تأثير فلوريد الصوديوم في خصوبة إناث الفئران

حسام جاسم حسين المفرجي[1] محمد باقر محمد رشاد فخر الدين [2]
عبد الله محمد حسن شبر[1]
[1] كلية الزراعة / جامعة بغداد [2] معهد أبحاث الأجنة وعلاج العقم / جامعة النهرين

المستخلص

تهدف هذه التجربة إلى معرفة تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم إلى إناث الفئران عن طريق ماء الشرب في خصوبة إناث الفئران. استخدمت 64 أنثى من إناث الفئران البالغة تم تقسيمها إلى أربع معاملات رئيسية (16 فأرة لكل معاملة) وفقاً الى جرعة فلوريد الصوديوم المأخوذة وهي معاملة القياس T_0 والمعاملات T_1 وT_2 وT_3 التي تمثل التراكيز المستخدمة من فلوريد الصوديوم 0 و200 و400 و600 جزء بالمليون على التوالي، قسمت كل معاملة من هذه المعاملات الرئيسية إلى مجموعتين فرعيتين تمثل كل واحدة مدة من مدد إعطاء فلوريد الصوديوم وهي 10 و15 أسبوعاً، وبذلك فقد أصبحت كل مجموعة فرعية تضم ثمان فئران. تم دراسة وزن الأعضاء التناسلية الأنثوية ومستوى هرمون الاستراديول والنسبة المئوية لعدد المواليد والخصوبة. أظهرت النتائج حصول انخفاض عالي المعنوية($P<0.01$) في وزن الجهاز التناسلي الأنثوي كاملاً وأوزان كل من المبايض والأرحام للمعاملات T_1 و T_2 و T_3 مقارنة مع القياس ولكل من مدتي التجربة 10 و 15 اسبوعاً. كما بينت النتائج حصول انخفاض في تراكيز هرمون الأستراديول للمعاملات الثلاث T_1 و T_2 و T_3 مقارنة مع القياس ولكل من مدتي التجربة 10 و 15 اسبوعاً. كذلك أظهرت النتائج حصول انخفاض واضح في كل من النسبة المئوية للخصوبة وعدد المواليد للمعاملات الثلاث T_1 و T_2 و T_3 مقارنة بالقياس، خلال مدتي التجربة 10 و 15 أسبوعاً. نستنتج من النتائج الحالية ان إعطاء فلوريد الصوديوم قد قلل من خصوبة إناث الفئران من خلال الانخفاض الحاصل في اوزان الأعضاء التناسلية وعدد الولادات الحية فضلاً عن هبوط مستوى هرمون الاستراديول في الدم.

THE EFFECT OF SODIUM FLUORIDE (NaF) ON FERTILITY OF FEMALE MICE

Hussam J. H. Al-Mufraji[1] ; Muhammad-Baqir M-R. Fakhrildin[2] ; Abdullah M. H. Shubber[1]

[1] College of Agriculture, University of Baghdad ; [2] IVF Institute of Embryo Research and Infertility Treatment, Al-Nahrain University ;

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of oral administration of sodium fluoride (NaF) on fertility of female mice. Sixty four mature female mice were divided into four major groups including: control (C) group and three treatments groups (T_1 , T_2 and T_3) according to NaF dose which were: 0, 200 ppm, 400 ppm and 600 ppm respectively. Each major group was subdivided into two minor groups according to the period of NaF administration (10 or 15 weeks). Therefore, each minor group contains eight females. Parameters studied were: weight of female reproductive organs, level of serum estradiol, percentage of live birth and fertility. Results revealed significant reduction ($P<0.01$) in the weights of whole female reproductive system, ovaries and uterine horns for all treated groups as compared to control group for both periods of experiment. Serum estradiol for all treatment groups was reduced when compared to control group for both periods of experiment. A significant reduction ($P<0.05$) was observed in the percentages of live birth and fertility for all treated groups as compared to control group. Therefore, it was concluded that the NaF administration reduced fertility of female mice, number of mice born and level of serum estradiol.

