FANPAYA
Knowledge Based Company
(PUBLISHERS)

Journal of Environmental Sciences Studies (JESS)
Volume 10, Number 2, Summer, (2025)

Journal Homepage: www.jess.ir
Print ISSN: 2588-6851 Online ISSN: 2645-520X

The Effect of PM2.5 Exposure on Hormonal Indices and Histopathology of Uterine Tissue in Rats

Pejman Mortazavi [1*], Nazli Yazdani-Karganroud [2], Saeed Masedi Zarandi [3], Akram Eidi [4]

[*]1. Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. PhD Student, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. PhD in Environmental Health, Faculty of Public Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[*]Email Adderss: sp.mortazavi@gmail.com

Article Info

Article Type:
Research Paper

Article History:

Received Date:
2022/08/04
Revised Date:
2023/01/01
Accepted Date:
2025/08/25
Published Date:
2025/09/06

Keywords:
Air pollution,
Uterus,
Female sex hormone,
PM2.5

ABSTRACT

Background and Objective: Air pollution, particularly fine particulate matter (PM2.5), is a major health challenge in modern societies. By penetrating body tissues through the lungs and olfactory epithelium, these particles induce oxidative stress, DNA damage, and adverse changes in hematological and hormonal indices, potentially leading to serious diseases such as cancer and infertility. This study aimed to investigate the effects of PM2.5 exposure on hormonal indices and uterine tissue histopathology in female rats over a three-month period. Methods: In this experimental study, after measuring the concentrations of PM2.5, heavy metals, and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), 24 female Wistar rats were divided into three groups: a control group (receiving clean air), Exposure Group 1 (receiving gaseous pollutants), and Exposure Group 2 (receiving PM2.5 plus gaseous pollutants). Following a three-month treatment period, hormonal changes (LH, FSH, progesterone, and estrogen) and uterine histopathological alterations were evaluated. Results: Analysis confirmed high levels of PM2.5 and other pollutants. Compared to the control group, Exposure Group 2 showed a statistically significant decrease in estrogen, FSH, and progesterone levels, and a significant increase in LH. These hormonal changes were also significant when compared to Exposure Group 1. Histopathological examinations revealed that Exposure Group 2 exhibited the most severe uterine damage, including endometrial degeneration, inflammatory cell infiltration, and atrophy of the glandular epithelium. The severity of these damages was significantly greater than in Exposure Group 1. Conclusion: Three months of exposure to PM2.5 led to significant structural damage in uterine tissue by disrupting key hormones of the reproductive system, a finding confirmed by histopathological results. These findings indicate that PM2.5 poses serious risks to the female reproductive system and underscore the necessity for urgent management and implementation of strict regulations to control air pollution in metropolitan areas.

Cite this article: Pejman Mortazavi , Nazli Yazdani-Karganroud, Saeed Masedi Zarandi, Akram Eidi (2025). The Effect of PM2.5 Exposure on Hormonal Indices and Histopathology of Uterine Tissue in Rats, Journal of Environmental Sciences Studies, 10(2), Pages 10466 – 10479.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Air pollution, particularly fine particulate matter (PM2.5), is a major global health concern with established links to cardiovascular disease, respiratory illnesses, and cancer. Emerging evidence suggests a significant impact on reproductive health and fertility. PM2.5 particles, often laden with heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), can penetrate deep into the body, acting as endocrine disruptors that interfere with the hormonal regulation of the reproductive system. This can lead to infertility, adverse pregnancy outcomes, and an increased risk of reproductive cancers. This study was designed to investigate the effects of a three-month, real-world exposure to ambient PM2.5 in Tehran, a city with significant air pollution, on key reproductive hormones and the histopathological structure of the uterus in a female Wistar rat model.

Methods

An experimental study was conducted using 24 female Wistar rats, divided into three groups (n=8 each):
Healthy Control: Exposed to clean, filtered air.
Exposure Group 1: Exposed to ambient gaseous pollutants only (PM2.5 filtered out).
Exposure Group 2: Exposed to whole ambient air, including gaseous pollutants and PM2.5.
The exposure was conducted for three months (5 hours/day, 4 days/week) using air sampled from a rooftop at Shahid Beheshti University in Tehran. The estrous cycles of all rats were synchronized before the experiment. Air quality analysis was continuously performed to determine the concentrations of PM2.5, heavy metals, PAHs, and other gaseous pollutants like ozone, sulfur dioxide, and nitrogen dioxide. At the end of the exposure period, blood samples were collected to measure serum levels of Luteinizing Hormone (LH), Follicle-Stimulating Hormone (FSH), estrogen, and progesterone via ELISA. Uterine tissues were harvested, fixed in formalin, and processed for histopathological analysis. The tissues were stained with Hematoxylin and Eosin (H&E) and scored by a pathologist for pathological changes, including epithelial degeneration, necrosis, glandular atrophy, and inflammatory cell infiltration.

Key Results

Pollutant Concentration: Air quality analysis confirmed that the average concentration of PM2.5 (41.76 ± 4.42 $\mu g/m^3$) and nitrogen dioxide significantly exceeded WHO guidelines. Chemical analysis of PM2.5 revealed high concentrations of heavy metals, with aluminum being the most abundant, and PAHs, with phenanthrene being the most prevalent. Hormonal Imbalance: Hormonal analysis revealed that, compared to the healthy control group, the PM2.5-exposed group (Exposure 2) exhibited a statistically significant decrease in FSH, estrogen, and progesterone levels, alongside a significant increase in LH levels ($p < 0.01$ to $p < 0.001$). This created an elevated LH/FSH ratio, a key indicator of hormonal imbalance often associated with conditions like Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). The changes were also significantly more pronounced compared to Exposure Group 1, isolating the specific effect of PM2.5. Uterine Pathology: Histopathological examination of the uterus showed severe damage in the PM2.5-exposed group. This was characterized by significant endometrial degeneration, extensive inflammatory cell infiltration, and marked glandular atrophy. In contrast, the control group showed normal uterine structure, and Exposure Group 1 showed only mild changes. The pathological scores for all damage indicators were significantly higher in the PM2.5 group compared to both other groups ($p < 0.001$).

Discussion and Conclusion

The findings of this study provide strong evidence that chronic (three-month) exposure to urban PM2.5 significantly disrupts the female reproductive system in an animal model. The observed hormonal imbalance—particularly the decreased levels of FSH, estrogen, and progesterone and the elevated LH—disrupts the normal hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis essential for regulating the menstrual cycle, ovulation, and pregnancy. Furthermore, the severe uterine tissue damage confirms that PM2.5 induces a potent inflammatory and degenerative response, compromising the structural integrity of the endometrium, which is critical for embryo implantation. These results are consistent with existing literature identifying PM2.5 as a powerful endocrine disruptor that can impair fertility by affecting folliculogenesis, steroidogenesis, and endometrial receptivity.

In conclusion

this study demonstrates that chronic exposure to PM2.5 pollution poses a substantial threat to female reproductive health by causing severe hormonal dysregulation and direct uterine pathology. These findings highlight the urgent need for stricter environmental policies and public health interventions to mitigate air pollution and protect the reproductive health of populations in highly polluted urban areas.

مجله مطالعات علوم محیط زیست
جلد۱۰، شماره ۲
Journal Homepage:www.jess.ir
شاپای چاپی: 2588-6851 شاپای الکترونیکی: 2645-520X

FANPAYA
Knowledge Based Company
(PUBLISHERS)

تاثیر قرارگرفتن در معرض pm2.5 بر تغییرات شاخص‌های هورمونی و هیستوپاتولوژی بافت رحم موش صحرایی

پژمان مرتضوی [۱*]، نازلی یزدانی کرگانرود [۲]، سعید متصدی زرندی [۳]، اکرم عیدی [۴]

*۱- دانشیار گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه ازاد اسلامی، تهران، ایران
۲- دانشجوی دکتری گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- دکترای بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
*ایمیل نویسنده مسئول: sp.mortazavi@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله علمی پژوهشی

تاریخ دریافت:
۱۴۰۱/۰۵/۱۳
تاریخ بازنگری:
۱۴۰۱/۱۰/۱۱
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۴/۰۶/۰۳
تاریخ انتشار:
۱۴۰۴/۰۶/۱۵

کلید واژه ها:
آلودگی هوا،
رحم،
هورمون جنسی ماده،
PM2.5.

