحث)

7-3: الفتحات المصمتة (الوهمية): تغطي المساحات الخالية من النوافذ في الواجهة، وخاصة الشمالية والشمالية الشرقية بواسطة فتحات وهمية، تبدو للناظر على أنها نوافذ، وهي في الواقع عبارة عن إطار فتحة مصمتة بشكل نافذة، ويتخللها أحياناً فتحات صغيرة، بغرض الإضاءة والتهوية للفرغات التي غالباً ما تكون المطابخ وأماكن النساء (الشكل رقم 14).

ترجع بداية ظهور النوافذ الوهمية إلى الفترة السبئية المبكرة، فقد تم زخرفة صالة المدخل لمعبد اوام بعدد من النوافذ الوهمية، وربما تكون بداية ظهورها أبعد من ذلك نظراً لظهورها بشكل متقن. وتدل بشكلها الوهمي على الاتصال الروحاني النسبي باتجاه الذات الإنسانية نحو الخالق.



الشكل رقم (11): تراكيب الأحجار في العقد تحاكي العقد في قرون الوعل (الباحث)

ج- مستطيلة تعلوها نافذة نهايتها عقد: تتكون هذه النافذة من نافذة مستطيلة في الأسفل، تعلوها نافذة مستطيلة نهايتها بشكل عقد. وقد جاء هذا النوع ليدمج في شكله بين النافذة المستطيلة والنافذة الدائرية. وعند تجريد هذه النافذة نجد أنها تتكون من العقد والذي يشير إلى الهلال، الذي بدوره يرمز إلى المعبود (القمر)، فيما جاء وتطور الجزء الذي بداخلها من النافذة الدائرية، وهذا يحيل المعنى إلى الشمس، والشكل المستطيل يرمز إلى النموذج الأمثل (المقدس) باعتبارها محاولة للدمج بين الأشكال الرمزية مع بعضها. ويتم إضافة عقد منفصل يتمثل في إطار من الجص له رأس مدبب في الأعلى من نفس مادة الجص لكل نافذة، فتبدو متجهة في تشكيلها ورؤوسها المدببة مشيرة إلى السماء (الشكل رقم 12).



الشكل رقم (12): نوافذ مستطيلة تعلوها نوافذ نهايتها عقود برأس مدبب (الباحث)

8-1: التشكيلات والزخارف الأفقية : تمثل الأضمة الأفقية التي تلتف حول المبنى أكثر الزخارف تميزاً في الواجهة، فتحدد معالم نهاية كل دور وحدوده الإنشائية. ويمكن تصنيف هذه الأضمة إلى نوعين حسب الموقع وحجم ونوع المعالجة البنائية: النوع الأول؛ هو الحزام النهائي الذي يقع نهاية المبنى ويحدد نهايته وهو الأكبر مساحة والأكثر زخرفة، والنوع الثاني؛ هي الأضمة التي تحدد معالم الأدوار (الشكل رقم 15).



الشكل رقم (15) : منظر لمبنى برجى في صنعاء تفصل أنواره أضمة زخرفية (الباحث)

ترجع جذور هذه الأضمة إلى فترة ما قبل الميلاد في جنوب شبه الجزيرة العربية، وقد ذكرت في نقوش المسند بالشقر "شقرن" فكثير ما وجد في النقوش أن فلان أسس بيته وبناءه وشقره؛ أي بناءه وزين نهايته، والتشجير من "مشاقر"، وهي عادة لا تزال موجودة بوضع المشاقر على عمامة الرجل في التقاليد اليمنية (36)، وهي بمثابة الطوق والتتويج للمبنى. وجاء ذكر الأضمة الأفقية بنوعها النهائي والتي تفصل بين الأنوار عند الهمداني في وصفه لقصر غمدان فقال "يسمو إلى كبد السماء مصعداً...عشرين سقفاً سمكها لا يقصر *** ومن السحاب معصب بعمامة...ومن الرخام منطبق ومؤزر" (23). فالعمامة التي ذكرت تعني الإفريز النهائي للبناء، أما مؤزر من الرخام، فهي تعني الأضمة الوسطى التي تحدد فواصل الطوابق. والعمامة (العمامة) التي يلبسها الرجل اليمني على رأسه بزيه التقليدي وتأخذ وظيفة التاج الذي يضعه الملك على رأسه، وهي نفسها الحزام النهائي للمبنى، والتي تعطي معاني التطويق والإحاطة. أما الحزام في وسط المبنى، فهو يشبه الحزام الذي يلبسه الرجل اليمني مع الجنيبة. والعمامة من العمامة؛ أي السحاب، وهذا يتوافق مع وصف الهمداني السابق عندما شبه قصر غمدان معصب بعمامة من السحاب. ولباس العمامة عند اليمنيين عز وفخر، ولها دلالات تعكس المكانة والهيبة التي يتبوأها من يلبسها. والعمامة هي شعار العرب ورمزاً لهم، وإذا زالت ضاعت عربيتهم، فقيل في الخبر "إن العمامة تيجان العرب، فإذا وضعوها وضع الله عزهم" (14)، وبالمقارنة فإن العمامة والإفريز في البناء جاءت بنفس الدلالة. وإن الفكرة وراء الإحاطة والتطويق قد جاءت محملة بمعاني رمزية ترجع بجذورها إلى الاعتقاد بعدم تجانس الفضاء، وانتشاره بين المقدس وغير المقدس. فالمقدس يتطلب إحاطته وتطويقه بشكل كامل يفصله عن الأماكن غير المقدسة، فيكون له شكلاً محدداً. فقد كان الفضاء في فترة ما قبل الإسلام يحدد بواسطة أضمة تحمل إيقونات ورموز الإله، حتى بلغ الحد بهم في تطويق كل حجر بناء بشكل منفصل من خلال صفح حوافها ونقر وسطها (25).



الشكل رقم (14): النوافذ المصمتة بها نوافذ صغيرة في واجهة المطبخ (الباحث)

7-4: النوافذ الصغيرة : تأتي النوافذ الصغيرة على نوعين: النوع الأول؛ عبارة عن نوافذ صغيرة توجد مجتمعة في وحدتين مكونة كلا منها من ثلاث نوافذ تعلو بعض، تستخدم في واجهة الفضاءات التي تتطلب القليل من الإضاءة، وتكون عادة داخل فتحات وهمية فوق المدخل وعلى واجهة بيت الدرج والمطبخ. والنوع الثاني؛ نوافذ صغيرة منفردة تسمى شواقيص، وهي تقع عادة في منسوب مرتفع فوق الرف الخشبي على جانبي النافذة، وخصوصاً ذات العقد نصف الدائري. وظيفتها هي التهوية وتجديد الهواء داخل الفضاء الذي غالباً ما يكون فضاء الاستقبال والمقبل والمفرج. وقد كانت وظيفتها قديماً مزاعل للرماء لإطلاق السهام على العدو، والمراقبة الاستطلاعية. وترجع أصولها إلى النوافذ المستطيلة الصغيرة (الكوة) التي تفتح في النوافذ الكاذبة (الوهمي) التي جردت من الوعل رمز عثر، وعليه فإنها تحمل معاني الحماية من الإله "عثر شرقي" الذي كان إله خاص بالحماية للمباني. ويدعم ذلك تسمية العرب للكوة والتقب الذي يوجد في أعالي البيت بالشاروق [الألوسي دبت: 390]. وتظهر الشواقيص بكثرة على جانبي النوافذ نصف الدائرية الكبيرة في الأدوار العليا في ثنائية متناظرة، تجعل النافذة تبدو محروسة من الجانبين وهذا بدوره يُحيل المعنى إلى التسرين رمز الشمس التي كانت تحرس النوافذ الحميرية.

7-5: نوافذ المراقبة (ميرد الماء): هي عبارة عن كتلة مكعبة الشكل تبرز عن جدار واجهة المبنى، حيث تُبنى إما بالأجر أو الحجر. ولهذا العنصر عدة وظائف منها: مراقبة الطارق على الباب حيث تقع على محور الباب في الواجهة، ويوجد بها فتحات يستفاد منها في التهوية وتجديد الهواء وتستخدم كمبرد للماء فتسمى (بيت الشربة)، حيث تقع في الجهة الشمالية الباردة. وقد تطور هذا العنصر وتغيرت وظيفته من الوظيفة الرمزية إلى عنصر وظيفي يستخدم في مراقبة الأعداء ورمي الأحجار والمواد الحارقة، فكانت تستخدم في المنشآت الدفاعية، وخصوصاً فوق البوابات الرئيسة كنقاط دفاع.

8- العناصر والتشكيلات الزخرفية:

تميزت وتفردت العمارة صنعانية بزخارفها الكثيفة، سواء كانت زخارف أفقية أو رأسية، بارزة أو غائرة. وجاءت كلوحات فنية آتقن المعماري في تشكيلها، كما جاءت مليئة بالمعاني الرمزية التي تحمل أفكاراً ومفاهيم عفاً قديمة توارثت وانتقلت إلى زمننا الحاضر، ويؤيد هذا الطرح ما أشار إليه الشيباني وآخرون بقولهم "إن الكثير من مفردات التشكيل الزخرفي الخارجي في العمارة اليمنية عامة وعمارة صنعاء خاصة ما هي إلا نتاج تراكمي لسلسلة من عمليات التجريد لمفردات زخرفية يمنية قديمة" (1).



الشكل رقم (18): منظر لمبنى برجى تظهر عليه التشكيلات العمودية للأعلى (الباحث)

عند البحث عن المعاني الكامنة وراء ذلك النوع من الزخرفة، ندرك أن فكرة الحماية وطلب الخصوبة في الزرية والزرع، كانت هي الغاية منها. فالنخيل كان رمزاً للخصوبة، وسعفها كان رمزاً للشمس. والنخيل مصدر غذائي اشتهرت به الجزيرة العربية ومنها اليمن، لذا فقد شكّل على واجهات المبنى كدلالة على التفاؤل بالخير والنعيم. وكذلك هو الحال مع التشكيلات التجريدية للسنايل التي ترمز إلى الخصوبة أيضاً. وتأتي الثعابين متشابكة حول بعضها، أو على شكل ثعابين على جانبي النافذة (الشكل رقم 19). واستخدم الثعابين في واجهات المباني كتعويذة تصد الحسد والعين.