المقدمة

يعد الفلوريد مكوناً طبيعياً لسوائل الجسم والأنسجة الناعمة والعظام والأسنان، وعادة ما تضاف أملاح الفلوريد الى مياه الشرب لمنع حدوث تسوس الأسنان (22). يؤدي تناول جرع عالية من الفلور الى حدوث أضرار كبيرة ومختلفة، منها انخفاض معدل الخصوبة في ذكور الفئران (2, 6, 23)، والفشل في أداء وظائف الكلية في حالة التسمم المزمن بالفلوراید (18) وحدوث تغيرات تركيبية وانخفاض في فعالية الأنزيمات والأيض في أدمغة الحيوانات المختبرية، ولذا يعد الفلوراید سُماً عصبياً (Neurotoxin) (20, 21)، كذلك فأن تجريع الفئران فلوريد الصوديوم بتراكيز مختلفة تؤدي الى انخفاض في وزن الجسم وانخفاض تركيز هرمون الثايروكسين T_4 في بلازما الدم وانخفاض تراكيز المركبات البروتينية في معظم أنسجة الجسم (14)، يؤدي التسمم المزمن بالفلوراید إلى حصول حالات مرضية عديدة ناتجة من التعرض طويل الأمد للفلوراید التي قد تمتد لأشهر أو لسنوات (16). لاحظ الباحثان Chinoy و Patel (4) حصول زيادة في تراكيز الكلايكوجين في الرحم ترتبط مع انخفاض تراكيز الكلوكوز بالدم الذي يرتبط مع تثبيط فعالية أنزيم الفسفرة (Phosphorylase) المؤثر في أيض الكاربوهيدرات في الرحم، فضلاً عن انخفاض مستويات البروتين في المصل والرحم الذي يدل على حدوث تغير في أيض الرحم وذلك عند إعطاء الفلوراید الى إناث الفئران بتركيز 5 ملغم/ كغم من وزن الجسم لمدد مختلفة هي 7 أو 15أو 30 أو 45 أو60 يوماً. كما تبين أن إضافة الفلوراید الى غذاء إناث الجرذان بتركيز 97 ملغم/ كغم يؤدي الى انخفاض عدد المواليد الناتجة لكل أنثى وزيادة في عدد الأيام من التزاوج وحتى إنتاج أول مولود يصاحبه زيادة الهلاك في المواليد وتغير نسبة الجنس بأتجاه زيادة عدد الذكور (13). أوضح Messer واخرون (15) أن تجريع الفئران مياه شرب محتوية على الفلوراید بتراكيز 0 و50 و100 و200 ملغم/ لتر لمدة 33 أسبوعاً لم يؤدِّ الى إنتاج مواليد مطلقاً عند تزاوج مجموعة الحيوانات المعطاة 200 ملغم فلوراید/ لتر، أما تزاوج مجموعة الحيوانات المعطاة 100 ملغم فلوراید/ لتر فقد أدى الى ولادة 9 مواليد فقط من مجموع 50 حيواناً متزاوجاً، وان 6 من هذه المواليد ولدت ميتة أو أنها أُكلت بعد الولادة. بين Chinoy و Patel (5) أن تجريع إناث الفئران بمقدار 10 ملغم فلوريد الصوديوم/ كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً أدى الى حصول انخفاض في مستوى هرمون الأستراديول في مصل الدم من 17.14 الى 12.88 بيكوغرام/ مل.

تهدف هذه التجربة الى معرفة مدى تأثر خصوبة اناث الفئران بأستخدام تراكيز مختلفة من فلوريد الصوديوم وإمكانية التقليل من تناسل القوارض التي تعد احد العوامل المسببة لتلف المحاصيل الحقلية والتأثير في حقول الثروة الحيوانية، فضلاً عن تأثيرها السيء في الصحة العامة للأنسان.