چکیده

زمینه و هدف: آلودگی هوا، به‌ویژه ذرات معلق(PM2.5) ، یکی از چالش‌های اصلی سلامت در جوامع مدرن است. این ذرات با نفوذ به بافت‌های بدن از طریق ریه و اپیتلیوم بویایی، موجب افزایش استرس اکسیداتیو، آسیب به DNA و تغییرات نامطلوب در شاخص‌های خونی و هورمونی می‌شوند که می‌تواند به بیماری‌های جدی مانند سرطان و ناباروری منجر شود. هدف از این مطالعه، بررسی نقش آلاینده PM2.5 بر تغییرات شاخص‌های هورمونی و هیستوپاتولوژی بافت رحم در موش‌های صحرایی طی یک دوره سه‌ماهه بود. روش کار: در این مطالعه تجربی، پس از سنجش غلظتPM2.5 ، فلزات سنگین و هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای(PAHs) ، تعداد ۲۴ سر موش ماده نژاد ویستار به سه گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (دریافت‌کننده هوای پاک)، گروه مواجهه ۱ (دریافت‌کننده آلاینده‌های گازی) و گروه مواجهه ۲) دریافت‌کننده PM2.5 به همراه آلاینده‌های گازی .(پس از یک دوره تیمار سه‌ماهه، تغییرات هورمون‌هایLH ، FSH، پروژسترون و استروژن به همراه تغییرات هیستوپاتولوژی بافت رحم مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها: نتایج آنالیز، سطح بالایی از PM2.5 و سایر آلاینده‌ها را تأیید کرد. در مقایسه با گروه کنترل، در گروه مواجهه ۲ کاهش آماری معنی‌دار در سطح استروژن، FSHو پروژسترون و افزایش معنی‌دار LH مشاهده شد. این تغییرات هورمونی در مقایسه با گروه مواجهه ۱ نیز معنی‌دار بود. مطالعات هیستوپاتولوژی رحم در گروه مواجهه ۲ شدیدترین آسیب‌ها، شامل دژنرسانس اندومتر، نفوذ سلول‌های التهابی و آتروفی اپیتلیوم غدد را نشان داد که شدت آن به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه مواجهه ۱ بود. نتیجه‌گیری: مواجهه سه‌ماهه با PM2.5 از طریق ایجاد اختلال در میزان هورمون‌های کلیدی سیستم تولیدمثل، منجر به آسیب‌های ساختاری قابل‌توجه در بافت رحم گردید که با یافته‌های هیستوپاتولوژی تأیید شد. این نتایج نشان می‌دهد PM2.5 می‌تواند خطرات جدی برای دستگاه تولیدمثل زنان ایجاد کند و بر ضرورت مدیریت فوری و اجرای قوانین سخت‌گیرانه برای کنترل آلودگی هوا در کلان‌شهرها تأکید دارد.

ناشر: انتشارات فن پایا

DOI: 10.22034/jess.2025.350193.1838

۱- مقدمه

آلودگی هوا یکی از عمده‌ترین مشکلاتی است که بشر با آن روبروست و در بعضی از شهرها به دلیل افزایش بی رویه فعالیّت‌های صنعتی، مصرف سوختهای فسیلی و تراکم جمعیّت روزبه روز شدیدترمیشود . حیات ۲۴ درصد از مردم جان به دلیل آلودگی شهری مورد تهدید واقع شده است. آلودگی هوا اثرات سوئی بر سلامت افراد جامعه دارد و منجر به مرگ زودرس، بیماری‌های قلبی و عروقی، برونشیت، اختلالات تنفسی و سرطان میشود . اگرچه در ارتباط با عوامل سرطان زا و استفاده از ترکیبات خاص در جهت درمان بیماری‌های خطرناک مانند سرطان مطالعات متعددی وجود دارد ولی امروزه بررسی علمی با هدف شناخت عوامل دخیل در بیماری‌های تولید مثلی زنان و مردان نیاز به توجه ویژه‌ای پیدا کرده است. در یک طبقه بندی علمی، که در آن آلاینده‌های هوا تحت عنوان آلاینده‌های معیار شناخته می‌شوند، شش نوع از آلاینده‌ها مشخص شده است که شامل ازون، ذرات معلق (PM:Particulate Matter)، دی اکسید نیتروژن، دی اکسید گوگرد، سرب و منوکسید کربن می‌باشد. ذرات معلق هوا PM بیش از هر نوع دیگر از آلاینده‌ها سلامت افراد را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اجزای اصلی تشکیل دهنده ی این ذرات معلق عبارت اند از سولفات‌ها، نیترات‌ها، آمونیوم، سدیم کلرید، کربن سیاه، ذرات معدنی و آب و به انواع زیر تقسیم می‌شوند: ذرات درشت PM10 (Coarse Particles)، ذرات ریز PM2.5 (Fine Particles)، ذرات بسیار ریز PM0.1 (Ultra Fine Particles) . مضرترین بخش آلودگی هوا، PM2.5 می‌باشند که می‌توانند از طریق ریه‌ها و اپیتلیوم بویایی به بافت‌ها نفوذ کنند و منجر به چندین بیماری و حتی مرگ شوند. میان آهن، نیکل و روی موجود در PM2.5 با میزان مرگ و میر ارتباط معنی داری وجود دارد و وانادیوم و کروم در PM2.5 سبب افزایش اکسیداسیون سلولی و نیز آسیب‌های جدی به DNA می‌شوند. PM2.5 با نفوذ به قسمت‌های تحتانی سیستم تنفسی و داخل آلوئل‌های ریه سبب آسیب‌های قلبی و تنفسی متعددی می‌شوند . در کلان شهر تهران که ظرفیت تردد تنها ۲ میلیون خودرو را دارد، در حال حاضر ۳/۵ میلیون خودرو در حال تردد می‌باشند و این تعداد خودرو روزانه ۸ تن ذرات معلق را وارد هوا میکنند. براساس مطالعات به دست آمده ازشرکت کنترل کیفیت هوای تهران بیشترین میانگین غلظت سالیانه به دست آمده از یکی از ایستگاه‌های این شرکت در سال ۱۳۹۲ مقدار ۴۵ میگروگرم بر مترمکعب می‌باشد. براساس آمارهای تهران در سال ۲۰۱۱ دارای بیشترین میانگین غلظت سالانه آلاینده ذرات معلق کوچکتر از ۲/۵ میکرون بوده است که حدود استاندارد روزانه و سالیانه برای ذرات PM2.5 به ترتیب ۲۵ و ۱۰ میکروگرم بر مترمکعب می‌باشد. هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای (PAHs)، در حین احتراق موتورهایی با سوخت فسیلی تشکیل می‌شوند درحالی که فلزات سنگین از کاتالیست‌های مصرفی در ماشین‌ها نشأت میگیرند . یکی از اثرات احتمالی آلودگی هوا که به تازگی مورد توجّه قرار گرفته است اثر آلودگی هوا بر ناباروی است. شیوع ناباروی یکی از اثرات نامطلوب مواجه با آلودگی هوا می‌باشد که در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در این زمینه صورت گرفت است. اگرچه افزایش سن مادر بیشتر ارتباط را با میزان ناباروی دارد ولی شرایط محیطی هم بر باروری زن و هم بر باروری مرد تاثیرگذار است. این امر منجر به افزایش استفاده از تکنیک‌های کمک باروری نسبت به سال‌های گذشته شده است . استروژن گروهی از مهّم‌ترین هورمون‌های جنسی ماده می‌باشد که عمدتاً در تخمدان‌ها ساخته می‌شوند. استروژن در سیکل طبیعی تخمدان، در مرحله فولیکولی از تخمک آزاد می‌شود. استروژن با اتصال به گیرنده استروژنی در سیتوپلاسم، باعث افزایش میزان ساخته‌شدنDNA، RNA و پروتئین‌های دیگر در بافت هدف می‌شوند. استروژن در جدار رحم باعث رشد و پرخونی آندومتر می‌شود. همچنین در هیپوتالاموس میزان آزاد شدن هورمون محرک غدد جنسی تحت تأثیر استروژن کاهش پیدا می‌کند و در غده هیپوفیر آزاد شدن FSH و LH کاهش می‌یابد. گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی به صورت پروتئین‌های داخل سلولی و متصل شونده به DNAهستند که نقش تنظیم‌کننده‌های رشد و نمو سلول را ایفا می‌نمایند. اتصال هورمون، منجر به تغییر شکل گیرنده می‌شود و به دنبال آن، اتصال کمپلکس گیرنده ـ هورمون به هسته صورت می‌گیرد. در هسته این کمپلکس به سکانس‌های خاصی از نوکلئوتید متصل می‌شود که منجر به تنظیم در امر نسخه‌برداری از ژن‌های هدف می‌گردد. گیرنده پروژسترون با اتصال به هورمون به عنوان یک فاکتور رونویسی، ژن‌های هدف خود را فعال می‌کند. همچنین به عنوان یک گیرنده درون سلولی شناخته شده است که توسط هورمون پروژسترون فعال می‌شود(Harper et al., 2021; Pan, Wang, Chang, Song, Yi, Zhao, Zhang, Fang, Du, & Cheng, 2023)اندازه‌گیری تغییرات در گیرنده‌های استروژن و پروژسترون که شاخصی در تعیین سرطان‌ها از جمله سرطان سینه و رحم است، اهمیت بالایی دارد(Pan, Wang, Chang, Song, Yi, Zhao, Zhang, Fang, Du, & Cheng, 2023) ذرات PM2.5 و PM10 که حاوی فلزات سنگین و PAHs هستند با تغییر درسطوح هورمون جنسی استروژن میتواند بر سیستم تولید مثلی انسان اثرات نامطلوب داشته باشدو این عوامل به عنوان تخریب کننده‌های هورمون‌های اندروکرین شناخته می‌شوند که می‌توانند بر غدد هیپوتالاموس، بیضه و تخمدان اثر گذارند و در عملکرد این سیستم اختلال وارد کنند. مواجه شدن با آلاینده‌های هوا از جمله (PM2.5، ازون، دی اکسید گوگرد و دی اکسید نیتروژن) سبب افزایش عوارض بارداری از جمله تأخیر رشد داخل رحمی، زایمان زودرس و وزن کم نوزاد زمان تولد

