الباب التاسع

أبحاث السمية الرئوية و الاستنشاق

obeikandl.com

obeikandl.com

أبحاث السمية الرئوية و الاستنشاق

يجب و أن يشمل تصميم تجارب أبحاث السمية بالاستنشاق نفس الظروف التي تعامل لتجارب السمية و التي تعطي فيها المادة المختبرة خلال طريق القناة التنفسية تحت الظروف القياسية و الموحدة التالية :

- **أختيار الأنواع الشائعة الإستخدام** و التي تتضمن الفئران بنوعيها (Mouse & rats) والجرذان (Hamster) و خنازير غنيا (Guinea pig) و الكلاب .
- **اختيار الجنس**(Sex) وغالبا ما يستخدم الجنسين وذلك لتفاوت درجة الاستجابة بينهما .
- **حجم المجموعة المختبرة** وغالبا ما تكون عشرة حيوانات /جنس / مجموعة مختبرة من المجموعات الأربعة (ثلاث مجموعات معاملة بنفس التركيز و مجموعة غير معاملة تمثل الكنترول) في الدراسة لمدة تسعون يوما . أو تكون خمسون حيوان / جنس /مجموعة وذلك في الدراسة المزمنة .
- **معايير الدراسة** كوزن الجسم ثم وزن الأعضاء ومعدل استهلاك (Food consumption) و الملاحظات السريرية والاختبارات الهيماتولوجية والبيوكيميائية والوظيفية و دراسة الحالة المرضية لكل عضو .

و بالنسبة للأبحاث لأغراض تسجيل المواد الكيميائية و العقاقير المختلفة (Registration) فعادة ما تنفذ طبقا لمنظمة التعاون الاقتصادي والتنمية (Organization for Economic Cooperation & Development : OECD) والتي تقسم الطرق المختلفة في البحث ودراسة السمية إلي :

١. **سمية حادة (Acute poisoning)** : حيث يتم فيها التعريض لفترة أقل من ٢٤ ساعة .
٢. **سمية تحت حادة (Sub acute Poisoning)** حيث يتم فيها التعريض لفترة ٢-٤ أسبوع .
٣. **سمية شبه مزمنة (Sub chronic poisoning)**: حيث يتم فيها التعريض لفترة ١٣ أسبوع (أي تسعون يوما)

٣. **سمية مزمنة (Chronic poisoning)** : حيث يتم فيها التعريض لفترة ٧٨ أسبوع (٥٤٦ يوم) إلي ١٣٠ أسبوع (٩١٠ يوم)

١-السمية الحادة بالاستنشاق(Inhalation Acute Toxicity) :

و فيها يتم تعريض الكائن الحي المختبر لفترة أقل من ٢٤ ساعة . وتعبر هذه الاختبارات عن السمية أو التأثيرات الضارة الكلية (Total harmful effects) و الناتجة عن المادة موضع الاختبار كنتيجة لتعريض مفرد (Single) خلال فترة تعريض بالاستنشاق غير متقطعة (Un interrupted period) أقل من ٢٤ ساعة .

و يكون الغرض من دراسة السمية الحادة بالاستنشاق هو الوقوف علي السمية الحادة لمادة ما بالنسبة لمادة أخري والحصول علي حركية (كينيتيكية) آلية فعلها و التي تظهر هذه المادة من خلالها تأثيرها .

و تخدم بيانات السمية المتحصل عليها لهذه المادة كأساس (كقاعدة) يرتكن إليها عند قياس المخاطرة النسبية لصحة الإنسان .

و الاختبارات شائعة التنفيذ هنا هي :

١-١-اختبار حدود السمية (Toxicity Limit test) : وهي أكثر الإختبارات إستخداما و يتميز باستخدامه التركيز (Concentration : C) و الوقت (Time :T) وهو في العادة أربعة ساعات حيث تراقب الحيوانات بعد المعاملة لمدة أربعة عشرة يوم .

١-٢- اختبار تعين التركيز القاتل لنصف عدد الأفراد (Lethal concentration 50 : LC_{50}) وهو أكثر الاختبارات استخداما و يتميز باستخدامه التركيز (Concentration : C) و الوقت (Time :T) .