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة

استخدمت في هذه الدراسة إناث فئران بالغة من سلالة Swiss albino تراوحت أعمارها من 10 إلى 12 أسبوعاً عند بداية التجربة. تمت تربيتها في أقفاص بلاستيكية صغيرة معتمة قياس 11.5 × 12.5×29 سم حيث وضعت 4 حيوانات في كل قفص. فرشت أرضية الأقفاص بنشارة خشب مطحونة بصورة ناعمة مع استبدال الفرشة القديمة بفرشة جديدة وغسل الأقفاص بالماء والصابون بمعدل مرة واحدة أسبوعياً، فضلاً عن تأمين درجة الحرارة بحدود 22-25 م^{o} وتعريض الحيوانات إلى 12-14 ساعة إضاءة يومياً. تمت مراقبة الحيوانات قبل بداية التجربة لمدة ثلاثة أسابيع وهي تتغذى على عليقة طبيعية تتوفر فيها احتياجات الحيوان من الطاقة والبروتين وتشرب ماء الحنفية العادي لغرض تكييفها، وتم خلال هذه المدة إبعاد الحيوانات المريضة وغير الطبيعية. تم إعطاء الماء والغذاء الى الحيوانات بصورة حرة.

تحضير تراكيز فلوريد الصوديوم في ماء الشرب

أضيفت ثلاثة اوزان من مسحوق فلوريد الصوديوم هي 200 و 400 و 600 ملغم لكل لتر واحد من ماء الحنفية لأجل الحصول على تراكيز 200 و 400 و 600 جزء بالمليون من فلوريد الصوديوم. تم إعطاء هذه التراكيز عن طريق ماء الشرب لإناث الفئران طيلة فترتي التجربة (10 و15 أسبوعاً). أما بالنسبة لمجموعة القياس فقد تم إعطاؤها ماء حنفية من دون الفلوراید.

تصميم التجربة

وزعت 64 فأرة بأربع معاملات رئيسية كل منها تضم 16 فأرة. وقسمت المعاملات الرئيسية إلى مجموعتين ثانويتين تمثل كل منهما مدة من مدتي إعطاء فلوريد الصوديوم 10 و 15 أسبوعاً، فأصبحت كل وحدة تجريبية تضم 8 فأرات تم وضعها في قفصين بواقع 4 حيوانات في كل قفص. كانت المعاملات:

1- **معاملة القياس (T_0)** : أعطيت مياه شرب طبيعية خالية من فلوريد الصوديوم.

2- **تركيز فلوريد الصوديوم الأول (T_1)** : أعطيت مياه شرب محتوية على 200 جزء بالمليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.

3- **تركيز فلوريد الصوديوم الثاني (T_2)** : أعطيت مياه شرب محتوية على 400 جزء بالمليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.

4- **تركيز فلوريد الصوديوم الثالث (T_3)** : أعطيت مياه شرب محتوية على 600 جزء بالمليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.

التزاوج الطبيعي

بعد أنتهاء مدة 6 أو 11 أسبوعاً من بداية التجربة تم جمع الإناث لمعاملات التجربة مع ذكور سليمة في أقفاص تزاوج استمرت لثمانية أيام والتي تمثل تقريباً دورتي شبق لإناث الفئران (دورة الشبق لإناث الفئران هي 4 أيام)، وبما أن التجربة مصممة على أساس إعطاء فلوريد الصوديوم إلى إناث الفئران طول مدة التزاوج والحمل وحرصاً على عدم استهلاك الذكور للمادة أثناء التزاوج مع الإناث فقد تم جمع الذكور مع الإناث عند الساعة الثانية ظهراً مع سحب قناني الماء المعامل بفلوريد الصوديوم من الأقفاص. في اليوم التالي وعند الساعة الثامنة صباحاً تم سحب الذكور من أقفاص التزاوج وإرجاع قناني الماء المعامل بفلوريد الصوديوم إلى إناث الفئران وعند الساعة الثانية ظهراً من اليوم نفسه تم إرجاع الذكور غير المعاملة إلى أقفاص التزاوج مع سحب الماء المعامل من الأقفاص. استمرت هذه العملية لثمانية أيام لحين الانتهاء من أقفاص التزاوج ولكافة المعاملات، تم تطبيق العملية نفسها لمعاملة القياس. أن نسبة عدد الذكور مع الإناث كانت ذكراً واحد لكل أنثى علماً ان الذكور كانت مرباة في نفس الظروف وكانت بعمر 13-15 أسبوعاً. بعد ولادة الإناث تم حساب عدد المواليد الناتجة من كل معاملة. شرحت الإناث لغرض الحصول على الجهاز التناسلي الأنثوي كاملاً والمبيضين وقرني الرحم وتم وزنها بميزان حساسيته 0.00001 غم.