می‌شود که این عوارض به واسطه افزایش تولید ساتیوکاین‌های پیش التهابی و پروستاگلندین‌ها صورت می‌گیرد. از اینرو در این مطالعه به بررسی نقش آلاینده PM2.5 بر تغییرات شاخص‌های هورمونی و هیستوپاتولوژی بافت رحم در موش‌های صحرایی در یک دوره ی سه ماه پرداخته شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱. مواد

کلروفرم از شرکت مرک (آلمان) خریداری شد. کیت‌های مورد نیاز در بررسی میزان هورمون‌های جنسی Rat Testosterone ELISA Kit, (Cat No: 80550, Crystalchem, United States), Rat Estrogen ELISA Kit, (Cat No: 86570, Crystalchem, United States), Rat LH/Luteinizing Hormone (Competitive EIA) ELISA Kit, (Cat No: LS-F27508, Isbio, United States), Rat FSH (Sandwich ELISA) ELISA Kit, (Cat No: LS-F38636, Isbio, United States). تهیه گردیدند.

۲-۲. نمونه گیری

نمونه‌گیری از بام دانشگاه شهید بهشتی واقع در کشور ایران، شهر تهران به دست آمد. نمونه‌های مورد مطالعه در ارتفاع ۲۵ متری سطح زمین جمع آوری شدند و سرعت باد (m / s)، دما (^0C)، باران (mm / d) و رطوبت (٪) از طریق پایگاه هواشناسی تهران ارزیابی گردیدند.

۲-۳. نمونه‌گیری PM2.5

نمونه‌گیری PM2.5 به طور مداوم توسط دستگاه جمع آوری کننده (Echo PM) در اتاق حیوانات انجام شد. مراحل جمع آوری و نگهداری PM2.5 بر اساس مطالعات قبلی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل فلزات و PAHs با سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین غلظت محاسبه شد. تجزیه و تحلیل مواد توسط مرجع استاندارد (SRM 1648) بر اساس مطالعات قبلی گروه ما ارزیابی شد.

۲-۴. ارزیابی PM2.5، فلزات سنگین و آلاینده‌های گازی

غلظت PM2.5 همراه با ازون، دی اکسید نیتروژن و دی اکسید گوگرد در هوای اتاق حیوانات، به طور مداوم در هر دوره مورد بررسی قرار گرفت. غلظت PM2.5 بر اساس روش نظارت بر میرایی بتا و غلظت آلاینده‌های گازی با دستگاه فلورسانس ماورا بنفش (UV) (سری Horiba AP-370) بر اساس مطالعات قبلی گروه ما ارزیابی گردید (۲۰).

۲-۵. دوره‌های تیماری

دوره ی تیماری ۳ ماه جهت بررسی فاکتورهای مورد مطالعه در نظر گرفته شد. هر دوره چهار روز در هفته و به مدت پنج ساعت در روز (۹,۰۰ صبح تا ۲,۰۰ بعد از ظهر) برنامه ریزی گردید و ارزیابی‌های مورد نیاز انجام گرفت.

۲-۶. حیوانات تجربی و جنبه‌های اخلاقی

در این مطالعه از ۲۴ سر موش نر نژاد ویستار با سن چهار هفته و وزن متوسط ۱۰±۸۵ گرم که از انستیتوی پاستور ایران (انستیتوی پاستور ایران، پلاک ۶۹، خیابان پاستور، تهران، ایران) خریداری شده بودند، استفاده گردید. حیوانات در شرایط استاندارد از جمله دسترسی آزاد به آب و غذا با چرخه‌های روشنایی و تاریکی (۱۲/۱۲ ساعت)، دما (۲۵–۲۰ درجه سانتیگراد) و رطوبت نسبی (۶۰–۴۰٪) نگهداری شدند. پس از یک هفته فرصت در جهت تطابق یافتن با محیط، گروه بندی موش‌ها صورت گرفت. این مطالعه توسط کمیته اخلاق مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تأیید شده است. کلیه مراحل طبق پروتکل "راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی" دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران با کد اخلاقی: IR.IAU.SRB.REC.1398.054 انجام گرفت. گروه بندی موش‌های مورد مطالعه به صورت زیر بود (در هر گروه ۸ سر موش): **(گروه اول**: Healthy Control. گروه کنترل دریافت کننده ی هوای تمیز با شرایط استاندارد. **گروه دوم**: Exposure1. گروه دریافت کننده ی آلاینده‌های گازی.**گروه سوم**: Exposure2. گروه دریافت کننده ی PM2.5 به علاوه آلاینده‌های گازی) .قبل از اینکه حیوانات در شرایط آزمایش قرار بگیرند، از نظر سیکل جنسی همگی در شرایط یکسان قرار گرفتند به این صورت که ۶ روز قبل از آغاز شدن دوره ی تیمار، به هر موش ۰/۵ میکروگرم کلوپروستنول به صورت زیرجلدی و ۳ میکروگرم داروی پروژسترون به صورت زیرجلدی تزریق گردید و پس از ۳ روز مجددا همین پروتکل تکرار گردید.