و أي اختبار لتعين التركيز القاتل لنصف عدد الأفراد (LC_{50}) عادة ما يبدأ باختبار محدود إذا ما كان تقنيا : إذا كان أعلي تركيز محتمل أقل من ٥٠ % موت يكون موجود في مجموعة من حيوانات التجربة ، أو إذا كان عند أقصي تركيز ٥ مللج من المادة / لتر هواء فلا يكون هناك موت نتيجة التعريض ، و إذا كان الموت ٥٠ % أو أكثر فعلي الأقل مجموعة أو أكثر

تعرض لتركيزات مختلفة . حيث تقدر التركيز القاتل للنصف بعد ذلك حسابيا مع تقدير حدود الثقة عليها .

ولا تستخدم قيم التركيز القاتل للنصف فقط لتقسيم المركبات والسموم البيئية و الملوثات إلي أقسام مختلفة من حيث مراتب (Category) أو درجات السمية بالاستنشاق و لكن أيضا كأساس لأبحاث متقدمة في السمية .

١-٣-اختبار المخاطرة بالاستنشاق (Inhalation hazard test):

وفيه يستمر التعريض سبعة ساعات ولإجراء الإختبار في الغلاف الجوي (Atmosphere) تستخدم أوعية تبخر قياسية (Vessel) و التي دائما ما تحتوى على نفس الحجم من كل مادة مختبرة ويحفظ وعاء التبخر على درجة حرارة ٢٠°م فإذا ما مد الوعاء بحجم ثابت من الهواء(Fixed air volume) فان المكونات المتطايرة بالمادة المختبرة تتبخر .

أما في حالة المواد الصلبة فان الجسيمات الدقيقة تحمل أيضا مع تيار الهواء ويقدر تركيز المواد بدرجة تطايرها أما في حالة المواد الصلبة هذه فيقدر تركيزها من خلال صفاتها الطبيعية والمتعلقة بتكوين الايروسول . وتشير نتائج الاختبار فقط عما إذا كانت المادة المختبرة تعد خطر استنشاقي أم لا.

١-٤-اختبار تقدير العلاقة بين التركيز - الوقت (Conc.-Time relationship):
و اختبار تقدير العلاقة بين التركيز-الاستجابة(Conc.-Response relation ship):

بالرغم من أن قيم التركيز القاتل للنصف تعطى معلومات عن السمة الحادة بالاستنشاق وتتطور طرق الاختبار بحيث تمد بمعلومات اكثر مطابقة ومناسبة لهذا الصدد . ولقد أظهرت التجارب الحالية بأنه ما إذا كان كل من وقت التعريض والتركيز مختلفين وأثنين من الحيوانات المختبرة بدلا من عشرة تعرض لكل مجموعة فمن المتفق أن معلومات اكثر يتم الحصول عليها من نفس العدد من الحيوانات المختبرة . وعلاقة التركيز - الوقت و التركيز - الاستجابة سيتم مناقشتها فيما بعد .

٢-اختبارات السمية شبه الحادة وشبه المزمنة والمزمنة بالاستنشاق :

تشمل اختبارات السمية شبه الحادة وشبه المزمنة والمزمنة بالاستنشاق التأثيرات الضارة والناتجة عن المواد الكيميائية والملوثات والسموم البيئية كنتيجة للتعرض بالاستنشاق اليومي المتكرر (Repeated Daily Inhalation Exposure) .

وتضمن دراسات السمية **شبه الحادة** التعريض لفترة أكثر من يوم وحتى شهر وغالبا ما تكون١٤-٢٨ يوم

وتضمن دراسات السمية **شبه المزمنة** التعريض لفترة أكثر من شهر وحتى فترة لا يفضل وان تزيد عن ١٠ % من فترة حياة الحيوان التجريبي المتوقعة وعليه فغالبا ما تكون ٩٠ يوما .

وتضمن دراسات السمية **المزمنة** التعريض لفترة تتراوح بين ٧٨ -١٣٠أسبوع أي يستمر البحث لفترة أكثر من ١٠% من فترة حياة الحيوان التجريبي المتوقعة .

وخلال فترات التعريض السابقة فإن الحيوانات عادة ما تعرض لمدة ٦-٧ ساعة /يوم ولمدة خمسة أيام/ أسبوع .

و اختبارات السمية المزمنة بالاستنشاق يمكن و أن تقسم إلي :

- اختبارات سمية مزمنة (Chronic Toxicity tests)
- اختبارات سرطانية (Carcinogenecity tests)
- **اختبارات مشتركة (سميه مزمنة /سمية سرطانية)**

ويكون الهدف من هذه الاختبارات هو :

- الوقوف علي طبيعة الخطر للمادة الكيميائية المختبرة عقب

إعادة التعريض بالاستنشاق للفترات السابقة .