فحص هرمون الاستراديول والتحليل الاحصائي

بعد انتهاء مدة التجربة البالغة 10 و15 أسبوعاً تم تخدير الإناث المعاملة باستخدام مادة (Pentoparbitole and Seton) وسحب الدم من القلب مباشرة بثقب القلب ووضع الدم في أنابيب صغيرة ذات غطاء (Eppindorf tubes) حاوية على مادة مانعة للتخثر (EDTA). بعدها وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لثلاث دقائق وبسرعة 2500 دورة/دقيقة وذلك لعزل المصل عن الخلايا الدموية. تم حفظ المصل في المجمدة عند درجة -18م° لحين إجراء تحليل تركيز هرمون الأستراديول في المصل الناتج من المعاملات المختلفة باستخدام طريقة التحليل المناعي الإشعاعي Radioimmunoassay (RIA). أجري التحليل الاحصائي بأستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز (17) والتصميم العشوائي الكامل (CRD)، وحددت معنوية الفروق بين المتوسطات بأختبار دنكن متعدد الحدود (8).

النتائج والمناقشة

أوزان الأعضاء التناسلية الأنثوية

يتضح من جدول 1 حصول انخفاض عالي المعنوية ($P<0.01$) في وزن الجهاز التناسلي الأنثوي كاملاً وأوزان المبايض والأرحام لكافة المعاملات T_1 و T_2 و T_3 لمدة 10 أسابيع مقارنة مع القياس. في حين يبين جدول 2 النتائج الخاصة بمدة 15 أسبوعاً إذ لوحظ حصول انخفاض عالي المعنوية ($P<0.01$) في وزن الجهاز التناسلي الأنثوي لكافة المعاملات T_1 و T_2 و T_3 مقارنة مع القياس. لم تتفق هذه النتيجة مع نتيجة Al-Hiyasat واخرون (1) الذين أشاروا إلى حصول زيادة في أوزان المبايض والأرحام بعد تجريع إناث الفئران بمقدار 200 جزء بالمليون من فلوريد الصوديوم لمدة 30 يوماً. بما أن فلوريد الصوديوم يؤدي إلى زيادة نسبة الكولسترول في مصل دم إناث الفئران (5)، لذا فقد يعزى سبب انخفاض أوزان الأعضاء التناسلية إلى أن زيادة نسبة الكولسترول تعمل على زيادة ترسب هذه المادة في بطانة الأوعية الدموية مما يؤدي إلى حصول انخفاض في قطر الوعاء الدموي وعدم تجهيز كمية كافية من الدم المحمل بالمواد الايضية والأوكسجين إلى الأعضاء التناسلية اللازمة لنموها وتشكلها. قد يعزى سبب زيادة تراكيز الكولسترول الى ان الفلوراید یعد عاملاً مثبطاً لعمل الانزيمات في الجسم وبما ان أيض الكولسترول وتحوله الى الهرمونات الستيرويدية المختلفة يعتمد على عدد من الأنزيمات لذا فقد يعود سبب زيادة تراكيز الكولسترول الى حصول انخفاض في فعالية هذه الأنزيمات. إن الانخفاض الحاصل في وزن قرني الرحم قد يرجع إلى أن فلوريد الصوديوم يؤدي إلى حصول انخفاض في تركيز هرمون الأستراديول في مصل دم إناث الفئران (5). يسبب هرمون الأستراديول تكاثر وتوسع الخلايا العضلية الملساء في الرحم مسبباً زيادة في حجم الرحم بعد البلوغ (11)، فضلاً عن أن هذا الهرمون مسؤول عن نمو وتشكل قناة البيض والرحم والمهبل (3)، لذا يعتقد بأن الانخفاض الحاصل في أوزان القرون الرحمية هو نتيجة انخفاض في إفراز هذا الهرمون بفعل المعاملة بمادة فلوريد الصوديوم.