الشكل رقم (19): : ثعابين على جانبي النافذة للحماية من الأرواح الشريرة (الباحث)

8-2: التفاصيل التشكيلية للأحزمة الأفقية: تنوعت التشكيلات التفصيلية للوحدات الزخرفية الموجودة داخل الأحزمة فظهرت أنواع عديدة منها: الزخارف التجريدية (المسننات)، وهي عبارة عن وحدات مستطيلة بارزة وغائرة، تتكرر داخل بطن الحزام، وتظهر بكثرة في مساكن القطاع الشرقي لصنعاء القديمة (الشكل رقم 16). وهناك الزخارف التجريدية لأغصان العنب، والتي تتشكل من خطوط منحنية تمتد أفقياً، وتتخللها دوائر صغيرة جردت للعناقيد. وزخارف العنب تحمل دلالات خاصة للالهة الكروم، وهي تمثل رمزاً للشمس ورمزاً للخلود. وهناك زخارف تتشكل من ثعابين ملتفة حول بعض أو على شكل ثعابين بمفرده (الشكل رقم 17). والثعابين في معتقد اليمن القديم يرمز إلى الإله القمر، وهو الإله الحامي وإله الخصب المقدس. وعليه فإن استخدامه كزخرفة الغرض منها تعويذة تصد الحسد والسحر عن المباني وساكنيها. وهناك تشكيلات زخرفية عبارة عن مثلثات تتكرر بشكل أفقي. وترجع جذور هذا النوع من الزخرفة إلى بداية الألف الأول ق.م، فقد ظهرت بالشكل نفسه على أعمدة وجدران معابد الجوف. وظهر المثلث على رأس الثور المقدس وبين قرنيه، وهو يرمز للقمر (إله الخصب). كما أن شكلها الذي يحيط بالمبنى وتكرر وحدة المثلث في حركة تلتف حول المبنى، له دلالة على الديمومة والاستمرارية في الحياة.



الشكل رقم (16): حزام زخرفة عبارة عن مسننات الزخرفة اليمنية القديمة (الباحث)



الشكل رقم (17): حزام أفقي يتشكل من خط متموج - ثعابين - منفرد (الباحث)

8-3: التشكيلية والزخرفة للأحزمة العمودية: أعطت التشكيلات الزخرفية الرأسية للواجهة في المسكن الصنعاني توازناً بصرياً بشكل تضاد بينها وبين الأحزمة الزخرفية الأفقية. وجاءت هذه الزخارف تؤكد حركة التشكيل العمودي المنسجم مع عمودية الكتلة البرجية، فتجعل المشاهد يتجه بنظره إلى الأعلى منتبهاً لتشكيلات عناصر المبنى المختلفة (الشكل رقم 18)، وقد استخدمت التشكيلات العمودية في الأماكن الخالية من العناصر المعمارية بهدف خلق نوع من التنوع وملء الفراغ. وقد انحصرت تشكيلات الزخارف العمودية على الواجهات السكنية في أشكال معينة، كان أكثرها سيطرة تجريدات سعف النخيل والسنايل والثعابين الملتفة مع بعض.

النتائج

تعامل المعماري اليمني مع عناصر ومفردات ذات قيم ومفاهيم عقائدية؛ لأنه تعايش معها كعناصر بصرية يرى أن لها قيمة جمالية وفنية؛ فأخذ يستسخنها ويكررها بأساليب تخلو من الملل والرتابة. وأعتمد المعماري اليمني على مبدأ التجريد والاختزال الشكلي وذلك بغرض إضفاء الغموض والوصول إلى عمق الجوهري.

أخذت كتلة المسكن البرجي متجه إلى السماء وتم تعزيز هذا المحور بعدد من الوسائل منها: كتلة المفرج، وانحناء خطوط الكتلة للجدران الخارجية إلى الداخل، وتوجيه العناصر والمفردات التشكيلية تصاعدياً إلى الأعلى، للتأكيد بصورة رمزية على معتقد القرابة بين البشر والآلهة عن طريق محاولة التقرب من مكان الإله في السماء. وأخذ مسقط المسكن النموذج الأمثل في معتقد اليمن القديم، فقد جاء نسخة مكررة لمسقط المعبد ولشكل المائدة المقدسة، فتم توظيف الفناء في المعبد كدهليز وصالة توزيع في المسكن وأخذ السلم (القطب) المركز، قدس الأقداس في المعبد. وجاء الحوي (الحوش) ليحدد حدود الحمى في قدسية المكان فيما كانت البوابة الحد الفاصل بين قطبية المكان. وأخذت التشكيلات الزخرفية رموزاً تجريدية للقرص والهلال واسم الإله عثر والتعابيين والقرون، والتي تحمل معاني خاصة بمعتقد الحماية من العالم غير المرئي من جن وكائنات شريرة، ورموزاً تجريدية مثل النخيل والسنابل والمثلثات والتي تحمل معاني خاصة بمعتقد الخصوبة في الزرع والذرية. وتم التأكيد والتكرار على الأشكال الدائرية والقسوية والمستطيلة لما ترتبط في مضمونها الفكري برموز الآلهة، والنماذج المثلثية.

وعليه، فإن جذور مفردات العمارة اليمنية التقليدية، تعود إلى فترة ما قبل الإسلام، وإنها تحمل مفاهيم ومعاني مرتبطة بالمعتقد الديني القديم. وبذلك أمكن إثبات الفرضية البحثية القائلة بأن "المفردات والعناصر المعمارية الموجودة في العمارة اليمنية التقليدية، هي رموز متوارثة تحمل معاني دينية جاءت أصولها من المعتقد والفكر الديني لليمن القديم".

التوصيات

توصي الدراسة بضرورة الاهتمام والحفاظ على المباني التقليدية والتراثية، وبتوعية المعماريين والعاملين في العمارة بمضامين وقيم مفردات وعناصر العمارة التقليدية لإيجاد عمارة حديثة بروح تحمل قيم ثقافية وهوية مكانية من خلال إعادة النظر بالمناهج الدراسية وتوجيهها وفق سياقات تركز على المنتج المحلي. كما يوصى البحث بضرورة الاستفادة من الأفكار الرمزية للمفردات المعمارية المستخلصة في هذا البحث، بحيث يمكن استخدامها في المباني اليمنية الحديثة، وذلك عن وعي وإدراك بمضامينها وبصورة تجعل منها عناصر لها روح، تستطيع أن تجذب لها عاطفة المجتمع الذي يتعايش معها. وأخيراً يوصي البحث الدارسين والباحثين في مجال العمارة بتكثيف جهودهم وتناول المفاهيم والأفكار الرمزية لجميع عمران اليمن، حيث إن هذا البحث قد ركز على دراسة مفردات وعناصر المسكن البرجي في صنعاء القديمة، وذلك كبدائية للتوسع الذي نأمل أن يشمل عمران اليمن التقليدي جغرافياً، بدراسة كل مدينة ومنطقة يمنية على حدة في الدراسات المستقبلية.

8-4: نهايات المباني (التشارييف) : ينتهي سطح المبنى البرجي الصنعاني بأشكال مدببة تتوزع على الأركان، وأحياناً بشكل متكرر على طول نهاية المبنى. وقد جاءت هذه التقاليد البنائية عن طريق التقليد والتوارث، فيصف لنا المؤرخين، كيف كانت تزين القصور في أعلاها، فجاء في وصف غمدان وغرفته العليا التي كانت تزين في أركانها الأربعة بتمائيل الأسود والنسور (23). وكما هو معروف بأن الأسد والنسر كانا رموزاً للشمس (إلهة الحماية)، فوضعهما في الأركان يُحملها معاني ضمنية لها دلالات مرتبطة بالحماية. ويتم إنهاء المبنى بعناصر رمزية تجعله يبدو أكثر مناعة، وقد توارثت هذه الرموز مع محافظتها على المعنى الرمزي الذي قد يكون أحياناً مبهماً أو تحول إلى الاعتقاد بقوتها السحرية. ومن هذه الرموز قرون الوعل أو الثور، التي تحولت بعد الإسلام إلى أشكال رمزية مجردة، فيما حافظت بعض المساكن في اليمن على القرون ذاتها (الشكل رقم 20). وقد تحولت تجسيدات القرون إلى رموز تجريدية، تُعمل بمادة البناء نفسها، فتكون عبارة عن نتوء بنائي متدرج أو أشكال مثلثية رأسها مدببة يتجه إلى السماء. كما تعمل على تأكيد أركان المنزل والذي يعد دالاً لمذلول ربط المنزل بالسماء، وجعل المبنى يبدو مرتبطاً بالسماء من خلال ربط أركان المبنى الأربعة بواسطة بروز متدرج للأعلى.



الشكل رقم (20): ترسبات العقيدة الدينية القديمة من خلال وضع قرون الوعل للحماية على الشرفات العليا لمسكن في صنعاء (الباحث)

8-5: تحديد العناصر بالأبيض (الإحاطة): تطلى حول العناصر والمفردات في واجهات المباني الصنعانية بالجبس الأبيض، لتحديد معالمها. ويسيطر اللون الأبيض للجبس المتداخل مع اللون المحمر للأجر على الواجهة العمرانية لمدينة صنعاء، فيعطيها انسجام وتجانس بصري. وفكرة تحديد العناصر المعمارية ترجع إلى الألف الأول ق.م، حيث كانت تُصقل أطراف الحجر وحوافه الخارجية شاملاً جميع أحجار البناء في الواجهة، ونظراً لحلول مادة الأجر محل الأحجار فقد استبدلت طريقة الصقل والإحاطة إلى تحديد الحواف وتأطير الحدود الخارجية للعنصر بالجبس الأبيض. هذا ويرمز اللون الأبيض إلى القمر الذي يمثل المعبود الرئيس لليمنيين القدماء، ومعنى القمر لغوياً مأخوذ من "القمر" التي تعني البياض، و"الأقمر" بمعنى الأبيض، كما يرمز إلى الإله الزهرة (عثر) فكلمة "الزهرة" مشتقة من الزاهر والذي يعني الأبيض النير (31)، ويرمز اللون الأبيض إلى نقاء السيرة، ويمثل رمزا للضيافة والترحيب من صاحب المسكن بالزائر.

