

تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم NaF إلى إناث الفئران على القابلية الإخصابية لكل من بويضات الإناث ونطف مواليدها الذكور خارج الجسم

محمد باقر محمد رشاد فخر الدين¹ و حسام جاسم حسين بنانه² و عبد الله محمد حسن شبر³

¹ معهد أبحاث الأجنة وعلاج العقم - جامعة النهرين

^{2,3} كلية الزراعة - جامعة بغداد

art_mbmrfd@yahoo.com

تاريخ تقديم البحث 2007/9/30 - تاريخ قبول البحث 2008/2/25

ABSTRACT

The present study was performed to investigate the effect of orally administration of sodium fluoride (NaF) to female mice within water on ability of female oocytes and spermatozoa of male offspring for in vitro fertilization (IVF). Sixty four mature female mice were used and divided into four major groups according to dose of (NaF), control (C) and three treatments groups (T₁, T₂ and T₃) as 0, 200, 400 and 600 ppm respectively. Each group was subdivided into two minor subgroups according to administration period for 10 and 15 weeks. Females were caged with fertile male mouse after 6 week or 11 week depending on treatment period respectively. After period of mating and gestation male offspring were isolated and growing for 10 weeks to achieve IVF.

The results of IVF for oocytes of treated females and spermatozoa of male of male offspring appeared reduction in the percentage of fertilized oocytes and increased in the percentage of abnormal embryos for T₁ group as compared to C group for both treatment periods. The results also showed reduction in the number of recovered oocytes from treated female group as compared with control group for both periods 10 and 15 weeks. The results of present study, treatment female mouse with NaF caused reduction in the fertilizing capacity of female oocytes and spermatozoa of mal offspring.

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية بهدف معرفة تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم (NaF) إلى إناث الفئران عن طريق ماء الشرب في قابلية بويضات إناث الفئران ونطف مواليدها الذكور على الإخصاب خارج الجسم (*In vitro Fertilization; IVF*). استخدمت في هذه التجربة إناث فئران بالغة عددها (64 أنثى) تم تقسيمها إلى أربع مجاميع رئيسية (16 فأرة لكل مجموعة) وفقاً إلى جرعة فلوريد الصوديوم المأخوذة وهي مجموعة السيطرة C وكل من المعاملات T₁ و T₂ و T₃ وتمثل هذه المجاميع التراكيز المستخدمة من مادة فلوريد الصوديوم وهي 0 و 200 و 400 و 600 جزء لكل مليون (ppm) على التوالي. وكل مجموعة من هذه المجاميع الرئيسية قسمت إلى مجموعتين ثانويتين تمثل كل واحدة مدة من مدد إعطاء فلوريد الصوديوم وهي 10 و 15 أسبوعاً. وبعد مرور مدة 6 أسابيع (بالنسبة لتجربة 10 أسابيع) ومدة 11 أسبوع (بالنسبة لتجربة 15 أسبوع) أدخلت إناث الفئران في أقفاص تزواج مع ذكور غير معاملة، وبعد انتهاء فترة التزاوج والحمل تم الحصول على المواليد حيث تم تربية المواليد الذكور لمدة 10 أسابيع وذلك بهدف إجراء الإخصاب الخارجي.

أظهرت نتائج الإخصاب الخارجي لبويضات أنث الفئران المعاملة ونطف مواليدها الذكور حصول انخفاض في النسبة المئوية للبويضات المخصبة وزيادة النسبة المئوية للموالية للأجنة غير الطبيعية بالنسبة لمعاملة T₁ مقارنة مع مجموعة السيطرة C ولكل من مدتي التجربة 10 و 15 أسبوعاً. كما أظهرت النتائج حصول انخفاض في عدد البويضات المستردة من مجاميع الإناث المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة ولكل من مدتي التجربة 10 و 15 أسبوعاً. يستنتج من هذه الدراسة أن معاملة إناث الفئران بمادة فلوريد الصوديوم يؤدي إلى انخفاض القابلية الإخصابية لبويضات الإناث ونطف مواليدها الذكور.