جدول 1. تأثير المعاملة بفلوريد الصوديوم في الوزن المطلق لكل من الجهاز التناسلي الأنثوي والمبيضين وقرني الرحم لإناث الفئران لمدة 10 أسابيع (المتوسط ± الخطأ القياسي)

الصفة / المعاملات	الوزن المطلق للجهاز التناسلي الأنثوي (غم)	الوزن المطلق للمبيضين (غم)	الوزن المطلق لقرني الرحم (غم)
القياس T_0	0.2300±0.004 a	0.0388±0.001 a	0.0910±0.001 a
T_1	0.2033±1.017 a	0.0215±0.003 b	0.0645±0.007 b
T_2	0.1100±0.001 b	0.0111±0.001 c	0.0375±0.002 c
T_3	0.0996±0.004 b	0.0093±0.000 c	0.0220±0.001 d

المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة تشير إلى وجود فروق معنوية على مستوى (P<0.01) بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

جدول 2. تأثير المعاملة بفلوريد الصوديوم في الوزن المطلق لكل من الجهاز التناسلي الأنثوي والمبيضين وقرني الرحم لإناث الفئران لمدة 15 أسبوعاً (المتوسط ± الخطأ القياسي)

الصفة / المعاملات	الوزن المطلق للجهاز التناسلي الأنثوي (غم)	الوزن المطلق للمبيضين (غم)	الوزن المطلق لقرني الرحم (غم)
القياس T_0	0.2087±0.007 a	0.0260±0.001 a	0.0770±0.001 a
T_1	0.1150±0.025 b	0.0120±0.002 b	0.0594±0.018 b
*T_2	-	-	-
T_3	0.0600±0.000 c	0.0078±0.000 c	0.0198±0.000 c

المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة تشير إلى وجود فروقات معنويـــة علـــى مســـتوى (P<0.01) بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

* هلكت جميع الحيوانات في هذه المعاملة قبل نهاية مدة التجربة وبذلك لم يتم إجراء الفحوص عليها

تحليل هرمون الأستراديول

أظهرت نتائج جدول 3 حصول انخفاض في تراكيز هرمون الأستراديول للمعاملات T_1 و T_2 و T_3 مقارنة مع القياس، وكان هذا الانخفاض أكثر وضوحاً في معاملة T_3 بالنسبة لمدة 10 أسابيع ، كما تبين حصول انخفاض في تراكيز الهرمون المذكور في كل من معاملتي T_1 و T_3 مقارنة بالقياس، وكان هذا الانخفاض أشد في معاملة T_3 مقارنة مع بقية المعاملات وذلك بالنسبة لمدة 15 أسبوعاً. قد يعود السبب إلى ان فلوريد الصوديوم يؤدي الى حصول انخفاض في تركيز أنزيم 17 β Hydroxy Steroid Dehydrogenase (5)، وكما هو معلوم فأن هذا الأنزيم يعد أحد الأنزيمات الرئيسة التي تعمل على تحويل الكولسترول إلى أستراديول ضمن سلسلة من التفاعلات داخل المبيض (12, 7)، والذي يؤكد ذلك هو أن الفلورايد يؤدي إلى حصول زيادة في تركيز الكولسترول داخل المبيض (5) مما يشير إلى حصول تغير في أيض الكولسترول وعدم تحوله إلى أستراديول.

جدول 3. تأثير المعاملة بفلوريد الصوديوم في مستوى هرمون الأستراديول (بيكوغرام/ مل) في مصل إناث الفئران المعاملة لمدة 10 و 15 أسبوعاً.

مدة التجربة / المعاملات	10 أسابيع	15 أسبوعاً
القياس T_0	8.44	8.84
T_1	7.07	8.67
T_2	6.12	*-
T_3	5.85	6.44