- تقيم الأعضاء المستهدفة بهذه المواد مع انتباه خاص للقناه التنفسية .
- الوقوف علي أعلي تركيز لا يلاحظ عنده أي تأثيرات خطره وهو ما يسمي (Non-Observed Adverse Effect Level : NOAEL) و إذا كان من المستطاع الحصول علي منحني جرعة - استجابة .

والجدول التالي يوضح العناصر المختلفة لتجربة سمية قياسية بالاستنشاق :

جدول رقم (٩-١) : تصميم مصطنع (Fictitious) لتجربة سميه شبه حادة بالاستنشاق في الفئران :

طريقة التعاطي	التعرض بالاستنشاق (تعريض الجسم كله أو الرأس فقط أو الأنف فقط
نوع الحيوان	الفئران (rats)
فترة التعريض(Duration)	٤أسبوع (٦ساعة /يوم و ٥ يوم / أسبوع
نظامها (Set up)	٤ مجاميع من الفئران كل مجموعة ١٠فئران ذكور + ١٠فئران إناث مجموعة ١ - كنترول مجموعة ٢-مجموعة التركيز المنخفض مجموعة ٣-مجموعة التركيز المتوسط مجموعة ٤-مجموعة التركيز العالي
المعايير(Criteria)	المظهر و السلوك ووزن الجسم و الهيماتولوجي و الكيمياء السريرية و وزن الأعضاء و الوظيفة الرئوية و الأعراض التشريحية و النسيجية الماكرو و الميكروسكوبية

٣-أبحاث الاستنشاق المتخصصة (Specific Inhalation Research) :

بالإضافة إلي أبحاث السمية السابقة فإن المادة المختبرة يمكن دراستها لأكثر من تأثير ضار وعلي شيء من التخصص (Detrimental) كما بالأمثلة التالية :

٣-١-أبحاث التشوه-خصوبة (Teratogenecity – Fertility research) :

وهذه بحوث موجهه نحو التأثير الضار علي تطور الجنين (Embryo)/ جنين مكتمل النمو (Fetus) أو علي الخصوبة .

٣-٢- أبحاث التطفر بالجسم (Mutagenicity research : In- vivo)

كاختبارات الموت السائدة (Dominant) واختبارات تبادل الكروماتيد الأخت (Sister chromatid exchange tests) واختبارات زيغ الكروموسومي (Chromosome aberration tests)

٣-٣-أبحاث سرطانية متخصصة (Specific carcinogeicity) :

و كلها طرق غير مناسبة .

٣-٤-أبحاث تجاه صفات الإستحساس للمواد مع الأخذ في الاعتبار القناة التنفسية و للآن لم يتم التوصل لأمثل الحيوانات التجريبية كنماذج .

٣-٥-أبحاث تجاه التأثيرات المؤذية للمواد والسموم و الملوثات البيئية علي وظيفة الخلايا الملتهمة في الحويصلات الهوائية سواء داخل أو خارج الجسم ، مثل اختبار الخلايا الملتهمة في البوفين (Bovine Alveolar Macrophage test : BAM) حيث تستخدم رئة طازجة من أبقار مذبوحة

obeikandl.com

للحصول علي السائل الرئوي (Pulmonary lavage) و تغمر الرئتين في محلول فسيولوجي فوسفاتي وتؤخذ الطبقة الطافية بعد الطرد المركزي المحتوية علي الخلايا الملتهمة عالقة في بيئة مزرعة النسيج وتقدر سمية المركبات و السموم البيئية تجاهها من خلال المعايير التالية :

*معدل البقاء للخلايا الملتهمة بعد ١٨ ساعة تعريض

*النشاط الإلتهامي لها بعد ١٨ ساعة تعريض في بيئة تحتوي علي (Latex globules) و لمدة٤٥ دقيقة بعدها تقدر % للخلايا المحتوية علي واحد أو أكثر من هذه الفصوص .

أو يتم تخدير وذبح حيوانات التجريب بعد تعرضها للاستنشاق لفترات وتؤخذ الرئتين في محلول فسيولوجي و يؤخذ السائل ويطرد مركزيا وفي المعلق الناتج يقدر :

*تركيز الخلايا الملتهمة (عدد/ ملل)

*% لعدد الخلايا الملتهمة الحية من خلال طريقة صبغ حيوية تصبغ الحي منها فقط .