۲-۷. تعیین سطح هورمون‌های جنسی

خونگیری از موش‌ها در انتهای دوره ی تیمار صورت گرفت. قبل از استفاده تمام معرف‌ها، استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌ها در دمای اتاق قرار داده شد و طبق دستورالعمل کیت آمده گردید. ابتدا ۵۰ میکرولیتر از رقیق کننده و متعاقب آن ۵۰ میکرولیتر از استاندارد و نمونه‌ها به هر چاهک از پلیت اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. سپس هر چاهک با محلول شستشو چهار مرتبه مورد شستشو قرار گرفت و در آخرین شستشو مایع رویی خالی گردید و پلیت جهت خشک شدن، روی سطح قرار گرفت. در مرحله ی بعدی، ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی بادی کونژوگه به هر چاهک اضافه و۲ ساعت در دمای اتاق انکوبه گردید و مجدد هرچاهک با محلول شستشو چهار مرتبه مورد شستشو قرار گرفت و خشک شد. ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا به هر چاهک اضافه و۳۰ دقیقه در دمای اتاق در شرایط تاریکی نگهداری شد.۱۰۰میکرولیتر از محلول متوقف کننده به هر چاه وارد شد. میزان جذب نوری هر چاهک در طول موج۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر DANA-3200 خوانده شد.

۲-۸. هیستوپاتولوژی

از نمونه‌های بافتی تومور القاء شده در موش‌ها پس از فیکس شدن در فرمالین بافر۱۰٪، به روش رایج قالب‌های پارافینی تهیه و سپس برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی گردید. جهت بررسی تاثیرات پاتولوژی PM2.5 بر بافت‌های رحمی، نمونه‌های هیستوپاتولوژی طبق (**جدول ۱**) امتیازدهی شدند.

جدول ۱. امتیازدهی نمونه‌های هیستوپاتولوژی بافت رحم بدست آمده از گروه‌های کنترل و تیماری.

امتیاز	شاخص	
۰	عدم جراحت	**دژنرسانس اپیتلیوم**
۱	دژنرسانس در کمتراز ۲۵ درصد سلولها	
۲	دژنرسانس در۵۰–۲۵ درصد سلولها	
۳	دژنرسانس در۷۵–۵۰ درصد سلولها	
۴	دژنرسانس در بیش از ۷۵ درصد سلولها	
۰	عدم جراحت	**نکروز اپیتلیوم**
۱	نکروز در کمتراز ۲۵ درصد سلولها	
۲	نکروز در۵۰–۲۵ درصد سلولها	
۳	نکروز در۷۵–۵۰ درصد سلولها	
۴	نکروز در بیش از ۷۵ درصد سلولها	
۰	عدم آتروفی	**آتروفی غدد**
۱	آتروفی در کمتراز ۲۵ درصد غدد	
۲	آتروفی در۵۰–۲۵درصد غدد	
۳	دژنرسانس در۷۵–۵۰ درصد غدد	
۴	دژنرسانس در بیش از ۷۵ درصد غدد	
۰	عدم وجود سلولهای التهابی	**نفوذ سلولهای التهابی**
۱	نفوذ سلولهای التهابی فقط در زیر اپیتلیوم	
۲	نفوذ سلولهای التهابی درتمام اندومتر	
۳	نفوذ سلولهای التهابی در اندومتر و میومتر	

۳- نتایج

۳-۱. تعیین غلظت PM2.5، ازون، دی اکسید نیتروژن و دی اکسید گوگرد

نتایج بدست آمده از غلظت PM2.5، ازون، دی اکسید نیتروژن و دی اکسید گوگرد در(**جدول ۲**) ارائه گردید. همانطور که مشاهده میگردد میزان غلظت PM2.5 و دی اکسید نیتروژن از حد مجاز ارائه شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) بالاتر و غلظت ازون و در اکسید گوگرد از حد مجاز پایین‌تر بودند.

جدول ۲. غلظت آلاینده‌های PM2.5، ازون، دی اکسید نیتروژن و دی اکسید گوگرد.

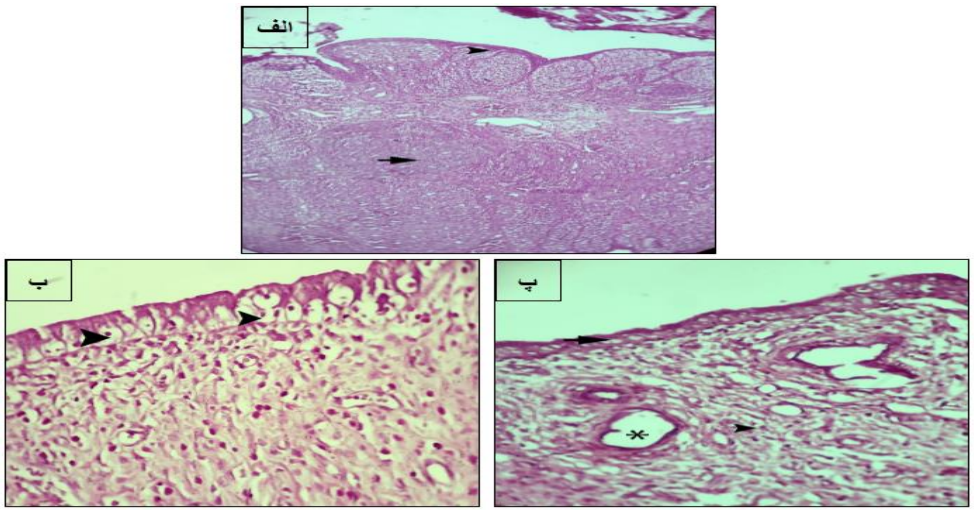
آلاینده ها	زمان تحت معرض	واحد	غلظت	سطح مجاز ارائه شده WHO
PM2.5	سه ماه	**$\mu g/m^3$**	۴۱/۴±۷۶/۴۲	۲۵
ازون	سه ماه	**ppb**	۸/۱±۷۶/۰۵	۱۰
دی اکسید گوگرد	سه ماه	**ppb**	۳/۱±۷۶/۲۲	۲۰
در اکسید نیتروژن	سه ماه	**ppb**	۵۹/۷±۸۷/۰۲	۱۰۰

۳-۲. تعیین غلظت فلزات و هیدروکربن‌های چند حلقه ای

غلظت فلزات سنگین همراهی کننده ی PM2.5 مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان دادند آلومینیوم (۸۷/۱۰±۶/۱۰ میلی گرم برمتر مکعب) بالاترین غلظت را و منگنز(۰/۱۵±۰/۰۹ میلی گرم برمتر مکعب) کمترین غلظت را به خود اختصاص داده است. همچنین نتایج بررسی غلظت PAHs نشان دادند که بالاترین غلظت مربوط به Phenanthrene بود و مجموع غلظت‌های تمامی ۱۶ PAHs در ارتباط با PM2.5 ۴۰/۵۹±۱۰/۰۰ نانوگرم بر مترمکعب محاسبه گردید.

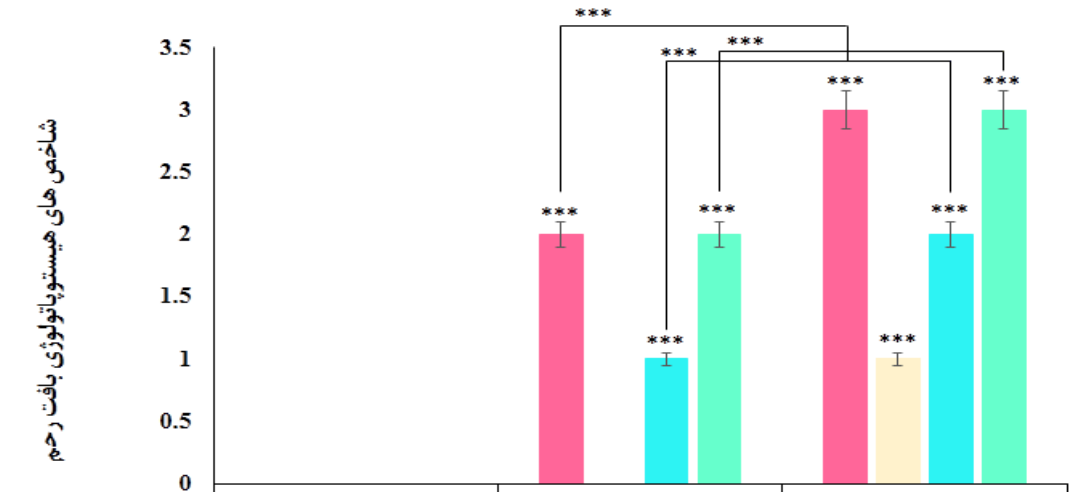
۳-۳. پاتولوژی بافت رحم در گروه‌های تیماری و کنترل

در تصویر بدست آمده از مقطع هیستوپاتولوژی رحم در گروه Healthy Control، اندومترو میومتر بصورت طبیعی مشاهده گردید(الف). همچنین در بررسی مقطع هیستوپاتولوژی رحم در گروه Exposure1، دژنرسانس اندومتر و نفوذ سلولهای التهابی در اندومتر به وضوح دیده شد (ب). مقطع هیستوپاتولوژی رحم در گروه Exposure2، دژنرسانس اندومتر ونفوذ سلولهای التهابی در اندومتر و آتروفی اپیتلیوم غدد را نشان داد (پ) (**نگاره ۱**).