المصادر

22. De Maigret A. (2005). Some reflection on the South Arabian bayt. ABADY. 10: 101-109.
23. الهمداني، الحسن بن أحمد بن يعقوب. (د/ت). الإكليل. ج8، تحقيق نبيه أمين فارس، دار الكلمة، صنعاء.
24. إبياد ميرسيا. (2009). المقدس والعادي، ترجمة عادل العواء، ط1، دار التتوير للطباعة والنشر والتوزيع، بيروت.
25. حنشور، أحمد. (2007). الخصائص المعمارية للمدينة اليمنية القديمة، رسالة دكتوراه (غير منشورة)، كلية الآداب-جامعة عدن.
26. Smith W. (1984). Lectures on the Religion on the Semites. Adam and C. Black, London.
27. جيمت وبونانغان بولس. (1996). فن الزخرفة الخشبية في صنعاء، ترجمة محمد العروسي، المعهد الفرنسي للدراسات العربية، دمشق.
28. الحسن، جمال محمد ناصر. (2012). الإله عم وآلهة قتيبان (700 ق.م - 170 م). رسالة دكتوراه (غير منشورة)، جامعة طنطا، مصر.
29. الحداد، عبد الله عبد السلام. (1999). صنعاء تاريخها ومنازلها الأثرية، ط1، القاهرة.
30. Yule P. (2005). Late Himyarite Vulture Reliefs.
31. النويري شهاب الدين. (1923). نهاية الأرب في فنون الأدب. ج1، دار الكتاب المصرية، القاهرة.
32. الغزالي علي صالح. (2005). تأثير تقنيات ومواد البناء الجديدة على العمارة المحلية بصنعاء - اليمن، رسالة ماجستير (غير منشورة)، كلية الهندسة - جامعة الأزهر، مصر.
33. الأغبري، فهمي علي. (2003). ألفاظ المنشآت المعمارية في اليمن القديم: دراسة من خلال النقوش والآثار والإكليل الجزء الثامن. رسالة دكتوراه (غير منشورة)، جامعة صنعاء.
34. الألوسي، محمود شكري. (د/ت). بلوغ الأرب في معرفة أحوال العرب. ج3، تحقيق محمد بهجت الأثري، دار الكتب العلمية، بيروت.
35. الإرياني، مطهر. (1995). غمدان أول ناطحات السحاب في العالم. التراث العربي. ص 94-100.
36. الإرياني، مطهر. (2002). "المشقر" الموسوعة اليمنية، ط2، المجلد 4، مؤسسة العفيف الثقافية، صنعاء.
1. الشيباني، عبد الرقيب طاهر، وآخرون. (2005). أسس التصميم المعماري والتخطيط الحضري في العصور الإسلامية المختلفة: دراسة تحليلية على العاصمة صنعاء، إعداد وتنفيذ مركز الطاهر للاستشارات الهندسية، منظمة العواصم والمدن الإسلامية، جدة. المملكة العربية السعودية.
2. Al-Suleihi ST. (1992). The Lyrical Facades of Sanaa. Master thesis in Architecture, Massachusetts Institute of Technology.
3. Lewcock R. (1986). The old walled city of Sana'a. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.
4. العرشي، أمل. (2006). تواصل المضمون والتشكيل في العمارة التقليدية والمعاصرة، طرح اتجاه متوافق بين الأصالة والحداثة- حالة مدينة صنعاء. رسالة دكتوراه (غير منشورة)، كلية الهندسة- جامعة القاهرة.
5. جميل، سميرة. (1999). الخصائص العمرانية لمدينة صنعاء القديمة والاستفادة منها في العمارة المعاصرة. رسالة دكتوراه (غير منشورة)، كلية الهندسة- جامعة القاهرة.
6. جبر، علي حاتم. (2000). التأثير الشيعي على الفن المعماري الفاطمي. مجلة عالم البناء. مركز الدراسات التخطيطية والمعمارية، القاهرة، (213). ص 10-15.
7. الجرو، أسهمان. (2003). دراسات في التاريخ الحضاري لليمن القديم، دار الكتاب الحديث، جامعة عدن.
8. الجرو، أسهمان. (1998). الفكر الديني عند عرب جنوب شبه الجزيرة العربية: الألف الأول قبل الميلاد وحتى القرن الرابع الميلادي. مجلة أبحاث اليرموك. 14 (1): 219-250.
9. العريقي، منير. (2002). الفن المعماري والفكر الديني في اليمن القديم من 600/1500 ق.م، ط1، مكتبة مدبولي. القاهرة.
10. Buffa V. (2005). Cults, Symbols, and Rituals in the Late Prehistory of Ancient Yemen: Some Questions from Sabr. Republic of Yemen, in: Sabaeen Studies Archaeological, epigraphical and historical Studies, Naples- Sana'a.
11. الشيبية، عبد الله حسن. (2000). دراسات في تاريخ اليمن القديم، مكتبة الوعي الثوري، تعز.
12. الشيبية، عبد الله حسن. (2008). دراسات في تاريخ اليمن القديم (2)، ترجمت يمانية، ط1، دار الكتاب الجامعي، صنعاء.
13. الزبيري، خليل. (2000). الإله عتثر في ديانة سبأ: دراسة من خلال النقوش والآثار. رسالة ماجستير (غير منشورة)، كلية الآداب- جامعة عدن.
14. علي، جواد. (1993). المفصل في تاريخ العرب قبل الإسلام. الأجزاء الخامس- الثامن، ط2، جامعة بغداد.
15. بيرين، جاكلين. (1986). الفن في منطقة الجزيرة العربية في فترة ما قبل الإسلام. مجلة دراسات يمنية، (24، 23): ص 16-42.
16. De Maigret A. (2002). Arabia Felix: An Exploration of the Archaeological History of Yemen. Stacey International, London.
17. شلحد، يوسف. (1996). بني المقدس عند العرب قبل الإسلام وبعده. ط1، دار الطليعة للطباعة والنشر، بيروت.
18. بافقيه، محمد عبد القادر. (1985). تاريخ اليمن القديم. المؤسسة العربية للدراسات والنشر، بيروت.
19. سالم، هالة. (2011). التماثل في اليمن القديم. مجلة الجمعية التاريخية السعودية، السنة 12، (24)، ص 9-42.
20. نعيم، محمد مسعود. (1999). خصوصية الممارسة المعمارية اليمنية في التعامل مع الموروث، رسالة ماجستير (غير منشورة)، الهندسة المعمارية، الجامعة التكنولوجية، بغداد.
21. سنييه، جاك. (1996). القصر الملكي لشبوة: الهندسة المعمارية، تقنية البناء، تصور شكل القصر: شبوة عاصمة حضرموت القديمة. إعداد عزة عقيل، وجان بريتون، صنعاء، ص 62-78.

الفكر المعماري والرمزي في عمارة اليمن خلال فترة ما قبل التاريخ

أحمد عبد ربه النهمي * (1)، علي حاتم جبر (2)، علاء الدين عبد المحسن شاهين (3)

قسم الهندسة المعمارية / كلية الهندسة / جامعة نمار / جمهورية اليمن * طالب دكتوراه في جامعة القاهرة (2) قسم الهندسة المعمارية / كلية الهندسة / جامعة القاهرة / جمهورية مصر العربية (3) كلية الآثار / جامعة القاهرة / جمهورية مصر العربية

الملخص باللغة العربية

تمثل العمارة أصدق الأدلة التاريخية على استيطان منطقة ما، وأكثرها تعبيراً عن الحالة الاجتماعية والاقتصادية والفكرية للمجتمع. هذا البحث عبارة عن دراسة نظرية وميدانية لعمارة اليمن القديم خلال فترة ما قبل التاريخ، حيث تم انتخاب نماذج معمارية لفترات تاريخية متعاقبة تم دراستها وقراءة المعنى الذي يقف خلف أشكالها المعمارية. وقد استخلص البحث نمو حضارة اليمن خلال تلك الفترة بناء على ما فرضته الحياة الإنسانية والاجتماعية والاقتصادية وفق نظام ينسجم مع نوع الثقافة، فامتلكت الأشكال المعمارية مفاهيم ودلالات فكرية تدل على وعي إبداعي في المجتمع، لتحقيق نقلة نوعية في عمارة ما قبل التاريخ في اليمن نحو الحقبة التاريخية في الألف الأول قبل الميلاد.

الكلمات المفتاحية: اليمن قبل التاريخ، جنوب الجزيرة العربية، العمارة اليمنية القديمة، الرمزية

Architectural and symbolic thought of the ancient Yemeni architecture during the prehistoric period

Ahmed A. Al- Nehmi * (1), Aly H. Gabr (2) and Alaa El-Din A. Shaheen (3)

Dept. of Architecture/Faculty of Engineering / Thamar University/ Yemen * Ph.D. student / Cairo University (2) Dept. of Architecture/ Faculty of Engineering/ Cairo University/ Egypt (3) Faculty of Archaeology/ Cairo University/ Egypt

ABSTRACT

The architecture represents historical evidence on the area settlement. It is the most expression of the social, intellectual and economic status of the community. This research represents the theoretical and field study on ancient Yemen architecture during the prehistoric period, through selecting architectural samples of different historical periods. They have been studied and the meaning behind the architectural forms has been interpreted. The research concludes that the civilization of Yemen grow during that period on the basis imposed by human life, and social and economic status. The results indicate that there was creative awareness in the community, to achieve an important leap of the prehistoric architecture in Yemen towards the historical era at the beginning of the first millennium BC.

المقدمة

من مراحل العصر الحجري، ويعود تاريخ الطبقة العليا منه إلى أكثر من مليون سنة، وعُثرت على ثلاث مغارات في وادي "الجبر" من العصر الحجري القديم بها ألف أداة حجرية وموقدين نار (4).