*معدل البقاء عقب فترة تحضين (٢٠ ساعة علي ٥% ثاني أكسيد الكربون في الهواء /٣٧ ْم بعدها تقدر نسبة الخلايا الملتهمة التي مازالت حيه .

* النشاط الإلتهامي(Phagocytic activity)

٣-٦-الفحص البيوكيميائى لسائل (Lavage) الحويصلات الهوائية :

في حالة تخريب الطلائية الرئوية ينفرد من الخلايا مواد داخلية المنشأ إلي محفظة الحويصلات وربما يدخل إليها أيضا الالبيومين في حالة اختلاف نفانية الشعيرات الدموية و إصابة الابيسيليوم . وبعد الطرد المركزي تنفذ علي الطبقة الطافية (Supernatant) التقديرات التالية :

- أنزيم لاكتات ديهيدروجينيز (Lactate Dehydrogenase : LDH)
- أنزيم البيروأكسيديز (Peroxidase)

ويعدا هذين الأنزيمين مؤشران جيدان للتخريب الخلوي الغير متخصص .

- زيادة أنزيم إيلاستيز (Elastase) تشير لانهيار النسيج الضام المفكك بالرئتين ولكنه ليس معيار حساس .
- زيادة البروتين الكلي و الالبيومين و الجلوبيولين تعني حالة إصابة و التهاب في الرئتين .
- زيادة أو نقص مستوي الفوسفوليبيدات بالطبقة الطافية تعني حدوث تأثير علي السطح (Surfactant) .

٣-٧-الفحص البيوكيميائي لمتجانس الرئة (Lung homogenate) :

حيث يمكن تقدير مستوي النشاط الأنزيمي في متجانس الرئة للأنزيمات التالية :

- جلوتاثيون بيروأكسيديز
- جلوتاثيون ترانسفيريز
- جلوكوز -٦- فوسفات ديهيدروجينيز
- سيتو كروم ب -٤٥٠

حيث زيادتها أو نقصها عن مثيلتها بالأفراد الغير معاملة يشير لحدوث تخريب خلوي بها .

٣-٨-تقدير الأنسجة الضامة في الرئتين :

كثير من المواد الكيميائية و السموم و الملوثات البيئية تسبب زيادة في كثافة الأنسجة الضامة في الرئتين والتي يمكن تميزها بالميكروسكوب الضوئي ونتيجة لذلك فإن مرونة و أبعاد (Elasticity & Diminishes) الرئتين تعرقل عملية التبادل الغازي .

و يمكن تقدير محتوي الأنسجة الضامة كيميائيا من خلال تقدير محتوي هيدروكسي برولين (Hydroxy proline content) أي البروتين المكون للأنسجة الضامة .

٣. ٩- تقنيات زراعـــة وعـــزل الأنســـجة (Tissue Transplantation & Isolation technique)

تستخدم هذه التقنيات عندما يراد الإجابة علي العديد من التساؤلات بشـــيء من التفصيل كذلك إزالة الأنسجة المعاملة أو الغير معاملـــة مـــن الجســـم و استخدامها في تجارب خارج الجسم (In-vitro)

٤-غرف الاستنشاق (Inhalationchambers) :

نتمكن باستخدام غرف الاستنشاق من تعريض الحيوان أو المواد البشـرية إلي جو ظروفه سبق تقديرها بدقة أكبر فهي بمثابة حجرة محكمة الهواء (Air tight room-) والتي يمكن فيها تعريض الكائن الحي تحت حـــالات معلومـــة ثابتة تؤخذ في الاعتبار عند تصميم الغرفة وهنا يحتوي الجو المختبر علـــي مادة الاختبار (ايروسولات-سوائل -مواد صلبة متطايرة -غازات -أبخـوة أو اتحادات بينهما : غاز و/أو بخار و غاز أو/و ايروسول ...وهكذا)

أما بالنسبة لطبيعة التعريض (Exposure manner) :

٤-١-نظام تعريض الجسم كله (Total-body system) : حيث يتم تعريض الجسم كله سواء أكان لحيوان تجريبي أو بشر .