المقدمة

يتواجد الفلور في الطبيعة بشكل مرتبط ويدعى حينئذٍ بالفلورايد، وهو مصطلح عام يشير إلى المركبات غير العضوية المحتوية على عنصر الفلور (6). يوجد الفلورايد في الطبيعة بكميات كبيرة ومن مصادر مختلفة، حيث يتوزع الفلورايد بسرعة من خلال الدورة الجهازية (Systematic cycle) إلى السوائل داخل الخلايا وخارجها في الأنسجة (Intracellular and Extracellular fluids) (15). كما أشار الباحثون إلى أن الفلورايد ينتقل عبر المشيمة ويدخل الدورة الدموية للجنين (7)، حيث لوحظ من خلال الدراسات بأن المشيمة (Placenta) ليس لها أي دور مانع لانتقال الفلورايد إلى الجنين. أشارت العديد من الدراسات على القوارض إلى وجود تأثيرات سلبية للفلورايد على التناسل، حيث تشير الدراسات إلى أن إعطاء فلوريد الصوديوم إلى ذكور الفئران يؤدي إلى حصول انخفاض معنوي في كل من إنزيمي الأكروسين (Acrosin) والهايلورونيديز (Hyaluronidase) في الجسيم الطرفي (Acrosome) (4)، وحصول انخفاض في نسبة الوزن الرطب للخصية والبروستات (Prostate) والحوصلات المنوية (Seminal vesicle) فضلاً عن انخفاض معنوي في عدد النطف بالبrix (Epididymis) وتجفيف الخصية مع حصول زيادة في نسبة النطف المشوهة (12). كما يؤدي الفلورايد إلى حصول انخفاض في أوزان رأس وذيل البrix وعاقة عملية توليد النطف وانخفاض الهرمونات الجنسية الذكرية مع كل من هرموني LH و FSH (5).

وقد أوضح الباحث Al-Hiyasat وزملاؤه (1) أن إعطاء فلوريد الصوديوم إلى إناث الفئران البالغة بتركيز 200 و 400 و 600 جزء لكل مليون عن طريق ماء الشرب لمدة 30 يوماً قد أدى إلى انخفاض عدد الأجنة الحية ووزن الجسم بصورة معنوية في جميع التراكيز مقارنة بمجموعة السيطرة. لذلك تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير استخدام تراكيز متعددة من مادة فلوريد الصوديوم على القابلية الإخصابية لكل من بويضات الإناث المعاملة بمادة فلوريد الصوديوم ونطف موالدها الذكور.

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة

استخدمت في هذه الدراسة إناث فئران بيضاء بالغة بعمر (10 أسابيع) عند بداية التجربة وقد تمت تربيتها في أقفاص بلاستيكية صغيرة قياس 11.5 × 12.5 × 29 سم حيث تم وضع 4 حيوانات في كل قفص. وقد تمت مراقبة الحيوانات قبل بداية التجربة لمدة ثلاثة أسابيع وهي تتغذى على عليقة طبيعية وتشرب ماء الحنفية العادي لغرض تكيفها، وتم خلال هذه الفترة إبعاد الحيوانات المريضة وغير الطبيعية. هذا وقد تم إعطاء الماء والغذاء إلى الحيوانات بصورة حرة (Ad libitum).

تصميم التجربة

تم تقسيم 64 أنثى من إناث الفئران إلى أربع مجاميع رئيسية كل مجموعة تضم 16 فأرة اعتماداً على جرعة فلوريد الصوديوم المأخوذة وهي 200 و 400 و 600 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم بالإضافة إلى مجموعة السيطرة التي أعطيت ماء حنفية خالي من أية إضافة، وبعدها فإن كل مجموعة من هذه المجاميع الرئيسية قسمت إلى مجموعتين ثانويتين تمثل كل واحدة منهما مدة من مدد إعطاء فلوريد الصوديوم وهي 10 و 15 أسبوعاً. وبذلك فقد أصبحت كل مجموعة ثانوية تضم 8 أنثى. وأن المجاميع الرئيسية هي :

- مجموعة السيطرة **Control (C)** : أعطيت مياه شرب طبيعية وخالية من أية إضافة خلال مدتي التجربة.
- مجموعة فلوريد الصوديوم الأولى (**T₁**) : أعطيت مياه شرب محتوية على 200 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.
- مجموعة فلوريد الصوديوم الثانية (**T₂**) : أعطيت مياه شرب محتوية على 400 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.
- مجموعة فلوريد الصوديوم الثالثة (**T₃**) : أعطيت مياه شرب محتوية على 600 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.

برامج إفراط الإباضة

تم حقن إناث الفئران المختبرية بمقدار 10 وحدات دولية من هرمون محفز نمو الحويصلات (FSH- Gonadotropin Releasing Hormone, Serono, Italy) داخل التجويف البريتوني (Intraperitoneal)، وبعد مرور 48 ساعة تم حقن نفس الإناث بمقدار 10 وحدات دولية من هرمون موجه القند المشيمي البشري (hCG-Profasi 5000 I.U.; Serono, Italy) في التجويف البريتوني . وبعد 16-18 ساعة من حقن الجرعة الأخيرة تم تشريح الإناث بهدف الحصول على البويضات من قناة البيض لغرض إجراء الإخصاب خارج الجسم. حيث تم غسل قناة البيض من الداخل باستخدام محقنة دقيقة قياس 28 (G- 28) حاوية على نصف مليلتر من الوسط الزرع الجاهز (Flushing medium- Medi Cult, Denmark) لغرض إخراج البويضات، حيث تم دفع الوسط الزرع بواسطة المحقنة الدقيقة من إحدى جهتي قناة البيض تدريجياً لغرض إخراج البويضات مع الوسط الزرع من الجهة الأخرى. وبعد أن تم إخراج البويضات تم وضعها في الوسط الزرع الجاهز (Universal IVF medium - Medi Cult, Denmark) لغرض تصنيفها إلى غير ناضجة وناضجة ومتحطمة اعتماداً على وجود الجسم القطبي الأول وعدداً من الصفات المظهرية الأخرى.