2- العصر الحجري الحديث Neolithic :

اهتدى الإنسان في هذا العصر إلى الزراعة، وأنتج الحبوب، واستأنس الحيوان واعتنى بتربيته، وبدأ يعيش حياة الاستقرار والنظام والإنشاء بدلاً من حياة التنقل. وفي هذه الفترة ظهرت عدد من أماكن الاستيطان في المناطق الوسطى والشمالية لليمن، حيث تمتاز هذه المستوطنات بصغر حجمها، وهي عبارة عن وحدة سكنية تتكون من غرفتان بيضاويتان. لقد بدأ الإنسان تدريجياً يبنى مسكن خارج الكهف أو متصلاً بالكهف حتى يحمي نفسه من الحيوانات والأعداء، فنرى في موقع كتاف (3) الفحوليين رأس الغول وهو عبارة عن مبنى سكني بيضاوي الشكل يتكون من غرفتان وموقد نار دائري، والغرفة الأولى كبيرة تمتد حتى داخل المنحدر الجبلي والغرفة الأمامية أصغر من الأولى وذات شكل بيضاوي، وفي موقع وادي العصايد العشاش تتكون المنشأة السكنية من غرفتان إحداهما مستطيلة كبيرة 5,30 x 4م ممتدة إلى أسفل الكهف ويتوسط الغرفة باب والغرفة الأخرى مستطيلة 3,80 x 3م، وأمامها موقد نار (5)، ويمثل بداية التحول من السكن في الكهوف والمغارات إلى السكن المشيد بواسطة الإنسان. وكشفت البعثة الإيطالية في وادي الثيلة في خولان عن مساكن تتراوح مساحتها بين 15-30 م²، تم تحديد تاريخها بواسطة الكربون 14 إلى الألف الخامس - السادس ق.م (6)، كانت تبنى الوحدات السكنية من حجارة غير منحوتة في الأساسات ويتوسط غرفة السكن عمود يحمل السقف الذي يعمل من الخشب والمواد العضوية. وكشفت التنقيبات التي تمت في منطقة بدبدة بمأرب ما يزيد عن 62 موقعا أثريا تعود لمراحل زمنية مختلفة أقدمها يعود إلى الألف الرابع ق.م، وتحتل المواقع المكتشفة أماكن إستراتيجية على الجبال حيث تشرف على الأودية والسهول، وتخطيط هذه المستوطنات دائريا، كما يأخذ النمط التخطيطي للوحدات السكنية الأشكال الدائرية (7). وكشفت البعثة الأمريكية عن مستوطنات في وادي الفارحة بوادي الجوبة بمأرب منها مستوطنة بها وحدات تخطيطية لمساكن حجرية دائرية وشبة دائرية تعود إلى الألف الرابع ق.م (5).

أ- مستوطنة وادي الثيلة 3 (WTH3):

تحتل مستوطنة وادي الثيلة في خولان نصف هكتار من الأرض في شكل مستطيل 70*90م، وهي أحد مواقع الألف السادس - الرابع ق.م (6)، وهي كغيرها من مواقع العصر الحجري الحديث التي عادة ما تحتل مواقع المنحدرات القريبة من الوديان. يظهر من الموقع العام للمستوطنة أن أغلب المساكن البيضاوي تقع في النصف الغربي من الموقع، بحيث تبدو على خط محوري "جنوب غربي - شمال شرقي" (6)، تؤكد المستوطنة وجود مجتمع رعاة مستقرين يعتمد اقتصادهم على الرعي وجمع النباتات البرية (8)، وتخطيطها عبارة عن وحدات تنتشر بصورة غير منتظمة، مع وجود بعض التشكيلات التي تبدو المساكن ملفقة حول ساحة (الشكل رقم 1).

يمثل العمران نشاط حضاري يشترك في صياغته مجموعة من الأفراد تربطهم رؤية ومفاهيم عقائدية مشتركة، بحيث يحاولون صياغة رموز تحمل مفاهيم ميتافيزيقية تستخدم في جميع جوانب الحياة الاجتماعية والثقافية وعلى رأسها العمارة؛ لذا فقد كانت العمارة وما تزال الوعاء الحضاري الذي يستوعب تلك الرموز والمفاهيم، ودائما ما تعكس العمارة الأحوال الثقافية والاجتماعية والاقتصادية للمجتمع الذي أنتجها؛ حيث ان للعمارة صورتان إحداهما ظاهرة للحواس وتتشكل من المنتج المادي، والأخرى هي المحتوى الذي تحمله لتعكس فكر عصرها.

المشكلة والهدف والمنهجية

تكمن المشكلة البحثية في غياب الدراسات المعمارية المتخصصة لتناولها العمارة اليمنية القديمة وخصوصاً في فترة ما قبل التاريخ المدون في اليمن. وعليه، فالبحث الحالي يحاول تغطية عمارة اليمن في فترة ما قبل التاريخ، ويهدف من تناوله تلك الفترة الرصد والتقصي لمراحل التطور في الفكر المعماري والإنشائي والرمزي، وبصورة رؤية عامة عن الجوانب الثقافية والاجتماعية لمجتمع تلك الحقبة. وقد تشكلت منهجية البحث من سياقين متوازيين لكل سياق منهجه الخاص وهما: المنهج التحليلي والوصفي لنتبع تطور العمران اليمني عبر الفترات المتعاقبة، والمنهج التقليدي وذلك بدراسة تأثير الجوانب الفكرية على العمارة، وكيفية تعبير العمارة عن ثقافة المجتمع خلال تلك الفترة، وذلك من خلال انتخاب نماذج محددة تمثل المراحل التاريخية المتعاقبة.

العمران المدني في فترة ما قبل التاريخ

عند الحديث عن العمران المدني لفترة ما قبل التاريخ في اليمن، ينبغي تقسيم هذه الفترة إلى فترات متعاقبة حدث خلالها تطور في أسلوب البناء نتيجة لتطور الفكر المعماري والإنشائي محققاً ومتوافقاً مع تطور المتطلبات الاجتماعية لحاجيات الأسر، وتقدم اقتصادي ساعد على استقرار المجتمع. ويشمل العمران المدني في اليمن القديم تخطيط المدن بشكل عام شاملاً النسيج الحضري للمدن والأسوار والبوابات والمساكن؛ لذا سنتم دراسة نماذج من المستوطنات والمدن، ثم دراسة المسكن بشكل منفصل حتى يتحقق الغرض المطلوب للبحث.

1- العصر الحجري القديم Paleolithic :

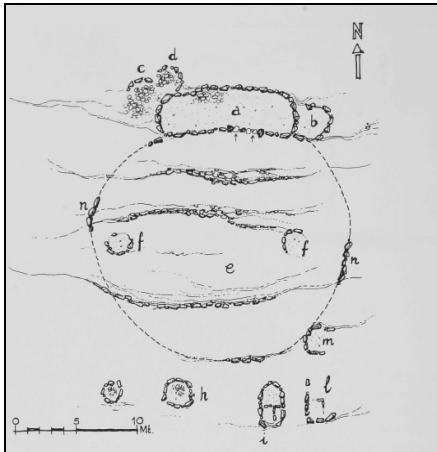
يمكن القول بالاستناد إلى المكتشفات الأثرية ان الاستيطان في اليمن بدأ منذ العصور الحجرية القديمة، فقد وجدت البعثة الإيطالية في قاع جهران جنوب معبر على أدوات ثنائية الوجه وأدوات من الشظايا واللب تعود إلى الفترة الاشولية (1)، وعثر في جبل تلح في منطقة لحج على فؤوس حجرية تعود إلى الفترة الاشولية إلى حوالي 200,000 - 400,000 سنة من الآن (2)، وعُثرت البعثة الأمريكية قرب باب المنديب على أكثر من 60 موقعا أثريا يعود أقدم القطع الأثرية التي جمعت من المواقع إلى العصر الحجري القديم (3). وفي هذا الفترة سكن الإنسان اليمني القديم الكهوف واستعملها لفترة زمنية طويلة كسكن دائم وأكثر البراهين على ذلك ما عُثرت عليه البعثة اليمنية السوفيتية المشتركة في وادي دوعن على أدوات حجرية ترجع إلى العصر (الأولوي) وهو أقدم مرحلة

3- العصر البرونزي Bronze age:

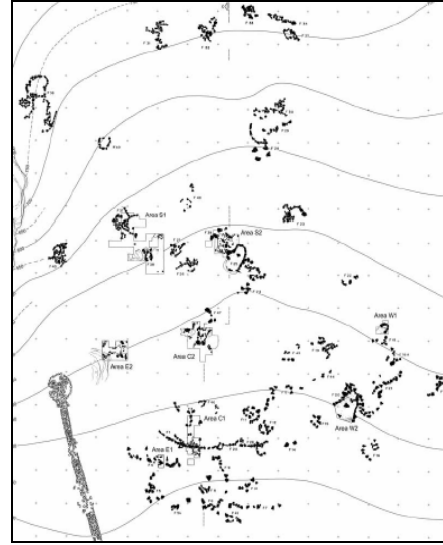
يقترح الباحثون الأثريون أن العصر البرونزي في اليمن بدأ في بداية الألف الثالث ق.م واستمر حتى بداية النصف الثاني من الألف الثانية ق.م، وكان هذا العصر ثابت في جميع المواقع التي اكتشفتها البعثة الإيطالية في خولان الطيال والحداء وفي شمال الجوف وعلى المرتفعات الجبلية القريبة من صنعاء في حضور وريدة (13). ويمثل هذا العصر البدايات الأولى للعمارة في اليمن أي الفترة بين الألف الرابع والثانية ق.م (5).

تشير الدراسات الأثرية إلى وجود تباين اجتماعي في فترة عصر البرونز، ففي المناطق الشرقية وخصوصاً في مستوطنات خولان تم تمييز نوعين اجتماعيين أحدهما يعتمد التخطيط على مستوى الأسرة المستقلة والآخر كان أكثر تنظيماً وتعقيداً مشكل من عدد من الوحدات الأسرية (13). وفي منطقة حضور كانت المستوطنات عبارة عن قرى صغيرة في العصر الحجري الحديث، فيما توسعت المستوطنات في الفترة البرونزية وأصبحت مشيدة بشكل سلسلة مترابطة من الوحدات السكنية مشكلة تخطيط عام لمستوطنات مسورة، فيما كانت الوحدات السكنية تتكون من عدد من الغرف المربعة والمستطيلة يحيط بها جدار دائري مزدوج البناء، ويتسم تخطيط المستوطنات في حضور بنمط هندسي شبكي من شوارع متعامدة (14). وقد شمل عصر البرونز انتشار عدد من المستوطنات في مختلف مناطق اليمن كان أبرزها مستوطنات المرتفعات الشرقية في خولان، والمرتفعات الوسطى في المناطق المحيطة بسهل ذمار. وتؤكد المعايير الأثرية أن في هذا العصر قامت المستوطنات على مستوى القرية والمدينة والتي كان يعتمد اقتصادها على الزراعة؛ وقد كان اختيار مواقع المستوطنات اعتماداً على الحاجة إلى السيطرة على مساحات الأرض الزراعية وتوفر مواد البناء القريبة وإمكانية الدفاع عن المستوطنات (8).