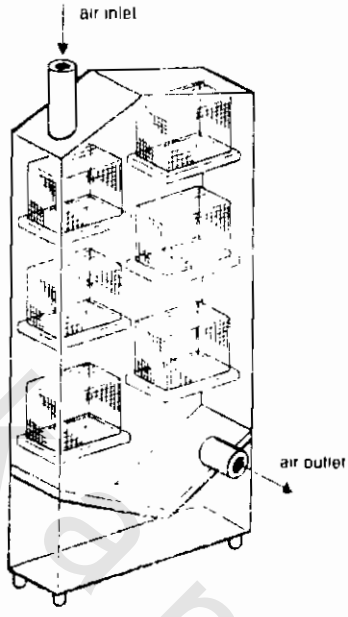
ولهذه الطريقة مميزاتها وعيوبها فتعريض الجسم كله يؤدي لاتساخه نتيجة التلوث كما يؤدى تداخل سلوك الكائن نفسه مثل ما يحدث عند لعق الحيوان لجلدة (Licking the fur) وهنا فإن أخذ المركب المختبر عن طريق الفم يأخذ مكانه و بكمية معقولة خاصة مع المواد التي يكون فعلها جهازي وهو ما يوضح أهمية و خصوصية نظام تعريض الرأس أو/ و الأنف مع طرق دراسة الايروسولات ، جدول رقم (٩-٢) .

ومن وجهة الأيروديناميك فإن غرف الاستنشاق الأسطوانية (Cylindrical chamber) تعتبر غرف نموذجية لعدم وجود أركان ميتة بها و تماثل معدل السريان بكل مناطقها و بالتالي تساوي تركيز المادة المختبرة في كل أجزائها و من هنا تـكون كل الحيوانات معرضة لنفس التركيز المستخدم خاصة مع الايروسولات والتي تعد مادة ترسب و إستقرار .

و أغلب الغرف يكون لها أربعة أو ست أوجه والسطح و القاعدة سطحيه أو بشكل هرمي وهنا تكون ذات ستة أوجه وقاعدة مثلثة و سقف مخروطي بهدف التأكد من أمثلية التوزيع المتوقع للمادة (الجو) المختبرة و غالبا ما يدخل الهواء من قمة الغرفة ويصرف من مركز القاعدة المسطحة مع الأخذ في الاعتبار أن أي شيء موضوع داخل الغرفة يؤدي لاضطراب في حركة و انسياب الهواء بداخلها و هو ما يؤدي بدوره في النهاية علي توزيع المادة المختبرة خاصة الايروسولات ، شكل رقم (٩-١).

جدول رقم (٩-٢) : مميزات و عيوب تعريض الجسم كله أو الرأس أو / و الأنف في تجارب الاستنشاق

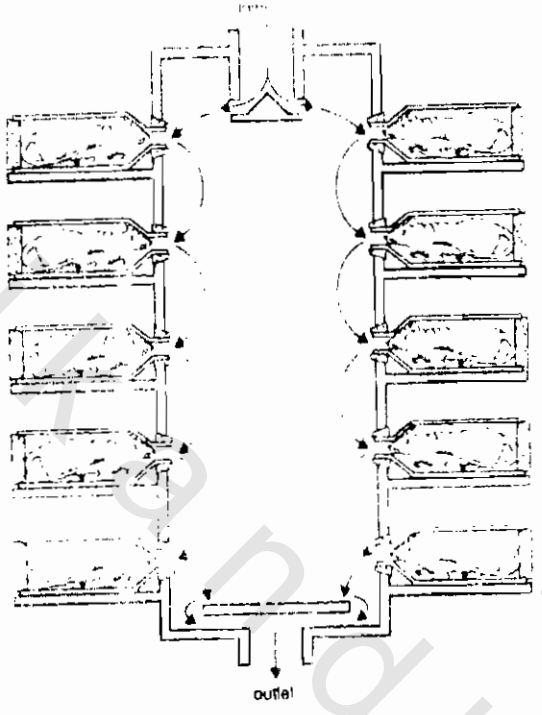
تعريض الجسم كله	تعريض الرأس أو / الأنف
تمتاز : باستخدام عدد كبير من الحيوانات تعرض تلقائيا . بتحرك الحيوانات بحرية تامة و بدون أي ضغط . تظهر الأعراض المريرية بسرعة. مناسبة للدراسة علي المدى القصير و الطويل.	يتم التعريض بدون تلوث الجسم بالمادة المختبرة. لا يمكنها التحرك بحرية لصغر المكان نسبيا . تحتاج لكمية صغيرة من المادة المختبرة . يمكن زيادة أو نقص التركيزات بسرعة.
عيوبها : سطح الجسم كله معرض . تحتاج الي كمية كبيرة من المادة المختبرة. أتلاف مدي تركيزات المادة المختبرة كثيرا في عدة مستويات . تحتاج الغرفة لمساحة كبيرة . زيادة أو نقص التركيزات يكون بطيء . تلوث جو الاختبار نتيجة الفضلات و التبول تكاليف تأسيس عالية نسبيا	ضغط و عدم راحة من تثبيتها . لا تلاحظ السلوك و الأعراض المريرة بسهولة. تعريض عدد كبير ليس عملي .