نگاره ۱. برش‌های بافتی از مقطع رحم گروه‌های تیمار شده و کنترل سالم. الف) گروه Control Healthy مقطع هیستوپاتولوژی رحم در گروه بدون مواجهه که اندومتر(نوک پیکان) و میومتر(پیکان) بصورت طبیعی دیده می شود(H&E,40X). ب) مقطع هیستوپاتولوژی رحم در گروه Exposure1 که دژنرسانس اندومتر(نوک پیکان) دیده می شود(H&E,400X). پ) مقطع هیستوپاتولوژی رحم در گروه Exposure2 که دژنرسانس اندومتر(نوک پیکان) ونفوذ سلولهای التهابی در اندومتر(پیکان) و آتروفی اپیتلیوم غدد(*) دیده می شود (H&E,100X).

در بررسی شاخص‌های هیستوپاتولوژی رحم که شامل دژنرسانس اپیتلیوم، نکروز اپیتلیوم، آتروفی غدد و نفوذ سلول‌های التهابی بودند Exposure2 در تمامی شاخص‌ها نسبت به کنترل سالم افزایش آماری معنی داری را نشان داد P<۰/۰۰۱. در حالی که گروه Exposure1 تنها درارتباط با شاخص‌های دژنرسانس اپیتلیوم، آتروفی غدد و نفوذ سلول‌های التهابی افزایش آماری معنی داری را نسبت به کنترل سالم نشان داد P<۰/۰۰۱. در مقایسه ی گروه‌های تیماری Exposure1 و Exposure2 با یکدیگر، افزایش آماری معنی داری از شاخص‌های دژنرسانس اپیتلیوم، آتروفی غدد و نفوذ سلول‌های التهابی در گروه Exposure2 مشاهده گردید P<۰/۰۰۱ (**نمودار ۱**).

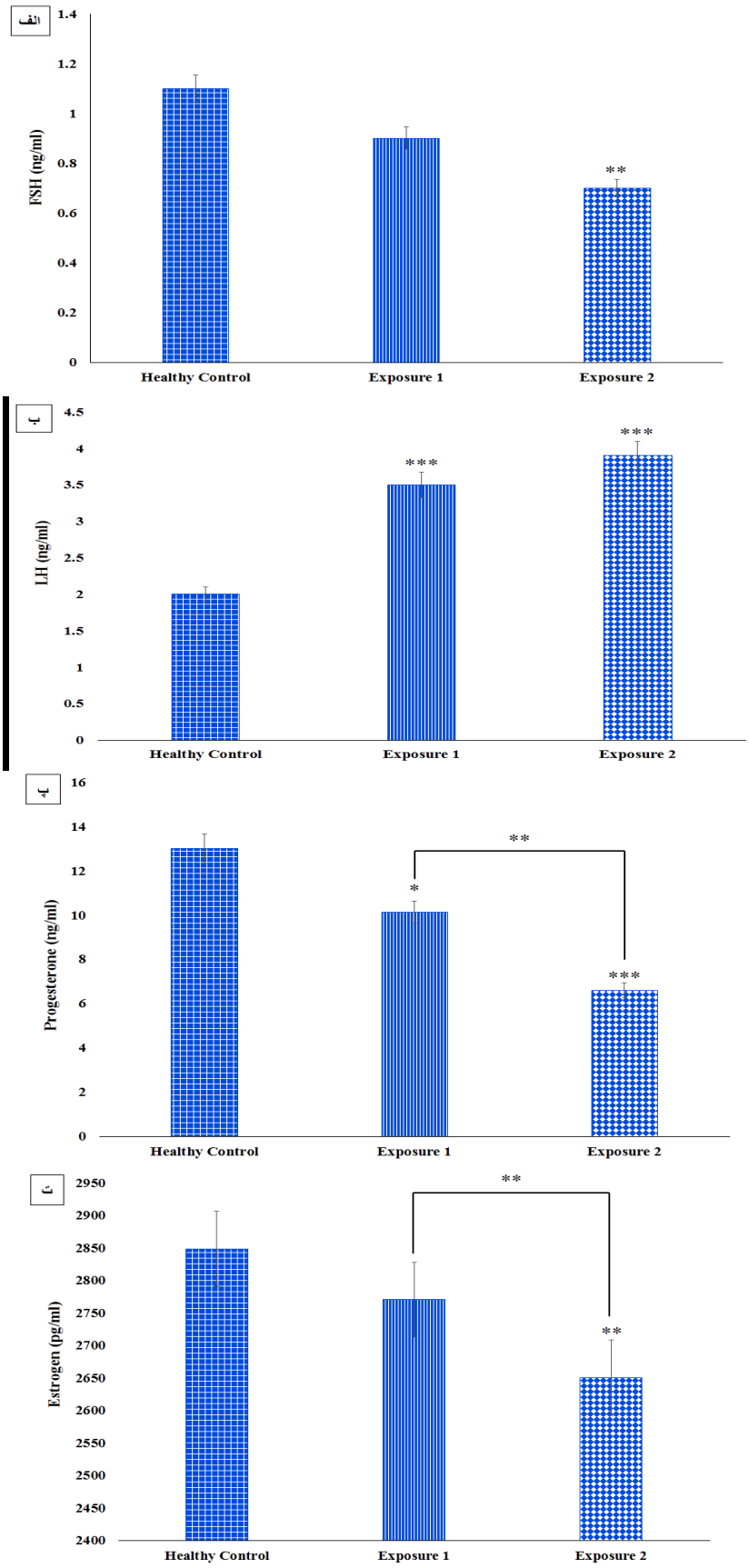


	کنترل سالم	Exposure 1	Exposure 2
دژنرسانس اپیتلیوم	0	2	3
نکروز اپیتلیوم	0	0	1
آتروفی غدد	0	1	2
نفوذ سلول های التهابی	0	2	3

نمودار ۱. ارزیابی هیستوپاتولوژی بافت رحم در گروه‌های مورد مطالعه. (P<۰/۰۰۱ *)، (P<۰/۰۱ **) و (P<۰/۰۵ *) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه‌های تیماری با یکدیگر می‌باشد.**

۳-۴. سطح هورمون‌های LH، FSH، استروژن و پروژسترون

میزان سطح هورمون LH، FSH، استروژن و پروژسترون در خون گروه‌های تیمار شده با Exposure1 و Exposure2 در دوره ی تیماری ۳ ماه مورد بررسی قرار گرفت (**نمودار ۲**). سطح هورمون FSH در گروه Exposure2 نسبت به کنترل سالم کاهش آماری معنی داری P<۰/۰۰۱ نشان داد (الف). سطح هورمون LH در گروه های Exposure1 و Exposure2 نسبت به کنترل سال افزایش آماری معنی داری P<۰/۰۰۱ نشان داد (ب). بیان پروژسترون در گروه‌های Exposure1 و Exposure2 نسبت به کنترل سالم کاهش تغییرات آماری معنی داری به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۰۱ نشان داد. همچنین در مقایسه سطح بیان پروژسترون بین دو گروه Exposure1 و Exposure2، کاهش آماری معنی دار این هورمون در Exposure2 مشاهده گردید (P<۰/۰۱) (پ). در مطالعه ی تغییرات هورمون استروژن گروه Exposure2 نسبت به کنترل سالم، کاهش آماری معنی داری P<۰/۰۱ مشاهده گردید و از طرفی در مقایسه ی این گروه با گروه تیمار شده با Exposure1 نیز، کاهش آماری معنی داری P<۰/۰۱ در میزان بیان استزوژن مشاهده گردید (ت).