في هذه الفترة، حاكي الإنسان عناصر الطبيعة، وجاء نتاجه الفني والمعماري متمائلاً حيث استلهم تخطيط مستوطناته من الأشكال القريبة من بيئته ومنها أشكال الفخار (الشكل رقم 3)، ودور هذه المحاكاة في البنية الشكلية له دلالات مرتبطة بالماء ودوره كقوة مخصبة في الحياة من زراعة ومصدر حيوي لحياة الإنسان والحيوان والنبات، ومن أبرز النماذج في هذه الفترة مستوطنات خولان، ومستوطنات المرتفعات الوسطى. سيتم اختيار مستوطنة (وادي بناغم 1) كنموذج لعمارة اليمن في عصر البرونز المبكر في مناطق المرتفعات الشرقية، ومستوطنة حيد السواد الشمالي (DS 107) كنموذج لعمارة اليمن في عصر البرونز المبكر في مناطق المرتفعات الوسطى.



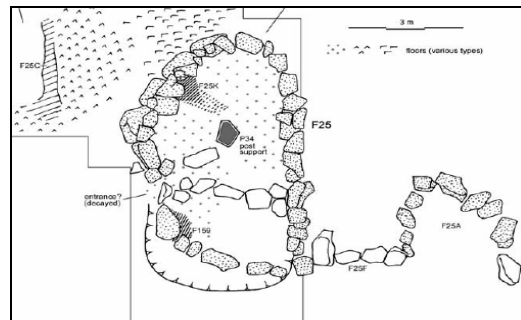
الشكل رقم (3): مستوطنة على شكل جرار الفخار - النجد الأبيض 5 (15).



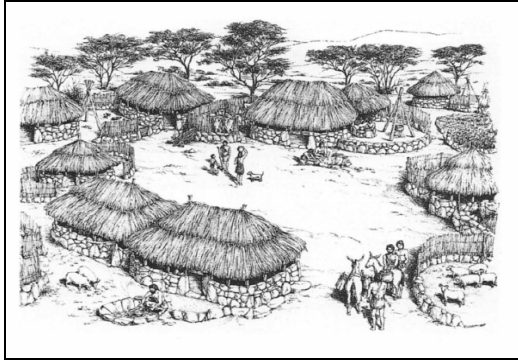
الشكل رقم (1): موقع عام للمستوطنة (6)

ب- مسكن من مستوطنة وادي الثيلة 3:

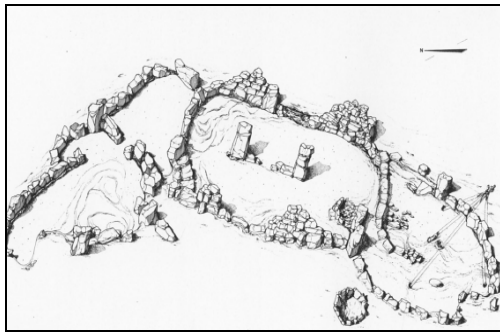
المسكن تحت الدراسة عبارة عن وحدة سكنية بُني أساسها من أحجار طبيعية ثم بُنيت الجدران من الخشب والطين، أما مسقط المسكن فهو أهليجي الشكل يتكون من غرفة واحدة أبعادها 3*5م، يحمل سقفها عمود في الوسط، وغرفة أخرى عبارة عن موقد نار ومكان للطبخ (6) (الشكل رقم 2)، وعملت الأرضيات من الحجر، وزودت بمصاطب حجرية للجلوس في نهاية الغرفة (1). وعليه، فقد عبر النتاج البنائي في تصميمه عن الحالة الاقتصادية والاجتماعية لسكانه، فالشكل الدائري يوحي بعدم الاستقرار والتنقل المستمر للمجتمع، فهو مكون من غرفة واحدة فقط مكاناً للنوم، ولا يوجد أماكن أخرى للخبز أو أماكن لتربية الحيوانات توحى بالاستقرار. ويدعم سقف الغرفة عمود وسطي يعطي تعبيراً عن العمود الذي يدعم السماء، وهذا يذكرنا بالأكواخ الدائرية ذات العمود الوسطي في سيبيريا وأمريكا الشمالية حيث يمثل العمود الوسطي القطب الكوني ويسميه الياد "المركز" (9)، ويدل وجود العمود على معتقد تلك الفترة التي تشكلت من عبادة الخصوبة (10) والروح المتجسدة في الأحجار (11). وإن بُني الشكل الدائري أو البيضواوي كنموذج للتصميم يوحي بأن تبنيه كان مرتبطاً بمفاهيم ورؤى سائدة في المجتمع حول الكون وحركة النجوم والأفلاك في حركة لانتهائية متجددة، وهذا يحيل المعنى إلى أن الدائرة هي أصل الأشياء "العالم الدائري حول كائن دائري" (12)، ويعزز ذلك وجود عمود حجري وسط الغرفة يحمل سقف السكن، وهذا العمود دال لمذلول المركز والمحور الكوني.



الشكل رقم (2): مسقط للمسكن (6)



الشكل رقم (5): منظور للقطاع A (17)



الشكل رقم (6): مسكن من القطاع A (16)

يلاحظ حدوث تطور في النظام الإنشائي للسقف حيث أصبح يستند على عمودين وذلك خلافاً لما كان عليه في مسكن العصر الحجري الحديث الذي كان يستند بعمود واحد. وظهور العمودين يعكس نوعاً من التطور الفكري أيضاً فله دلولات عن قوى الخصب الذكورية والأنثوية فيمثلان الرجل والمرأة عماد الأسرة، كما أن تطور المسكن واضح بزيادة عدد الغرف التي تعكس تطور المتطلبات الوظيفية والمعيشية للمجتمع، وتعكس نوع الاستقرار الذي شهده المجتمع في تلك الفترة؛ فعدد الغرف يوحي بوجود تخصيص وظيفي أكثر من غرف معيشية وأماكن خزن وأماكن لتربية حيوانات.

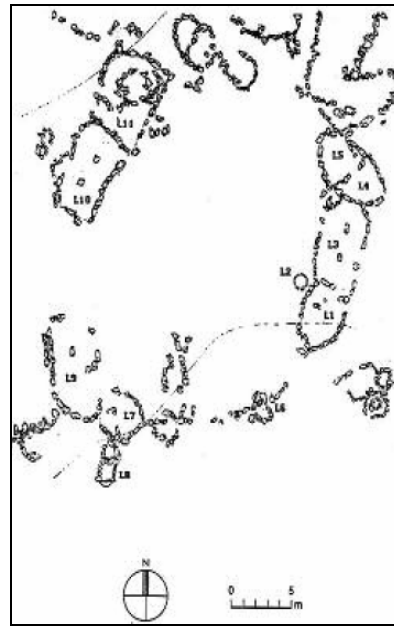
ب- مستوطنة حيد السواد الشمالي (DS 107):

بالاعتماد على الدراسات الأثرية فإن الموقع استوطن في فترتين زمنيتين كانت الأولى في عصر الهولوسين الوسيط والآخرى بعدها (18)، وبالاعتماد على السجل التاريخي فقد وافق العصر الحجري الحديث في اليمن الفترة الرطبة من عصر الهولوسين الوسيط، فيما وافق العصر الحجري الحديث والبرونزي عصر الهولوسين المتأخر (19).

تقع المستوطنة في جبل السواد الشمالي، على بعد 7 كم إلى الجنوب الشرقي من مدينة معبر. وقد أقيمت المستوطنة على لسان جبلي مرتفع ومحصن تحصيناً طبيعياً من ثلاث جهات هي: الشمالية، والغربية، والشرقية فيما تتصل بجبل السواد الجنوبي من جهة الجنوب، وتنتج المدينة بمحور طولي من الجنوب الشرقي إلى الشمال الغربي. وقد أقيمت المستوطنة على مساحة أرض تتجاوز 1,5 هكتار، بميل في مستوى سطح الموقع من الشرق إلى الغرب (الشكل رقم 7).

أ- مستوطنة (وادي يناعم 1):

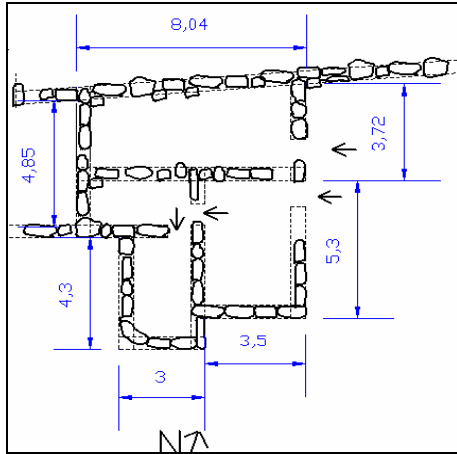
تقع مستوطنة (وادي يناعم 1) في مرتفع صخري على جانب من الوادي حيث يحدها من الشمال طريق صنعاء- صرواح، ومن الشرق والجنوب وادي النجد الأبيض، ومن الغرب جبل العرقوب (16). وقد أخذت في تخطيطها نوعاً من التنظيم الفراغي بحيث تلقت عدد من الوحدات السكنية (تجمعات أسرية) حول ساحة مركزية وسطية تستغل في الاستخدامات العامة للوحدات السكنية المحيطة (الشكل رقم 4)، وهذا الأسلوب من الترتيب يوحي ببداية تنظيم اجتماعي مترابط ومستقل انعكس على النتاج العمراني؛ فيما جاءت بعض الوحدات السكنية منتشرة بصورة غير منتظمة (16)، أما الوحدات السكنية فهي عبارة عن غرفتين وفي بعض الأحيان ثلاث غرف ببيضاوية ترتب بشكل متراس بعضها بجانب بعض ويوجد أمام بعض الغرف موائد للنار ببيضاوية أيضاً تعرف بصغر مساحتها.



الشكل رقم (4): وحدة A من مستوطنة وادي يناعم 1 (17)

يلاحظ في هذه المستوطنة وجود تطور واضح في نمط التخطيط عن مستوطنة (وادي الثيلة 3) في العصر الحجري الحديث، حيث بدأت تتفتح الوحدات السكنية إلى الداخل، مما خلق جداراً أمنياً من الوحدات السكنية يحمي المستوطنات من العوامل المناخية كالرياح والعواصف والأمطار؛ وإن نوعية التخطيط العمراني والمعماري للمستوطنة والمسكن في هذا الفترة وخصوصاً في مناطق المرتفعات الشرقية قد حمل معاني ودلالات عبرت عن المرونة والحركة وعكست الثقافة الاجتماعية والاقتصادية لهذه الفترة.