شكل رقم (٩-١) : تخطيط لغرفة إستنشاق لتعريض الجسم كله (الحجر مرتبة بشكل زجاجي في ارتفاعات مختلفة)

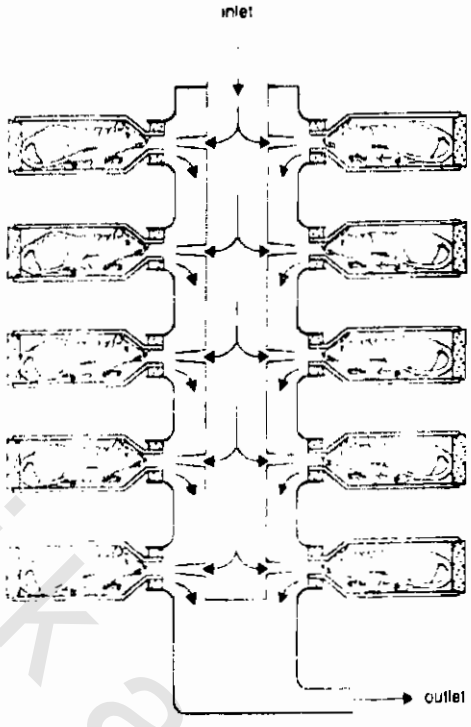
٤-٢-نظام تعريض الرأس أو/ والأنف (Head / Nose only system) : حيث يتم تعريض الرأس أو الأنف فقط للجو المختبر .

و تتكون معدات التعريض هنا من اسطوانات ذات جدار مفرد أو مزدوج مغلق ، شكل رقم (٩-٢) ، حيث توجد فتحات في حائط الأسطوانة بكل منها حيوان واحد مثبتة في حامل من الزجاج أو البلاستيك وإحدى نهايتها مخروطية الشكل بحيث يجعل رأس وعنق الحيوان مثبت بداخلها ويساعد في ذلك وجود موقف سطح (Stopper) بحيث يقفل الفتحة جيدا ويمنع سحب الحيوان لرقبته للخلف (Retracting) فيوقف تسرب الهواء المعامل .



شكل رقم (٩-٢) : حجرة تعريض الرأس أو / و الأنف : نظام الحائط المزدوج (Double wall system)

أما الغرفة ذات الحائط المزدوج ، شكل رقم (٩-٣) و تتميز بأن الحيوانات المعرضة فيها دائما ما تستنشق هواء جوي طازج أول بأول وهو ما لا يتوافر في نظام الحائط المفرد حيث تستنشق الحيوانات المعرضة هواء تم استنشاقه من حيوانات أخري بنفس الغرفة .



شكل رقم (٩-٣) : حجرة تعريض الرأس أو / و الأنف : نظام الحائط المزدوج (Single wall system)

٤-٣-نظام تعريض الرئة أو جزء منها وهي طريقة جائرة (Invasive) وتستخدم فقط تحت التخدير العام و قلما تستخدم .

٤-٤-ويتم اختيار المواد المصنوعة منها الغرف و الحوامل فقد تكون من الصلب الذي لا يصدأ و الخامل كيماويا وقوي واه قوة احتمال عالية إلا أنه مكلف من الناحية الاقتصادية. و قد تكون من الألومنيوم فيكون أقل تكلفة إلا أنه غير خامل كيماويا . أما في حالة تصنيعية من البلاستيك فيتميز بخفة الوزن والشفافية وسهولة تداوله لكن يعيبه نقص المتانة و الضعف علاوة علي الكهربية الاستاتيكية و حساس للتخريب بالكيماويات . و قد تصنع من الزجاج و المتميز بالشفافية وأنه خامل كيماويا و غير مكلف ولكنه سهل الكسر وصعب التصنيع .

٤-٥-و بالنسبة لحجرة الإعاشة في غرف الاستنشاق الخاصة بالجسم كله فيجب و أن يكون مكان حمل الحيوان من الصلب الغير قابل للصدأ . و يجب استخدام الحجر المفردة (Single housed) إذا ما كانت المادة المختبرة ايروسول و لا يجب وضع عدة حيوانات في حجرة واحدة حيث يمكن أن تخفي أنفسها في فرو الجسم وهو ما يعد بمثابة مرشح للهواء المستنشق في حين لا يتأثر التعرض حالة كون المادة المختبرة غاز أو أبخرة .