تقانة الإخصاب الخارجي

تم تشريح ذكور الفئران المختبرية المولودة من إناث معاملة بمادة فلوريد الصوديوم واستخراج قناتي الأسهر (Vas deferens) وتنظيفهما من الأنسجة المحيطة، وتم غسل تجويف قناتي الأسهر باستخدام محقنة انسولين حاوية على 1 مل من وسط تحضير النطف (Sperm preparation medium, Medi-Cult, Denmark) للحصول على النطف، أجري فيما بعد فحص وظائف النطف. ثم ضبطت تراكيز النطف بحيث تكون 10×10^6 نطفة/مل، حيث تمت إضافة البويضات إلى النطف بمعدل 5-6 بويضة ناضجة لكل 0.5 مل من الوسط الحاوي على النطف في أطباق بتري خاصة بالإخصاب الخارجي وغطيت بزيت البرافين (Paraffin oil, Medi-Cult, Denmark) وحضنت في حاضنة ثاني أوكسيد الكربون التي تحتوي على 5% CO_2 و 95% O_2 بدرجة حرارة 37 م° لمدة 18-20 ساعة لغرض تقييم نتائج الإخصاب الخارجي. وتمت متابعة التطور الجنيني لمدة ثلاثة أيام مع ملاحظة استبدال الوسط الزرع مرتين كل يوم.

التحليل الإحصائي

أجري التحليل الإحصائي بأستعمال البرنامج الإحصائي الجاهز (25) بأستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD)، ولتشخيص الفروق المعنوية بين المتوسطات تم مقارنتها بأستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود.

النتائج والمناقشة

إفراط الاباضة والإخصاب الخارجي لبويضات الإناث المعاملة

بينت نتائج برنامج إفراط الاباضة لأنثى الفئران حصول انخفاض في معدل عدد البويضات المستردة بالنسبة لمعاملة T_1 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C، كما اظهرت النتائج حصول انخفاض عالي المعنوية ($P < 0.01$) في النسبة المئوية للبويضات المخصبة لمعاملة T_1 مقارنة بمجموعة السيطرة C لمدة 10 أسابيع (الجدول 1)، كما لوحظ وجود زيادة معنوية ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية لمعاملة T_1 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C. هذا ولم يتم إجراء الإخصاب الخارجي لإناث كل من معالمتي T_2 و T_3 لمدة 10 أسابيع لعدم الحصول على بويضات من قناتي البيض (الجدول 1).

يظهر الجدول (2) نتائج الإخصاب الخارجي لمجموعة السيطرة C والمجاميع المعاملة بمادة فلوريد الصوديوم T_1 و T_2 و T_3 لمدة 15 أسبوعاً، حيث يلاحظ من الجدول بأن برنامج إفراط الاباضة لإناث معاملة T_1 قد أدى إلى استخراج بويضات متحللة ومشوهة من قناتي البيض ولا تنفع لإجراء اختبارات الإخصاب الخارجي، أما إناث معاملة T_2 فقد ماتت جميعها قبل انتهاء مدة المعاملة كما لوحظ عدم وجود بويضات في قناتي البيض الخاصة باناث معاملة T_3 وبذلك لم يتم إجراء اختبارات الإخصاب الخارجي لكل من المعاملات T_1 و T_2 و T_3 (الجدول 2).

ان هذه النتائج تتفق مع نتيجة الباحثين Goh و Neff (8) اللذين أوضحوا بأن فلوريد الصوديوم يؤثر على أجنة الضفادع بصورة مباشرة حيث يؤثر على تطورها ويسبب لها التشوه وهذا يشير إلى حصول زيادة في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية، كما تتماشى هذه النتيجة مع نتيجة الباحث Krasowska (10) الذي لاحظ حصول انخفاض في عدد المواليد الناتجة لكل أنثى من إناث الجرذان وذلك عند تجريعها بمقدار 97 ملغم فلوريد الصوديوم / كغم من وزن الجسم والذي قد يكون احد اسبابه حصول انخفاض في النسبة المئوية لعدد البويضات المخصبة لدى إناث الجرذان. في حين لم تتفق هذه النتيجة مع نتيجة كل من الباحثين Helal و El Dakdoky (9) اللذين أوضحوا بأن معاملة إناث الفئران بمقدار 40 ملغم فلوريد الصوديوم/ كغم من وزن الجسم ابتداءً من اليوم الثامن للحمل وحتى اليوم التاسع عشر لم يظهر فروق معنوية في كل من عدد الاجنة المجهضة والاجنة المشوهة وعدد الوفيات وعدد المواليد في البطن الواحدة.