1- مسكن من مستوطنة وادي يناعم 1: يمثل موقع (وادي يناعم 1) نموذجاً للوحدات السكنية في عصر البرونز، ويمثل القطاع A أكثرها وضوحاً في أسلوب تنظيمه لعدد من المساكن (شكل رقم 5)، حيث يتكون كل مسكن من غرفتين أو ثلاث غرف (16). ومن أهم المساكن في الوحدة A مسكن يقع في الجهة الشرقية من الساحة، وهو عبارة عن مسكن من ثلاث غرف رتب بشكل زاوية قائمة؛ وقد بُني أساس المسكن من أحجار كبيرة غير مهذبة، بينما بُنيت الجدران بالحجر والطين، ويحمل السقف عمودان حجريان يتوسطان الغرفة الكبيرة المخصصة للمعيشة (شكل رقم 6).



الشكل رقم (8): مسقط أفقي للمسكن (الباحث)



الشكل رقم (9): صورة من الجهة الشمالية للمسكن (الباحث)

عصر البرونز في الألف الثاني ق.م

حصل نهاية الألف الثالث وبداية الألف الثاني ق.م تطوراً واضحاً في تخطيط المدن، فقد أصبحت المدن أكبر حجماً وأكثر تنظيماً في شوارعها ومكوناتها العمرانية، وظهرت مدن كبيرة في مناطق المرتفعات الوسطى في سهل دمار، ومنها مستوطنات حمة القاع والتي سوف نأخذها كنموذج لهذه الفترة.

أ- مستوطنة حمة القاع (DS 101):

تقع المدينة إلى الشرق من قاع جهران وإلى الشمال الشرقي من مدينة دمار، وتحل تلة جبلية ذات سطح شبه مستو يرتفع 50م على مستوى سطح الوادي، حيث تحيط بها الأراضي الزراعية من كل الجهات، وقد ارجع الباحثون تاريخ الاستيطان في المدينة إلى الألف الثالث ق.م (20). تتميز المدينة بكونها تعتبر البداية الأولى في تطور المدن اليمنية القديمة، حيث تحوي المدينة في بنيتها مقومات المدن الأساسية كالسور، والبوابات، والشوارع الرئيسية والفرعية، والساحات، والتقسيم المورفولوجي إلى حارات؛ كما يظهر من خلال البقايا والجدران البارزة على السطح احتواؤها على أماكن لحزن المياه. وقد تركزت الكثافة السكانية في الجهة الأكثر ارتفاعاً - الجهة الشمالية الشرقية - ونقل مع ميل مستوى التل انخفاضاً من الجهة الشمالية الشرقية إلى الجنوبية الغربية، كما أن أغلب المساكن تنحدر من الجهة الشمالية الشرقية إلى الجنوبية الغربية وذلك على المحور الطولي لها، متماشية مع سور المدينة والميل الطبوغرافي.



الشكل رقم (7): منظر عام للمستوطنة من الجنوب (الباحث)

وتنقسم المدينة إلى جزأين شمالي وجنوبي حيث الجزء الشمالي كان الأقدم استيطاناً، ويمتد حتى السور الذي يفصل المدينة شمالاً وجنوباً. ويتكون نسيج المدينة من خطوط مستقيمة للشوارع وجدران المساكن، ويوجد أمام كل مسكن مستطيل ساحة خارجية كبيرة، ويظهر الجزء الجنوبي للمستوطنة والذي يمثل الأحدث أكبر من الجزء الشمالي ووحدات السكن فيه مستطيلة وكبيرة وشوارعها مستقيمة تحتوي على فراغات مفتوحة كبيرة تمتد من الشرق إلى الغرب، ونتيجة لموقع المستوطنة على مرتفع شديد الانحدار من جهات الشمال والشرق والغرب فقد أقيم السور في المناطق غير المحصنة في الجنوب فيما تشكل سور الجهة الغربية من جدران المساكن الخارجية، ويبلغ عرض السور 1,7م في الغرب، وللمستوطنة بوابتان رئيسيتان في الركن الجنوبي للضلع الغربي وثالثة ثانوية في الجهة الشرقية، ويبلغ عرض البوابة الغربية 7م تشكلت بين مبنين تؤدي إلى ساحة كبيرة ومنها إلى بوابة أخرى تنحدر شمالاً تؤدي إلى داخل المستوطنة.

يشير نسيج المستوطنة الحضرية والذي اعتمد على النظام الشبكي المتعامد في خطوطه تبايناً كبيراً مع نظم تخطيط مستوطنات المرتفعات الشرقية ومنها وادي يناعم الذي يعتمد على نظام الساحات الدائرية التي تتوسط مجموعة من الوحدات السكنية، وعليه فقد عبر النتائج البنائية في تصميمه عن الحالة الاقتصادية والاجتماعية لسكانه والذي يوحي باستقرار المجتمع واعتماده على الإنتاج والزراعة.

1- مسكن من مستوطنة حيد السواد (DS 107):

يقع المسكن في الجزء الشمالي من مستوطنة حيد السواد الشمالي محاذياً لمسكن مستطيل يقع في الجهة الغربية، وقد خطط المسكن بشكل مستطيل بخطوط مستقيمة بحيث يتكون من أربع غرف ثلاث منها في الجهة الغربية وغرفة مستطيلة كبيرة تحتل الجهة الشمالية (الشكل رقم 8)، وتوجد أمام المسكن في الجهة الشرقية ساحة خارجية كبيرة. هذا ويتجه المبنى بأضلاع إلى الجهات الأصلية بميل بسيط في زواياه، وله مدخل يقع في الجهة الشرقية، فيما يتجه المسكن المستطيل الذي يوجد في الغرب باتجاه شرق-غرب، وله مدخلان في الجهتين الجنوبية والشمالية. والمدخل عبارة عن صخرتين كبيرتين تمثل عضادات للباب، وفي هذا يشير سيرنج أن هذا النوع من الأبواب يمثل امتحاناً تلقينياً للبحث عن بلد متساعد ومحرراً زوجاً من الثنائية، وإلى العبور إلى عالم آخر (9). ويعكس تخطيط المسكن الحالة الاقتصادية والاجتماعية للمجتمع، فالشكل المستطيل والخطوط المستقيمة توحي باستقرار المجتمع، وأن نظام التسقيف مستوي يختلف عن نظام الانشاء والتسقيف الذي ساد في المرتفعات الشرقية؛ كما أن تنظيم المسكن وظيفياً أكثر تنظيماً وتعقيداً بوجود عدد من الغرف تستخدم لوظائف متعددة تلائم التنظيم الاقتصادي والاجتماعي لمجتمع مستقر (الشكل رقم 9).

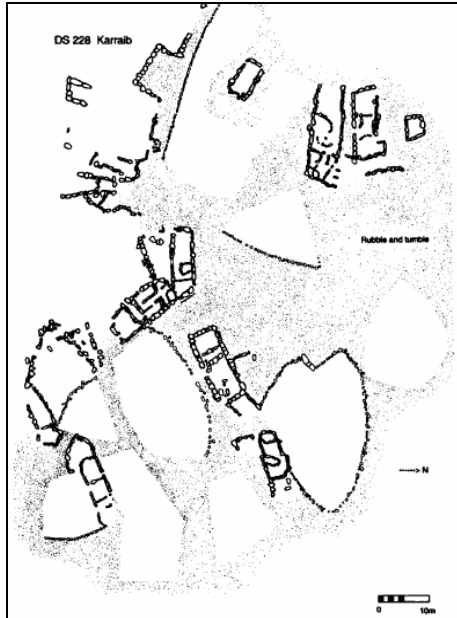
وخططت أغلب مساكن المدينة بشكل مستطيل وذات زوايا شبه قائمة، فيما أخذت مساقط بعض المساكن الشكل الدائري وانتشرت بصورة غير منتظمة داخل نسيج المدينة، وتحوي المدينة عدداً من الوحدات السكنية التي تشترك في فراغ وسطي تفتح عليه مداخل المساكن، بحيث يتجمع عدد من المساكن ملتفة أو مترصة حوله، ويتشكل الفناء من المباني بحيث تسد الفراغات البينية بالجدران، ويكون المسكن من غرف مستطيلة تمتد أكثر من 20م، وهي مقسمة بجدران داخلية تلائم الوظائف المطلوبة للسكان.

نهاية عصر البرونز

تمتد هذه الفترة من منتصف الألف الثاني ق.م وحتى الربع الأخير من الألف الثاني ق.م؛ وتشكل مرحلة تطورية متقدمة حيث ظهرت مدن كبيرة في مناطق المرتفعات الوسطى في سهل ذمار وخاصة مستوطنة الهواجر جنوب شرق معبر ومستوطنة الخريب في خربة أفيق شرق قاع شرعة. سوف نأخذ مستوطنة الخريب في خربة أفيق كنموذج لهذه الفترة.

أ- مستوطنة الخريب (1200 ق.م):

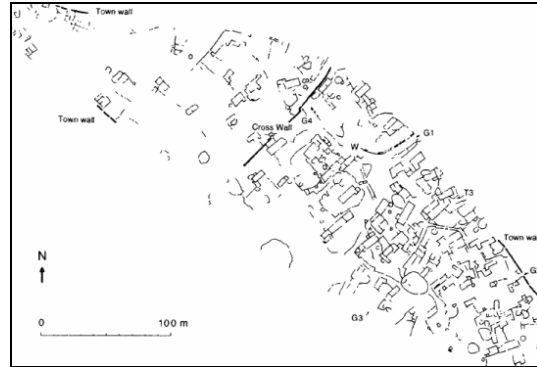
تقع المستوطنة جنوب شرق قرية خربة أفيق الحالية، على سطح جبلي مرتفع عن الوادي يسمى الخريب. تؤكد الدراسات الأثرية أن الموقع استوطن في الفترة الأخيرة من عصر البرونز بتاريخ 1200 ق.م وذلك اعتماداً على قياسات الكربون المشع، ويمثل مرحلة انتقالية من عصور البرونز إلى العصر الحديدي (21)، وتشمل المستوطنة عدداً من المباني السكنية المنتشرة في الموقع، تتخللها مساحات مفتوحة كبيرة (الشكل رقم 12)، أما الوحدات السكنية فهي عبارة عن مساقط مستطيلة مقسمة بواسطة ممر مركزي، وتمثل هذه النماذج بداية التحول إلى الأشكال المستطيلة ذات الممر الوسطي الذي ظهر في فترة الممالك اليمنية القديمة، كما تميزت بوجود بؤر تخطيطية تتخلل نسيج المدينة.