ويصعب تثبيت درجة الحرارة والرطوبة النسبية إذا ما احتوت غرف الاستنشاق علي عدد كبير من الحيوانات و أكثر من ذلك فإن تركيزات الغاز المستنشق بالحيوانات و نواتج التمثيل و الانهيار المختلفة للبراز و اليورين تصبح غير مقبولة و هو ما يعود بنا إلي القاعدة العامة وهي بأنه لا يجب وأن يزيد الحجم الكلي لعدد الحيوانات عن ٥ % من حجم الغرفة .

٤-٦-أما بالنسبة لهواء جو الاختبار (Test atmosphere) فيجب و أن يكون نظيف و خالي من الملوثات حيث يزود مصدر التهوية (Ventilation) بمرشحات للأتربة و مرشحات تحتوي علي كربون نشط كما يجب و أن يكون الهواء جاف و بارد بحيث تكون في النهاية درجة حرارة غرفة الاستنشاق تتراوح بين ٢٠-٢٤°م و الرطوبة النسبية ٤٠-٧٠% كما يجب و ألا تزيد سرعة الهواء عن ٠,٢ متر /ثانية ، شكل رقم (٩-٤) .

٤-٧-أما بالنسبة لتوليد جو الاختبار سواء أكان غاز أو بخار خاصة و أن لهما نفس حالة التقلب (Aggregation) فالبخار في حالته الغازية تكون له درجة غليان أعلي من درجة حرارة الغرفة العادية .

وحرارة توليد الغاز أو الأبخرة المستخدمة يجب و أن تكون ثابتة و متحكم فيها و عموما يمكن الحصول عليها من أسطوانات غاز جاهزة ,و بتوليدها من خلال طرق طبيعية أو كيماوية أو ببخر السوائل أو تطاير المواد الصلبة .

ويختلف توليد جو الاختبار للغازات و الأبخرة في أنظمة التعريض الاستاتيكية : فهو نظام مقفل لا يوجد به تجديد حيث يقل المحتوي الأكسجيني به تدريجيا نتيجة تنفس حيوانات التجريب وهو بدورة ما يؤدى لارتفاع ثاني

أكسيد الكربون و الرطوبة النسبية بدرجة غير مقبولة و هنـــا يجـــب توافـــر وسائل لقياس استهلاك الأكسيجين و إزالة ثاني أكسيد الكربون و أبخرة المـــاء من جو الاختبار و لهذا غالبا ما يستخدم مـــع تجـــارب فـــترات التعريـــض القصيرة و الأعداد القليلة من حيوانات التعريض و علي وجـــه الخصـــوص تجارب تمثيل المواد المتطايرة .

و عليه يتم توليد جو الاختبار في هذا النظام للغازات أو المـــواد الســـائلة المتطايرة بتقديم كمية معلومة من الغاز أو المادة السائلة المتطايرة إلى نظـــام معلوم الحجم و عليه يقل الضغط بعض الشيء بحيث بعد إدخـــال الغـــاز أو المادة السائلة المتطايرة و تطايرها فإن الضغط يرجع مـــرة أخـــرى لحالتـــه الأولية . ويعبر عن تركيز الغاز في جو الاختبار بالجزء في المليون :

تركيز الغاز (PPM) = حجم الغاز بالملل(V_g) / حجم النظام بالمتر (V_{st}) x ١٠٠٠

و يمكن أيضا حساب التركيز بالملليجرام /لـــتر أو بـــالملليجرام / مـــتر مكعب. ويمكن استخدام قانون افوجادرو والذي يبين عدد الجزيئات الموجـــودة في الحجوم المتساوية من الغازات و التي تتساوى عنـــد الضغـــط و درجـــة الحرارة فعند درجة حرارة ٢٠°م و ضغط ١ جوي فإن ١ مول مـــن الغـــاز يأخذ حجم قدره ٢٤,٢١ لتر و عند التعبير عن التركيز بـــالملليجرام / مـــتر مكعب فإن المعادلة تصبح :

تركيز الغاز (ملليجرام /م٣) = حجم الغاز(ملتر) / حجم النظام (V_{st}) x ١٠٠٠ x (مول/ ٢٤,٢١)

أما في النظام الديناميكي و الذي يتميز بتوليد جو اختبار ثـــابت constants) (atmosphere حيث تضاف بانتظام كمية معلومة من أسطوانة المادة المختـــبرة إلي تيار الهواء المستمر أو من عملية كيميائية و هنا يتأثر إنتاجـــها بعوامـــل التفاعل (حرارة و ذوبان ...) وهو ما يجعل توليد الغاز في جـــو الاختبـــار صعب جدا أو من عملية طبيعية (تحليل كـــهربي Electrolysis : أو انـــهيار حـــراري Thermal decomposition: تفـــاعلات ضوء كيماويـــةPhotochemical reactions : أو التأين : Ionization) .