* هلكت جميع حيوانات هذه المعاملة قبل نهاية مدة التجربة

النسبة المئوية لعدد المواليد والخصوبة

يتضح من جدول 4 حصول انخفاض واضح في كل من النسبة المئوية لعدد المواليد والخصوبة لكافة المعاملات (T_1 و T_2 و T_3) مقارنة بالقياس خلال مدتي التجربة 10 و 15 أسبوعاً. كان هذا الانخفاض أكثر وضوحا في معاملة T_3 مقارنة مع بقية المعاملات بالنسبة لمدة 10 أسابيع، وفي معاملة T_2 و T_3 مقارنة مع بقية المعاملات بالنسبة لمدة 15 أسبوعاً. وقد اتفقت هذه النتيجة مع نتيجة Freni (9) الذي لاحظ بأن استهلاك تراكيز عالية من الفلورايد مرتبط مع انخفاض معدلات الولادة. كما تتفق هذه النتيجة مع نتيجة Messer واخرون (15) الذين ذكروا أن تجريع الفئران مياه شرب محتوية على الفلورايد بتراكيز 0 و 50 و 100 و 200 ملغم / لتر لمدة 33 أسبوعاً لم يؤدِّ إلى إنتاج مواليد مطلقاً عند تزاوج مجموعة الحيوانات المعطاة 200 ملغم فلورايد / لتر، أما تزاوج مجموعة حيوانات 100 ملغم فلورايد/ لتر فقد أدى إلى ولادة 9 مواليد فقط من مجموع 50 حيواناً متزاوجاً، وأن ستة من هذه المواليد ولدت ميتة أو أنها أكلت بعد الولادة. قد يعود سبب انخفاض النسبة المئوية لعدد المواليد والخصوبة إلى إمكانية عبور الفلورايد بسهولة من خلال المشيمة (19)، وهذا قد يؤثر في نمو وتشكل الجنين داخل الرحم الذي ربما يؤدي إلى موت الجنين قبل ولادته أو بعد الولادة بمدة قصيرة نتيجة لعدم اكتمال نموه. يتفق هذا التفسير مع نتيجة الباحثين Goh و Neff (10) الذين ذكرا بأن فلوريد الصوديوم يؤثر على أجنة الضفادع بصورة مباشرة حيث يؤثر في تشكلها العام ويسبب لها التشوه. هذا وان الفلورايد يؤدي إلى حصول التهاب الكلية الكبيبي (18) في الأرانب، وأن الخلايا الطلائية للكبيبة تعمل على افراز هرمون كلايكوبروتيني هو Erythropoitin الذي يعد المنظم الرئيسي لتكوين خلايا الدم الحمراء في نخاع العظم، ويعني انخفاض أعداد كريات الدم الحمراء في الدم أنخفاض كمية الأوكسجين المنقولة الى أنسجة الجسم بما فيها الجنين، وبالتالي عدم وصول الأوكسجين إلى الجنين ومن ثم هلاكه.

يستنتج من هذه التجربة ان أعطاء فلوريد الصوديوم الى اناث الفئران يؤدي الى حصول تدهور واضح في قابلية هذه الحيوانات على التناسل وإنتاج مواليد بصورة طبيعية.

جدول 4. تأثير المعاملة بفلوريد الصوديوم في النسبة المئوية لعدد المواليد والخصوبة في إناث الفئران لكل من مدتي التجربة 10 و 15 أسبوعاً

مدة التجربة	10 أسابيع					15 أسبوع				
الصفة / المعاملات	عدد الإناث الكلي	عدد الإناث الوالدة	عدد المواليد	(%) لعدد المواليد *	(%) للخصوبة **	عدد الإناث الكلي	عدد الإناث الوالدة	عدد المواليد	(%) لعدد المواليد *	(%) للخصوبة **
القياس T_0	8	8	38	475.0	100.0	8	8	36	450.0	100.0
T_1	8	3	17	212.5	37.5	8	3	13	162.5	37.5
T_2	8	1	6	75.0	12.5	7	0	0	0.0	0.0
T_3	8	1	4	50.0	12.5	7	0	0	0.0	0.0

* النسبة المئوية لعدد المواليد = (عدد المواليد / عدد الإناث الكلي)× 100

** النسبة المئوية للخصوبة = (عدد الإناث الوالدة / عدد الإناث الكلي)× 100

المصادر

1.Al-Hiyasat, A.S., A.M. Elbetieha, and H. Darmani. 2000. Reproductive toxic effects of ingestion of sodium fluoride in female rats. Fluoride 33(2): 79-84.

2.Elbetieha, A., H. Darmani, and A.S. Al-Hiyasat. 2000. Fertility effects of sodium fluoride in male mice. Fluoride 33(3): 128-134.