نمودار ۲. میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) سطح هورمون‌های FSH (الف)، LH (ب)، پروژسترون (پ) و استروژن (ت) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در مدت ۳ ماه. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۶ سر می‌باشد. (P<۰/۰۰۱ *)، (P<۰/۰۱ **) و (P<۰/۰۵ *) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل سالم می‌باشد.**

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر، میانگین غلظت کاتیون‌ها و فلزات در ذرات PM2.5 را طی یک دوره ۳ ماهه نشان می‌دهد. به طور کلی، آلومینیوم بالاترین و منگنز پایین‌ترین غلظت را در میان کاتیون‌ها و فلزات موجود در PM2.5 به خود اختصاص دادند. در مورد هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) مرتبط با PM2.5، فنانترن بیشترین فراوانی را در بین ترکیبات PAH داشت، در حالی که بنزوات کمترین غلظت را به خود اختصاص داد. مطالعه F. Guo و همکاران (۲۰۲۲) در چین، ویژگی‌ها و منابع فلزات کمیاب در ذرات معلق PM 2.5 را بررسی کرد و نشان داد که آلودگی در زمستان بیشترین میزان را دارد و از منابعی مانند گرد و غبار، احتراق زغال‌سنگ و ترافیک ناشی می‌شود. این تحقیق مشخص کرد که بلع، مسیر اصلی مواجهه با این فلزات است و کودکان، به ویژه در برابر خطرات غیرسرطان‌زایی و سرطان‌زایی فلزاتی چون آرسنیک و سرب، آسیب‌پذیرتر هستند. با توجه به سبک زندگی این روزهای انسان آلودگی هوا به شکل ذرات معلق PM2.5 بزرگترین تهدید بهداشت محیطی شناخته شده است (۲۶). آلودگی هوا حاوی PM2.5 علاوه بر اینکه بر مسیرهای بیولوژیکی و اثرات بیولوژیکی اندام‌های تنفسی موثر است، تاثیرات بسیار خطرناکی در دوران بارداری و دستگاه تولید مثل ماده دارد زیرا این ذرات می‌توانند از طریق دستگاه تنفسی وارد جریان خون شوند و حتی در دوران بارداری خود را به جنین برسانند. باتوجه به اینکه شناخت مکانیسم دقیق و مؤثر ذرات آلاینده و مسیرهای عملکردی اشان بر روی ساختارهای بافتی دستگاه تناسلی بسیار حائز اهمیت است تا بتوان پیشگیری یا روش درمانی موثری در این آسیب‌ها یافت، اندازه‌گیری تغییرات هورمونی که شاخصی در تعیین سرطان‌ها از جمله سرطان رحم مورد توجه قرار گرفته است بنابراین، در این مطالعه به بررسی تاثیرات PM2.5 بر هورمون‌های LH، FSH، استروژن و پروژسترون و آسیب‌های هیستوپاتولوژی بافت رحم در موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار در یک دوره ی سه ماهه پرداخته شد. در مطالعه Liu و همکاران (۲۰۲۲) در مدل ماده موش صحرایی، مواجهه با PM2.5 سبب کاهش سطوح هورمون‌های استروژن، پروژسترون و FSH شد . مطالعات نشان داده اند که قرار گرفتن در معرض PM2.5 ممکن است منجر به تغییرات در سطح استروژن شود (Pan, Wang, Chang, Song, Yi, Zhao, Zhang, Fang, Du, & Cheng, 2023; Pan, Wang, Chang, Song, Yi, Zhao, Zhang, Fang, Du, et al., 2023). آسیب پذیرترین دوره در برابر مواجه با آلودگی هوا دوران بارداری و جنینی است که در این دوران، تکامل جنینی و اندام زایی رخ می‌دهد وجنین فاقد فعالیّت سیستم ایمنی در این دوران می‌باشد. مطالعات نشان داده اند که بین قرار گرفتن مادر در هوای آلوده و وزن کم هنگام تولد ارتباط مستقیم وجود دارد؛ به گونه‌ای که با افزایش آلودگی هوا، خطر کم وزنی افزایش می‌یابد و همچنین، افزایش گرد و غبار هوا، سبب افزایش تولد زود هنگام و مرگ و میر ناشی از آن می‌شود. همچنین گزارش شده است که قرار گرفتن در معرض دود تنباکو منجر به ضعف تولید مثل در زنان سیگاری می‌شود و مدت زمان بیشتری برای ایجاد لقاح در زنان سیگاری مورد نیاز است یعنی تعداد انجام چرخه‌های لقاح آزمایشگاهی برای رسیدن به یک لقاح موفق در زن‌های سیگاری حدوداً دو برابر بیشتر است؛ حتی کاهش قابل توجه ضعف تولید مثل در زنان غیرسیگاری که در معرض دود سیگار بوده اند وجود دارد. نتایج گروهی از محققان نشان داد با بررسی اثرات کوتاه مدت آلودگی هوا بر روی زاد و ولد زوج‌ها، با افزایش هر ۱۰ میکروگرم بر مترمکعب سطح PM2.5 در هوای آلوده حدوداً ۲۲٪ میزان زاد و ولد کاهش می‌یابد. بررسی‌های انجام شده وجود ارتباط نزدیک بین ناباروری و مواجهه با آلودگی PM2.5 را اثبات کرد. کادمیوم درغلظت‌های بالا درتنباکو وجود دارد و در بافت تخمدان افراد سیگاری تجمع می‌یابد در نتیجه به عنوان یک فلز سنگین توکسین بالقوه در تخمدان عمل اثرات نامطلوب دارد. سطح کادمیوم و کوتینین در مایع فولیکول تخمدان زنان نیز که درمان با لقاح آزمایشگاهی هستند با میزان سیگارکشیدن ارتباط مستقیم دارد . محققان طی مطالعه‌ای که بر روی ۱۳۶ زن که در شهر کراکو، لهستان با ترافیک و آلودگی بالا زندگی می‌کردند و با تمرکز بر روی فعالیت و عملکرد فیزیولوژی سیستم تناسلی آنها در مدت ۲ سال به این نتیجه رسیدند که دی اکسید گوگرد و ذرات معلق PM2.5 دارای اثرات منفی بر روی فاز لوتئال و طول دوره قاعدگی می‌باشند. به طوری که این ذرات آلاینده به عنوان منابع حاصل از احتراق سوخت‌های فسیلی موجب کوتاه شدن چشمگیر فاز لوتئال می‌شوند. همچنین، آنها گزارش کردند که قرار گرفتن در معرض دیگر منابع آلاینده مانند CO و NOx با طول دوره چرخه تخمدان یا فازهای چرخه قاعدگی در ارتباط نیست . سیگار کشیدن موجب افزایش فاز استراحت رحم و نوسانات انقباضی رحم زنان می‌شود. از بین رفتن همه مراحل فولیکول و افزایش فولیکول‌های آترزی و جسم زرد در بافت تخمدان موش تحت تأثیر PAHs حاصل از احتراق سوخت خودروها گزارش شده است. در نهایت این مواجهه منجر به کاهش حجم تخمدان در نتیجه ی فقدان فولیکولهای تخمدانی شده است. گزارشات بیان کردند که آلاینده‌های زیست محیطی که به عنوان عوامل مخرب غدد درون ریز عمل میکنند به نحوی می‌توانند آنتاگونیست رشد و تکامل تخمدان، فولیکولوژنز و استروئیدوژنز نیز باشند. اگرچه بسیاری از این آلاینده‌ها دارای قابلیت‌های پیش اکسیدانی هستند، اما اکسیداسیون مکانیسم عمل احتمالی است که باعث اختلال در اندوکرین گردد. همانطور که میدانیم هورمون LH از قسمت قدامی هیپوفیز (آدنوهیپوفیز) ترشح می‌شود. ساختار