و عموما هناك طرق مختلفة لتوليد جو الاختبار و أكثرها شيوعا الحقن المباشر بسائل عالي التطاير أو تذر ير السوائل فتتبخـــر بعدهـــا بســـرعة أو تبخير المادة علي سطح ساخن أو الانتشار من خلال أنبوبة منفذة.

و يعبر عن تركيز المادة في جو الاختبار بطريقين :

- التركيز النظري (Nominal concentration) : وهو التركيز الذي يمكن وجودة نظريا و بالتالي حسابه من الكمية الحيوانات المستخدمة من المادة و حجم الهواء أو الغاز خلال توزيعها .
- التركيز الفعلي(Actual concentration) :وهو التركيز المقاس معمليا .

و المروض أن النتيجتين واحدة و لكن من الناحية العملية فإن التركـــيز الفعلي عادة ما يكون أقل من النظري وهو غالبـــا مـــا يكـــون نـــاتج عـــن الامتصاص بالحوائط أو الثبات أو التمثيل أو التسرب .

و غالبا ما يقاس التركيز خلال تجارب الاستنشـــاق بالكرومـــاتوجرافي الغازي(Gas Chromatography : GLC) أو بالكرومـــاتوجرافي الغـــازي فـــائق القدرة(High Performance Liquid Chromatography H.P.LC) أو بالأشـــعة التحـــت حمراء (Infra Red :IR) أو التحليل اللوني(Colorimetry or Spectro photometry) أو كاشفات أو مستشعرات متخصصة(Detectors) لذلك أو طرق التحليل الكيماوية الكلاسيكية .

٤-٨-أما بالنسبة للايروسولات المستخدمة فقد تكـــون جســـيماتها متســـاوية الحجم (Mono disphere) وتستخدم في المعايرة و دراسة الترسب و الاســـتقرار في القناة التنفسية .أما إذا كـــانت ذات جســـيمات مختلفـــة أو متفاوتـــة فـــي الحجم (Poly disphere) و تمثل أغلب أنواع الايروسولات المتعرض لها البشـــر و لهذا تستخدم في غالبية دراسات السمية بالاستنشاق .

و من الأهمية بمكان في دراســـات الاستنشـــاق بالايروســـولات توليـــد جسيمات يمكنها الدخول و التوزيع في مسار الهواء و هو ما يتوقف بـــدورة علي حجم الجسيم : القطر الهندسي أو القطر الايروديناميكي كمقياس للقطـــر (Geometric diameter) والضروري تقديره وهو سهل بالنسبة للجسيمات

الكروية (Globular) و يصعب تقديره مع الجسيمات الغير منتظمة الشكل ولأهميته في تجارب السمية بالاستنشاق سمي بالقطر الايروديناميكي و يعرف علي أنه قطر الكرة ذات الكثافة ١ و التي لها نفس معدل الترسب كجسيمة و هو ما يعني بأن الجسيم الذي له قطر ايروديناميكى ٥ ميكروميتر له نفس معدل الترسيب في الهواء لكرة لها قطر ٥ ميكروميتر و كثافة ١.

أما الجسيمات الهفو : الذغبية (Fluff) و التي لها مساحة مسطح كبير و كثافة منخفضة يكون قطر الايروديناميكي لها صغير جدا بينما القطر الهندسي كبير نسبيا . و لهذا فقطع الرصاص الصغيرة ذات الكثافة العالية و مساحة المسطح الصغيرة يكون تشبثها و مسكها بالهواء قليلة .

٤-٩-أما بالنسبة لزيادة الشحنة الكهروستاتيكية (Electrostatic charge) و التي تكتسبها جسيمات الايروسول عند احتكاكها مع السطح الداخلي لمولد الايروسولات فلها تأثير كبير علي سلوك الجسيمات في مسارات الهواء و درجة التجمع و الترسيب . و بتأين هواء الايروسول فإن الشحنة الكهروستاتيكية تتبادل جزئيا .