3.Bullock, J., J. Boyle, and M.B. Wang. 1995. Physiology. 3rd ed., Middle East Edition, Mass Publishing Co., 9 Al Tahrir St., Dokki, Giza, Egypt, Wiliams and Wilkins, Baltimore, Maryland,USA, 1994. p.p. 497-514.

4.Chinoy, N.J. and D. Patel. 1996. Ameliorative role of amino acids on fluoride induced alterations in uterine carbohydrate metabolism in mice. Fluoride 29(4): 217-226.

5.Chinoy, N.J. and T.N. Patel. 2001. Effects of sodium fluoride and aluminum chloride on ovary and uterus of mice and their reversal by some antidotes. Fluoride 34(1): 9-20.

6.Chinoy, N.J. and A. Sharma. 2000. Reversal of fluoride-induced alteration in cauda epididymal spermatozoa and fertility impairment in male mice. Environmental Sciences: An International Journal of Environmental Physiology and Toxicology, 7(1):29-38.

7.Costanzo, L.S. 1998. Physiology: Board review series. 2nd ed., Lippincott Williams and Wilkins, Maryland, Pennsylvania, USA. p.p. 274-278.

8.Duncan, D. 1955. Multiple Range and Multiple F-test. Biometrics, 11:1-24.

9.Freni, S.C. 1994. Exposure to high fluoride concentrations in drinking water associated with decreased birth rates. J. Toxicology and Environmental Health 42: 109-121.

10. Goh, E.H. and A.W. Neff. 2003. Effects of fluoride on xenopus embryo development. Food Chem. Toxicol. 41(11): 1501-8.

11. Hall, J.E. and T.H. Adair. 1998. Physiology: Rypins intensive reviews. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York. USA. p.p. 241-249.

12. Johnson, M. and B. Everitt, 1988. Fertility. In: Johnson M, and B. Everitt (eds.) Essential Reproduction., Blackwell Scientific Publication, London, UK. p.p. 60-336.

13. Krasowska, A. 1989. Influence of low-chitin krill meal on reproduction of clethrionomys glareolus. Comp. Biochim. Physiol. 94C(1): 313-320.

14. Mahmoud, T., G. Fadhel and Z. Najiba. 2001. Effect of fluoride on thyroid function and cerebellar development in mice. Fluoride 34(3): 165-173.

15. Messer, H.H., W.D. Armstrong and L. Singer. 1973. Influence of fluoride intake on reproduction in mice. J. Nutr. 103: 1319-1326.

16. New Jersey Department of Health and Senior Services (NJDHSS). 1998. Hazardous substance fact sheet. (Internet File).

17. SAS, 2001. SAS / STAT `Users` Guide for Personal Computers. Release 6.12 . SAS Institute Inc., Cary , NC., USA.

18. Shashi, A., J.P. Singh and S.P. Thapar. 2002. Toxic effects of fluoride on rabbit kidney. Fluoride 35(1): 38-50.

19. Shen, Y.M. and D.R. Taves. 1974. Fluoride concentration in the human placenta and maternal and cord blood. Am. J. Obstet. Gynecol. 119: 205-207.

20. Shivarajashankara, Y.M., A.R. Shivashankara, P.G. Bhat and S.H. Rao. 2002. Brain lipid peroxidation and antioxidant systems of young rats in chronic fluoride intoxication. Fluoride 35(3): 153-160.

21. Sun Z.R., F.Z. Liu and L.N. Wu. 2001. Effects of high fluoride drinking water on the cerebral functions of mice. Fluoride 34(1): 80.

22. Suwalsky, M., B. Norris, F. Villena, F. Cuevas, P. Stomayor and P. Zatta. 2004. Aluminum fluoride affects the structure and functions of cell membranes. Food Chem. Toxicol. 42(6):925-33.

23. Zhu, X.Z., C.J. Ying, S.H. Liu, K.D. Yang and Q.Z. Wang. 2000. The primary study of antagonism of selenium on fluoride-induced reproductive toxicity of male rat. Chung-Kuo Kung Kung Wei Sheng (China Public Health), 16(8): 697-8.