گلیکوپروتئین هترودایمری آن مشابه سایر هورمون‌های گلیکوپروتئینی (FSH، TSH و hCG) است و آزادسازی LH از آدنوهیپوفیز تحت کنترل ترشحات پالسی هورمون GnRH (مترشحه از هیپوتالاموس) صورت می‌گیرد و منجر به تحریک تخمک گذاری، تحریک رشد سلول‌های فولیکولی پاره شده، تشکیل توده‌ای به نام جسم زرد و حمایت از سلول‌های تکای تخمدان برای تولید آندروژن‌ها و پیش‌سازهای هورمونی تولید استرادیول می‌باشد . افزایش تغییرات پالسی در هورمون LH نشانه عدم انجام تخمک‌گذاری است که با افزایش نسبت LH/FSH بروز می‌کند. افزایش این نسبت به نوبه خود باعث افزایش ترشح استرادیول می‌شود و در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک این نسبت از ۲ بالاتر است. مطالعه سالیناس و همکاران (۲۰۲۵) به بررسی اثرات ذرات PM2.5 ناشی از سوزاندن چوب بر سلامت باروری و رشد جنین در موش‌های صحرایی پرداخت. این تحقیق نشان داد که هیدروکربن‌های موجود در این ذرات، با فعال کردن گیرنده‌های آریل هیدروکربن(AHRs) ، در عملکرد محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–گناد اختلال ایجاد می‌کنند. در نتیجه این مکانیسم، چرخه‌های طبیعی قاعدگی و فرآیندهای تولیدمثلی تحت تأثیر منفی قرار می‌گیرند . بر اساس مطالعه لی و همکاران (۲۰۲۵)، قرار گرفتن در معرض PM2.5 با ایجاد اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی، پذیرش آندومتر برای لانه‌گزینی جنین را کاهش می‌دهد. این ذرات بیان مولکول‌های کلیدی و فاکتورهای رشد ضروری برای اتصال جنین را تغییر داده و از لانه‌گزینی موفق جلوگیری می‌کنند. همچنین، استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از PM2.5 با آسیب رساندن به سلول‌ها، این محیط حیاتی را بیشتر به خطر می‌اندازد. متعاقب مطالعات انجام شده، یافته‌های اصلی از مطالعه ی حاضر نیز همسو با نتایج گزارش شده ی دیگر محققان بود. نتایج ما نشان داد که قرار گرفتن در معرض PM2.5 به طور قابل توجهی موجب کاهش تولید هورمون‌های FSH، پروژسترون و استروژن و افزایش هورمون LH می‌شود که میتواند محرک سندرم تخمدان پلی کیستیک باشد. همچنین PM2.5 باعث آسیب‌های بافتی رحمی از جمله دژنرسانس اندومتر، نفوذ سلولهای التهابی در اندومتر و آتروفی اپیتلیوم غدد می‌شود که همراه با تغییرات شدید هورمونی میتواند در القای نازایی جنس ماده بسیار حائز اهمیت باشد. این داده‌ها در مجموع نشان می‌دهد که قرار گرفتن سه ماهه موش‌های ماده در محیط PM2.5 ممکن است باعث اختلال در عملکرد سیستم تناسلی و تولیدمثلی ماده شود و در نتیجه ناباروری را در پی داشته باشد.

نتیجه گیری

ایران کشوری در خاورمیانه است که با مشکلات متعدد آلودگی هوای حاوی PM2.5 درگیر می‌باشد. بسیاری از مطالعات حاکی از آن است که PM2.5 می‌تواند علت انواع بیماری‌های قلبی، تنفسی، بینایی، جنسی، ژنتیکی، تولیدمثلی و حتی مرگ باشد. در نتیجه، مطالعه حاضر با استفاده از مدل سازی حیوانات و معاینات هورمونی و پاتولوژی نشان داد که PM2.5 خطرناک‌ترین ماده آلودگی هوا است که بر روی مسیرهای هورمونی دستگاه تولید مثل ماده تأثیر می‌گذارد که به نوبه خود ممکن است منجر به مشکلات تولید مثلی و تداخل در ترشح هورمون‌های جنسی ضروری و بارداری شود. این در حالی است که گرم شدن کره زمین و افزایش صنعت آلاینده ممکن است میزان آلودگی هوا را افزایش دهد، از اینرو تجدید نظر کردن در سیاست‌های عمومی و قوانین دولتی برای کاهش PM2.5 بسیار ضروری می‌باشد.

منابع

- Arhami, M., Sillanpää, M., Hu, S., Olson, M. R., Schauer, J. J., & Sioutas, C. (2009). Size-segregated inorganic and organic components of PM in the communities of the Los Angeles Harbor. Aerosol Science and Technology, 43(2), 145-160 .
- Beckmann, A. M & ,.Wilce, P. A. (1997). Egr transcription factors in the nervous system. Neurochemistry international, 31(4), 477-510 .
- Bhattacharya, P., & Keating, A. F. (2012). Impact of environmental exposures on ovarian function and role of xenobiotic metabolism during ovotoxicity. Toxicology and applied pharmacology, 261(3), 227-235 .
- Candela, S., Ranzi, A., Bonvicini, L., Baldacchini, F., Marzaroli, P., Evangelista, A., Luberto, F., Carretta, E., Angelini, P., & Sterrantino, A. F. (2013). Air pollution from incinerators and reproductive outcomes: a multisite study. Epidemiology, 863-870 .

- Cherkasov, A., Muratov, E. N., Fourches, D., Varnek, A., Baskin, I. I., Cronin, M., Dearden, J., Gramatica, P., Martin, Y. C., & Todeschini, R. (2014). QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? Journal of medicinal chemistry, 57(12), 4977-5010 .
- Cohen, A. J., Brauer, M., Burnett, R., Anderson, H. R., Frostad, J., Estep, K., Balakrishnan, K., Brunekreef, B., Dandona, L., & Dandona, R. (2017). Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution: an analysis of data from the Global Burden of Diseases Study 2015. The lancet, 389(10082), 1907-1918 .
- Dadvand, P., Parker, J., Bell, M. L., Bonzini, M., Brauer, M., Darrow, L. A ,.Gehring, U., Glinianaia, S. V., Gouveia, N., & Ha, E.-h. (2013). Maternal exposure to particulate air pollution and term birth weight: a multi-country evaluation of effect and heterogeneity. Environmental health perspectives, 121(3), 267-373 .
- Eguiluz-Gracia, I., Mathioudakis, A. G., Bartel, S., Vijverberg, S. J., Fuertes, E., Comberiati, P., Cai, Y. S., Tomazic, P. V., Diamant, Z., & Vestbo, J. (2020). The need for clean air: The way air pollution and climate change affect allergic rhinitis and asthma .Allergy, 75(9), 2170-2184 .
- Frutos, V., Gonzalez-Comadran, M., Sola, I., Jacquemin, B., Carreras, R., & Checa Vizcaino, M. A. (2015). Impact of air pollution on fertility: a systematic review. Gynecological Endocrinology, 31(1), 7-13 .
- Guo, F., Tang, M ,.Wang, X., Yu, Z., Wei, F., Zhang, X., Jin, M., Wang, J., Xu, D., & Chen, Z. (2022). Characteristics, sources, and health risks of trace metals in PM2. 5. Atmospheric environment, 289, 119314 .
- Hammoud, A., Carrell, D. T., Gibson, M., Sanderson, M., Parker-Jones, K., & Peterson, C. M. (2010). Decreased sperm motility is associated with air pollution in Salt Lake City. Fertility and sterility, 93(6), 1875-1879 .
- Harper, J., O'Donnell, E., Khorashad, B. S., McDermott, H., & Witcomb, G. L. (2021). How does hormone transition in transgender women change body composition, muscle strength and haemoglobin? Systematic review with a focus on the implications for sport participation. British Journal of Sports Medicine, 55(15), 865-872 .
- Hebert, L. E., Weuve, J., Scherr, P. A., & Evans, D. A. (2013). Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 census. Neurology, 80(19), 1778-1783 .
- Kattner, L., Mathieu-Üffing, B., Burrows, J., Richter, A., Schmolke, S., Seyler, A., & Wittrock, F. (20 .(١٥Monitoring compliance with sulfur content regulations of shipping fuel by in situ measurements of ship emissions. Atmospheric chemistry and physics, 15(17), 10087-10092 .
- Lelieveld, J., Evans, J. S., Fnais, M., Giannadaki, D., & Pozzer, A. (2015). The contribution of outdoor air pollution sources to premature mortality on a global scale. Nature, 525(7569), 367-371 .
- Li, F., Duan, X., Li, M., Gao, Y., Kang, Y., Zheng, W., Guo, X., & Chen, Y. (2025). Environmental pollution and human fertility: investigating the relationship between PM2. 5 exposure and assisted reproductive technology outcomes. BMC Public Health, 25(1), 1357 .
- Li, T., Hu, R., Chen, Z., Li, Q., Huang, S., Zhu, Z., & Zhou, L.-F. (2018). Fine particulate matter (PM2. 5): The culprit for chronic lung diseases in China. Chronic diseases and translational medicine, 4(3), 176-186 .