الشكل رقم (12): موقع لمستوطنة الخريب (21)

يتميز نسيج المدينة بالدمج بين الخطوط المستقيمة والمنحنية المتشكلة من جدران المباني المستطيلة والبيضاوية والشوارع المستقيمة والمنحنية والأماكن المفتوحة (الشكل رقم 10). فيما اتجه النمو المورفولوجي للمدينة من الشرق إلى الغرب، حيث بدأ التجمع السكاني الأول للمدينة في المنطقة الشرقية للمدينة وخصوصاً في الجزء الشمالي الشرقي. ومن خلال تحليل بنية المدينة في نموها وتوسعها يتضح أنها بدأت من الشرق متجهة إلى الغرب وذلك تماشياً مع حركة الشمس ودورتها اليومية وهو تعبير للخصب. ومن خلال الموقع العام للمدينة تظهر الشوارع الكبيرة الرئيسية في اتجاه نمو المدينة من الشرق إلى الغرب بحيث تتقاطع معها مجموعة كبيرة من الشوارع والأزقة الفرعية التي تتخلل المباني مع اتجاه الميل الطبوغرافي للموقع، والشوارع الرئيسية الكبيرة تبدأ من البوابات وتخترق المدينة إلى بوابة أخرى، ويتخلل النسيج العمراني عدد من المساحات والمنافس المفتوحة بعضها يتجاوز في العرض 10م. ويتم الوصول إلى المدينة عبر مسالك صاعدة في المنحدر، والدخول إلى المدينة نفسها عبر أربع بوابات اثنتان في الجهة الشمالية الشرقية، وواحدة في الجهة الجنوبية الغربية، وواحدة في السور الوسطي للجهة الشمالية الغربية (20).

لقد بني سور المدينة بعرض 1.8م من أحجار بازلت في صفين على حافة المنحدر، والجدار الوسطي بسمك 1.4م (20) (الشكل رقم 11). وفضلاً عن وظيفة الأسوار الدفاعية، فإنها تحمل معاني رمزية ضد قوى الشر من الأرواح والكائنات غير المرئية، وتجسد فكرة الحمى والتطويق حول المكان المراد حمايته من تلك القوى.



الشكل رقم (10): موقع عام لحمة القاع (20)



الشكل رقم (11): السور الذي يتوسط المدينة (الباحث)

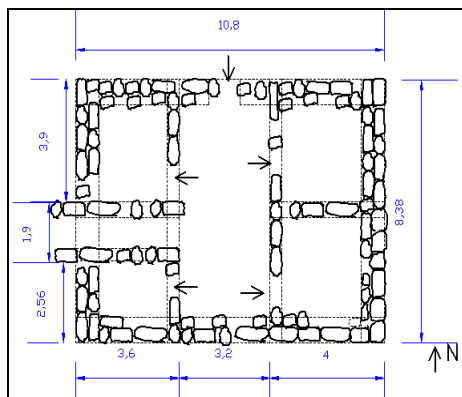
الساحات والشوارع العريضة، والمساكن ذات المساط المستطيلة، ويحيط بكل مسكن سور حجري.

ب- مسكن من مستوطنة عرن عمر (DS 82):

مثلت عمارة مستوطنة عرن عمر تطوراً واضحاً عن الفترات السابقة، كما أنها ليست على مستوى عمارة الفترات التاريخية اللاحقة، فنسيجها البنائي مكون من وحدات سكنية مستطيلة الشكل تتكون من عدد من الغرف على جانبي ممر وسطي. لقد قمنا بدراسة وحدة سكنية تقع في الركن الجنوبي الغربي من الموقع، يحيط بهذه الوحدة ساحة كبيرة من جميع الجهات، وهناك على ما يبدو بقايا جدران كانت تشكل سوراً بطوق الوحدة السكنية والساحة. لقد خُطط المسكن بشكل مربعاً يتجه أضلاعه باتجاه الجهات الأصلية مع ميل بسيط، وقسم مسقطه إلى عدد من الغرف يتوسطها ممر بمحور جنوب-شمال، وقد تميز بناء الجدران باستخدام أحجار كبيرة تم معالجتها نوعاً ما بطريقة أفضل من مساكن نهاية عصر البرونز، كما أنها ليست بالدقة التي عولجت بها أحجار البناء في الفترة التاريخية، مما يوحي وجود تطور معماري، كما أن الجدران مبنية بطريقة مزدوجة وبسمك 80سم للجدار الخارجي، وهذا السمك الكبير يطرح احتمالية وجود دور علوي (الشكل رقم 15).



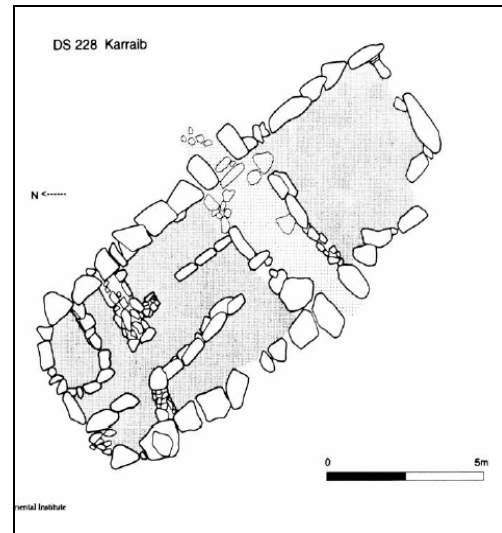
الشكل رقم (14): درج المنحدر الغربي (الباحث)



الشكل رقم (15): مسقط المسكن - مستوطنة عرن عمر (الباحث)

ب- مسكن من مستوطنة الخريب:

يقع المبنى في القطاع الأوسط من مستوطنة الخريب-خربة أفيق. بحيث تتجه أركان المبنى إلى الاتجاهات الأصلية بمحور طولي جنوب شرق-شمال غرب. خُطط المسكن بشكل شبه مستطيل بأبعاد 13.9م طولاً، و5.4م عرضاً، حيث يتكون النصف الشمالي من المبنى من خمس غرف، أما النصف الجنوبي من المبنى فهو عبارة عن فناء كبير بأبعاد 4.8م، و5.4م؛ وعرض الممر الوسطي 2.5م وهو عبارة عن ممر مفتوح من طرفيه (الشكل رقم 13)، كما يوجد ممر آخر في نصف المبنى الشمالي يتجه باتجاه جنوب-شمال تفتح عليه جميع الغرف من الجانبين، وفي الجزء الشمالي غرف بيضاوية صغيرة ربما كانت أماكن تخزين (22). وبُني جدار المسكن الخارجي بأحجار فقاعية ضخمة، فيما بنيت القواطع الداخلية بأحجار أقل حجماً، ويتميز مسقط المسكن بشكله المستطيل والمقسم إلى غرف تخدم التطور المعيشي والأسري، فيمثل نمودجا متطوراً عن الفترات الزمنية السابقة. للمسكن مدخلان يقعان في الشرق والغرب وهما عبارة عن فتحة بين حجريين بارزين للخارج عرضها 1م. وفي هذا النموذج ظهر المحور الأفقي الذي تنتوزع الغرف على جانبيه، وعليه فقد مثل هذا المسكن نمودجا انتقالياً، ويمثل بداية ظهور وتبلور النموذج الذي سيصبح النموذج الأمثل في فترات العصور التاريخية لما قبل الميلاد وبعده.



الشكل رقم (13): مسقط أفقي للمسكن (22)

العصر الحديدي

هي الفترة الممتد من نهاية الألف الثانية إلى بداية الألف الأولى ق.م، حيث تميز الفخار فيها واختلف عن الفخار في العصر البرونزي وعن الفخار السبئي في عصر الممالك في الفترة التاريخية، وقد أخذت القراءات الكربونية التي حددت بدايته إلى نهاية الألف الثانية ق.م وربما كانت في 1200 ق.م (5).

أ- مستوطنة عرن عمر (DS 82):

تقع المستوطنة في شرق مدينة زمار، وعلى بعد 1كم شرق قرية باب الفلاك، في هضبة بركانية مستوية السطح. تعود المستوطنة إلى العصر الحديدي حيث يندر وجود فخار حميري على سطح الموقع (23). وتنتشر المباني الحجرية على خمسة مواقع. ومن الملاحظ أن المدخل الرئيسي كان في الجهة الغربية حيث يصل إلى الموقع عبر درج حجري عرضه 3م على المنحدر (الشكل رقم 14). ومساحة المواقع 15-20 هكتار، يتخلل المستوطنة عدد من

التطور

التطور المعماري والرمزي في فترة ما قبل التاريخ:

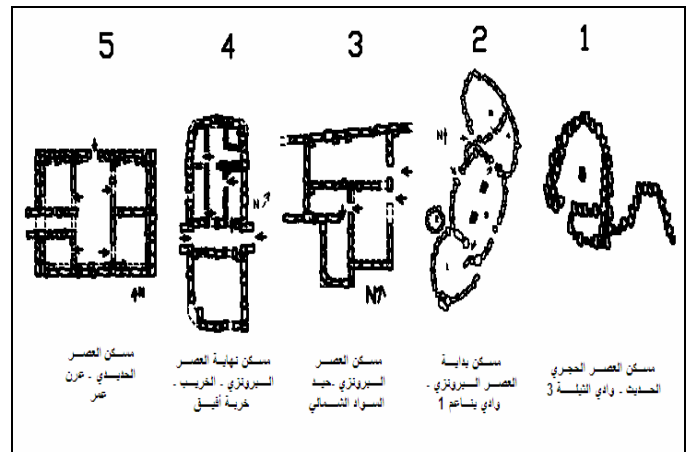
ظهرت في العصر الحجري عدد من المستوطنات الصغيرة لأسر بمفردها كانت مساكنها بمساقط ذات تخطيط بيضاوي، وتبنى بأحجار غير مشدبة تم تجميعها من المواقع القريبة، بحيث تبنى من الأحجار في الأسفل ثم يتم استخدام الأشجار في الجدران التي تحمل السقوف ويتم تدعيم الفراغات المعيشية بواسطة عمود في وسط الفراغ. وفي عصر البرونز تطور الفكر المعماري الذي عادة ما يستجيب لمتطلبات اجتماعية وأمنية واقتصادية، فظهرت المستوطنات الكبيرة التي تحمل مقومات المدينة من سور وبوابات وشوارع وساحات، ترافق ذلك مع تطور في تصميم الوحدات السكنية التي انتقلت في تخطيطها من الدائري إلى المربع والمستطيل، حيث تطور المسقط البيضاوي الذي يتكون من فضاء احادي في العصر الحجري الحديث، إلى مسقط بيضاوي متعدد الفضاء في المرتفعات الشرقية ترافق مع مسقط مستطيل متعدد الفضاء في المرتفعات الوسطى، ثم انتقل في نهاية عصر البرونز إلى مسقط مستطيل متعدد الفضاء يحوي ممر وسطي موزع، وجاء هذا الشكل -المستطيل ذو الرواق الوسطي- أكثر اتقاناً في العصر الحديدي. هذا وقد استغل الإنسان اليمني القديم ما توفر بجواره من مواد بنائية مثل الطين والحجر والخشب، لتنفيذ مخططات سكنية تلائم متطلبات حياته، واستمد أفكاره وتقنياته بنائه من الطبيعة المحيطة واستقاده منها في بلورة أفكاره، فجاء تخطيط المستوطنات والسكن وبالشكل الدائري الذي يحاكي الطبيعة، وحركة الكون اللامتناهية وذلك خلال العصر الحجري الحديث والعصر البرونزي، لذا فقد حملت الأشكال الدائرية التي تشكلت منها عمارة اليمن القديم في فترة قبل العصور التاريخية دلالة على الديمومة والاستمرارية من خلال طابع التكوين والحركة، فعكست هذه الأشكال طبيعة المجتمع والتفكير السائد في وقته، وهي كبنى رمزية تميل إلى التجديد والاختزال وذات دلالات رمزية متعددة. وبشكلها المنحني تعكس الجوانب الأمنية المطلوبة من خلال التطويق والإحاطة والانفتاح للدخل.

المصادر

1. ويلكنسون، ت، وايديز، ك، وغيبسن، م. (2001). آثار المرتفعات اليمنية-تسلسل زمني تمهيدي، ص 97-185، (من كتاب) دراسات في الآثار اليمنية. ترجمة ياسين الخالصي، المعهد الأمريكي للدراسات اليمنية.
2. Doe B. (1971). Southern Arabia. Thames and Hudson, London.
3. ونس، احمد عمر. (2008). تهامة في التاريخ القديم: الألف الثالث قبل الميلاد إلى منتصف الألف الأول قبل الميلاد، دراسة تاريخية أثرية. رسالة ماجستير (غير منشورة)، جامعة عدن.
4. الشعبي، محمد. (1998). اليمن الظاهرات الطبيعية والمعالم الأثرية، دراسة تطبيقية ومنهجية. ط1، دار الكتاب العامة، صنعاء.
5. حنشور، أحمد. (2007). الخصائص المعمارية للمدينة اليمنية القديمة. رسالة دكتوراه (غير منشورة)، كلية الآداب- جامعة عدن.
6. Fedele FG. (2008). Wādī at-tayyilāh 3, a Neolithic and Pre-Neolithic occupation on the eastern Yemen Plateau, and its archaeofaunal information. Proceedings of the Seminar for Arabian Studies. 38: pp153-172.
7. غالب، عبده عثمان. (1993). تقرير مبدئي عن المسح والتنقيب في منطقة بدبدة. مجلة التاريخ والآثار. 1: 10-21.

تطور الفكر التخطيطي في اليمن القديم، ومر عبر مراحل انتقالية تاريخية، حيث بدأت تظهر المستوطنات الصغيرة المنتشرة في تكويناتها البنائية في العصر الحجري الحديث، وفي العصر البرونزي انتقل الفكر التخطيطي نقلة نوعية حيث تميزت مستوطناته بالتخطيط، وتميز عمراتها بظهور ثقافتين، إحداهما في المرتفعات الشرقية، والأخرى في المرتفعات الوسطى، فجاءت مستوطنات المرتفعات الشرقية صغيرة، فيما جاءت مستوطنات المرتفعات الوسطى كبيرة وأكثر انتظاماً؛ وكان النسيج الحضري لمدينة المرتفعات الشرقية مركزياً (نواة) تلتف الكتل البنائية حول ساحة وسطية، فيما كان النسيج الحضري لمدينة المرتفعات الوسطى شبيكياً تتخلل الكتل العمرانية شوارع مستقيمة.

شهد تصميم المسكن تطوراً ملحوظاً خلال الفترات المتعاقبة، شمل ذلك تطور كل من الفكر التصميمي والإنشائي والرمزي؛ ففي البداية سكن الإنسان اليمني الكهوف وكانت بالنسبة له تمثل الرحم الذي خرج إلى الدنيا منه، ثم بدأ الإنسان تدريجياً يبنى مسكنه خارج الكهف، وذلك باستخدام الحجر الخام غير المشدب كدالا لمدلول عظام الأرض الأم، حيث كان الإنسان في ذلك الوقت مستهلكاً للبيئة غير منتج لها، ثم أصبح يعدل في عوامل البيئة محاكياً بذلك استغلال وتعديل البيئة الزراعية والإنتاج. هذا وقد تم تخطيط المسكن في فترة العصور الحجرية بشكل بيضاوي يحمل في طياته فكراً وروى فلسفية كانت سائدة، فهذا الشكل جاء كمحاولة تجسدية لمفاهيم وتصورات تعكس رؤية المجتمع للكون، فجاء المسقط دائرياً كتعبيراً للحركة التي تحيط بعالمه من نجوم وكواكب ومواسم، فرى نفسه جزءاً من هذا الكون الذي ينبغي عليه الانسجام مع قوانينه وسلوكه، فالأرضية تشير إلى الأرض والعمود الذي يسند السقف يشير إلى العمود الكوني الذي يسند السماء. وفي العصر البرونزي حدثت نقلة واضحة في تصاميم المساكن، حيث بدأ يحل الشكل المستطيل والمربع محل الشكل البيضاوي والدائري وذلك دلالة على بداية استقرار الإنسان واعتماده على الزراعة والاستقرار، وبدأت التقسيمات الوظيفية تظهر كقواطع داخلية للغرف، وظهر المسكن متعدد الفضاءات كما في وادي ينام 1، وتطور بعد ذلك إلى المسكن ذي الزوايا القائمة كما في مواقع حمة القاع وحيد السواد الشمالي، وجاء هذا التطور موازياً لزيادة خبرة الإنسان بالأساليب الإنشائية وتواكبا مع زيادة المتطلبات المعيشية والاجتماعية، وظهر بوضوح المسكن ذو الفضاءات المتعددة الذي تنظم فيه الغرف حول ممر مركزي كنموذج أول للمسكن المستطيل ذي الممر الوسطي في نهاية عصر البرونز في موقع الخريب شرق مدينة ذمار. وفي العصر الحديدي الممتد من الألف الثاني إلى الألف الأول ق.م، أصبحت المساكن أكثر تصميمياً حيث بدأت تظهر فكرة الفراغ الموزع، وأصبح المسكن يتشكل من عدد من الغرف (الشكل رقم 16).



الشكل رقم (16): تطور المسكن اليمني خلال فترة ما قبل التاريخ المدون (الباحث)

8. إدريس، جمال الدين.(2007). قراءة في عصور ما قبل التاريخ حول نشأة المدينة في مرتفعات اليمن الوسطى. مجلة حولية الآداب، كلية الآداب جامعة عدن. 4: 281-298.
9. سيرنج، فيليب.(1992). الرموز في الفن والأديان والحياة. ط1، ترجمة عبد الهادي عباس، دار دمشق.
10. العريفي، منير. (2002). الفن المعماري والفكر الديني في اليمن القديم من 600/1500 ق.م. ط1، مكتبة مدبولي، القاهرة.
11. الجرو، أسمهان.(2003). دراسات في التاريخ الحضاري لليمن القديم، دار الكتاب الحديث، عدن.
12. Bachelard G. (1996). La terre et la rêverie du repos, Tunis, Editions CERES.
13. دي مغريه، الساندرو. (1999). عصر البرونز في المرتفعات. من كتاب: اليمن في بلاد ملكة سبأ، ترجمة بدر الدين عروكي، معهد العالم العربي، دمشق. ص 34-39.
14. غالب، عبده عثمان. (1995). نتائج المسح الأثري في منطقة حضور همدان 1993-1995م. مجلة الإكليل. 23: 210-223.
15. Buffa V.(2007). ARCHÄOLOGISCHE BERICHTE AUS DEM YEMEN. BAND XII, DEUTSCHES ARCHÄOLOGISCHES INSTITUT SANAÄ.
16. دي مغريه، الساندرو. (1990). حضارة العصر البرونزي في خولان الطيال والحداء. البعثة الإيطالية للأثار في الجمهورية اليمنية، ترجمة عثمان الخليفة ومالك أبره، التقرير الأول.
17. De Maigret A.(2002). Arabia Felix: An Exploration of the Archaeological History of Yemen, Stacey International, London.
18. Wilkinson TJ.; Edens C. and Gibson M. (1998). The archaeology of the yemen high plains: a preliminary chronology, the oriental institute university of Chicago, sanaa.
19. إيدنز، كريستوفر ويلكنسون.(2001). جنوب شبه الجزيرة العربية في العصر الجيولوجي الحديث. (من كتاب) دراسات في الآثار اليمنية، ترجمة ياسين الخالصي، المعهد الأمريكي للدراسات اليمنية. ص 1-97.
20. Wilkinson TJ.; Edens C. and Barratt G. (2001). Hammat al-Qa: an early town in Southern Arabia. proceeding of the seminar Arabia studies. 31: pp 249-259.
21. Wilkinson TJ. and Gibson M. (1998). Dhamar project. The Oriental Institute. Annual report, oi.uchicago.edu, pp 39-50.
22. Edens C. (1999). The Bronze Age of Highland Yemen: Chronological and Spatial Variability of Pottery and Settlement. Paléorient. 25:105-128.
23. Barbanes E. (2000). Domestic and Defensive Architecture on the Yemen Plateau: Eighth Century BCE–sixth Century CE. J. Arab. Archaeol. Epigraph. 11(2): 1120-1131.

N.B The views expressed in this issue are of the authors and do not necessarily reflect the views of the Editorial Board or the policies of the International Centre.

Copyright © 2014 by the International Centre for Advancement of Sciences and Technology.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced or copied in any form or by any means without prior written permission from the Editor-in-Chief of the Journal.