- Liu, C., Yang, J., Du, X., Geng, X. J. E. S., & Research, P. (2022). Filtered air intervention modulates hypothalamic-pituitary-thyroid/gonadal axes by attenuating inflammatory responses in adult rats after fine particulate matter (PM2. 5) exposure. 29(49), 74851-74860 .
- Maciejczyk, P., Chen, L.-C., & Thurston, G. (2021). The role of fossil fuel combustion metals in PM2. 5 air pollution health associations. Atmosphere, 12(9), 1086 .
- Mahalingaiah, S., Hart, J., Laden, F., Farland, L., Hewlett, M., Chavarro, J., Aschengrau, A., & Missmer, S. (2016). Adult air pollution exposure and risk of infertility in the Nurses' Health Study II. Human Reproduction, 31(3), 638-647 .
- Merklinger-Gruchala, A., Jasienska, G., & Kapiszewska, M. (2017). Effect of air pollution on menstrual cycle length—a prognostic factor of women's reproductive health. International journal of environmental research and public health, 14(7), 816 .
- Milojevic, A., Wilkinson, P., Armstrong, B., Bhaskaran, K., Smeeth, L., & Hajat, S. (2014). Short-term effects of air pollution on a range of cardiovascular events in England and Wales: case-crossover analysis of the MINAP database, hospital admissions and mortality. Heart, 100(14), 1093-1098 .
- Moghaddam, F. D., Mortazavi, P., Hamedi, S., Nabiuni, M., & Roodbari, N. H. (2020). Apoptotic effects of melittin on 4T1 breast cancer cell line is associated with up regulation of Mfn1 and Drp1 mRNA expression. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 20(7), 790-799 .
- Nassan, F. L., Chavarro, J. E., Mínguez-Alarcón, L., Williams, P. L., Tanrikut, C., Ford, J. B., Dadd, R., Perry, M. J., Hauser, R., & Gaskins ,A. J. (2018). Residential distance to major roadways and semen quality, sperm DNA integrity, chromosomal disomy, and serum reproductive hormones among men attending a fertility clinic. International journal of hygiene and environmental health, 221(5), 83 .٠-٨٣٧
- Ojanotko-Harri, A. O., Harri, M. P., Hurttia, H. M., & Sewón, L. A. (1991). Altered tissue metabolism of progesterone in pregnancy gingivitis and granuloma. J Clin Periodontol, 18(4), 262-266. https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1991.tb00425.x
- Pan, R., Wang, J., Chang, W.-w., Song, J., Yi, W., Zhao, F., Zhang, Y., Fang, J., Du, P., & Cheng, J. (2023). Association of PM2. 5 components with acceleration of aging: moderating role of sex hormones. Environmental Science & Technology, 57(9), 3772-3782 .
- Pan, R., Wang, J., Chang, W.-w., Song, J., Yi, W., Zhao, F., Zhang, Y., Fang, J., Du, P., Cheng, J. J. E. S., & Technology. (2023). Association of PM2. 5 Components with Acceleration of Aging: Moderating Role of Sex Hormones. 57(9), 3772-3782 .
- Ruder, E .H., Hartman, T. J., Blumberg, J., & Goldman, M. B. (2008). Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. Human reproduction update, 14(4), 345-357 .
- Salinas, P., Ponce, N., Del Sol, M., & Vásquez, B. (2025). Impact of PM2 ٥ .Exposure from Wood Combustion on Reproductive Health: Implications for Fertility, Ovarian Function, and Fetal Development. Toxics, 13(4), 238 .
- Seinfeld, J. H., & Pandis, S. N. (2016). Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change. John Wiley & Sons .

- Sharma, R., Biedenharn, K. R., Fedor, J. M., & Agarwal, A. (2013). Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. Reproductive biology and endocrinology, 11(1), 1-15 .
- Shick, P. C., Riordan, G. P & ,.Foss, R. D. (1995). Estrogen and progesterone receptors in salivary gland adenoid cystic carcinoma. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 80(4), 440-444. https://doi.org/10.1016/s1079-2104(05)80338-5
- Shiverick, K., & Salafia, C. (1999). Cigarette smoking and pregnancy I: ovarian, uterine and placental effects. Placenta, 20(4), 265-272 .
- Sioutas, C., Delfino, R. J., & Singh, M. (2005). Exposure assessment for atmospheric ultrafine particles (UFPs) and implications in epidemiologic research. Environmental health perspectives, 113(8), 947-955 .
- Slama, R., Bottagisi, S., Solansky, I., Lepeule, J., Giorgis-Allemand, L., & Sram, R. (2013). Short-term impact of atmospheric pollution on fecundability. Epidemiology, 871-879 .
- Stieb, D. M., Chen, L., Eshoul, M., & Judek, S. (2012). Ambient air pollution, birth weight and preterm birth: a systematic review and meta-analysis. Environmental research, 117, 100-111 .
- Thangavel, P., Park, D., & Lee, Y.-C. (2022). Recent insights into particulate matter (PM2-(٥ . mediated toxicity in humans: an overview. International journal of environmental research and public health, 19(12), 7511 .
- Triantafyllou, E., Diapouli, E., Tsilibari, E., Adamopoulos, A., Biskos, G., & Eleftheriadis, K. (2016). Assessment of factors influencing PM mass concentration measured by gravimetric & beta attenuation techniques at a suburban site. Atmospheric environment, 131, 409-417 .
- Veras, M. M., Caldini, E. G., Dolhnikoff, M., & Saldiva, P. H. N. (2010). Air pollution and effects on reproductive-system functions globally with particular emphasis on the Brazilian population. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, 13(1), 1-15 .
- Wilhelm, M., & Ritz, B. (2005). Local variations in CO and particulate air pollution and adverse birth outcomes in Los Angeles County, California, USA. Environmental health perspectives, 113(9), 1212-1221 .
- Zereini, F., & Wiseman, C. L. (2010). Urban airborne particulate matter. Environ. Sci. Eng.. http://dx. doi. org/10.1007/978-3-642-12278-1_27 .
- Zheng, T., Zhang, J., Sommer, K., Bassig, B. A., Zhang, X., Braun, J., Xu, S., Boyle, P., Zhang, B., & Shi, K. (2016). Effects of environmental exposures on fetal and childhood growth trajectories. Annals of global health, 82(1), 41-99 .