وقد يعود سبب حصول انخفاض في النسبة المئوية للبويضات المخصبة إلى حصول احتقان وتفسخ للبويضات داخل الحويصلات المبيضية وهذا التفسير يتفق مع نتيجة الباحث Shashi (13) الذي لاحظ وجود بويضات محتقنة في الحويصلات المبيضية وحصول تفسخ في البويضات (Oocyte disintegration) وذلك عند معاملة إناث الأرانب بمقدار 5 و 10 و 20 و 50 ملغم فلوريد الصوديوم / كغم من وزن الجسم / يوم لمدة 100 يوم. كما قد يعود سبب انخفاض عدد البويضات الناتجة لكل أنثى إلى حصول انخفاض في افراز هرمونات الغدة الدرقية (Hypothyroidism) حيث يؤدي التعرض لمادة الفلورايد إلى حصول انخفاض في افراز هرمون الثايروكسين T_4 والتراي ايودو ثايرونين T_3 (14)، ويؤدي الانخفاض في افراز هرمون الثايروكسين إلى حصول تضارب في دورة الشبق (Estrus cycle) واضطراب في عملية الاباضة وبالتالي يؤدي إلى العقم (Infertility) (11).

الإخصاب الخارجي للمواليد الذكور

يظهر الجدول (3) حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للبويضات المخصبة لمجموعة المعاملة T_1 مقارنة مع مجموعة السيطرة C، كما لوحظ وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية لكل من معاملة T_1 ومجموعة السيطرة C وذلك بالنسبة للمواليد الذكور المعاملة امهاتها بتركيز مختلفة من مادة فلوريد

الصوديوم لمدة 10 اسابيع. ويكشف الجدول (4) نتائج الإخصاب الخارجي للمواليد الذكور والخاصة بمدة 15 أسبوعاً، حيث يلاحظ حصول انخفاض عالي المعنوية ($P < 0.01$) في النسبة المئوية للبويضات المخصبة وزيادة معنوية ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية بالنسبة لمعاملة T_1 مقارنة مع مجموعة السيطرة C، مع العلم بأن مواليد كل من معاملي T_2 و T_3 قد ماتت جميعها بعد ولادتها بمدة لا تتجاوز أسبوع واحد بالنسبة لفترة 10 اسابيع، أما أنثى معاملي T_2 و T_3 الخاصة بفترة 15 أسبوع فإن تزواجها مع ذكور سليمة غير معاملة بمادة فلوريد الصوديوم لم يؤدي الى انتاج مواليد مطلقاً ولذلك فإن اختبارات الاخصاب الخارجي قد اجريت لمجموعة السيطرة ومعاملة T_1 فقط.

ويرجع سبب انخفاض النسبة المئوية لعدد البويضات المخصبة الى حصول انخفاض في عدد النطف وحيويتها او حصول زيادة في نسبة النطف المشوهة والتي قد تؤدي الى انخفاض معدل الخصوبة، وهذا التفسير يتفق مع نتيجة عدد من الباحثين الذين لاحظوا بان اعطاء فلوريد الصوديوم الى ذكور الفئران يؤدي الى حصول انخفاض في عدد النطف وحيويتها والنسبة المئوية لحيوية النطف مع حصول زيادة في نسبة النطف المشوهة، ويمكن ان يعود سبب انخفاض عدد البويضات المخصبة الى حصول انخفاض في نسبة النطف المتحركة (12). وقد يرجع سبب انخفاض القابلية الاخصابية لنطف المواليد الذكور الى حصول انخفاض في انزيمي الاكروسين والهالورونيديز في الجسم الطرفي، ويتفق هذا التفسير مع نتيجة الباحث Chinoy وزملاؤه (4) الذي ذكر بان تجريع ذكور الفئران مادة فلوريد الصوديوم بتركيز مختلفة يؤدي الى تثبيط انزيمي الاكروسين والهالورونيديز وكما هو معلوم فإن هذين الانزيمين لهما دور كبير في اختراق الاغلفة المحيطة بالبويضة والتي من ضمنها الخلايا الحويصلية وغشاء (Zona pellucida). ويمكن أن يعود سبب زيادة نسبة الأجنة غير الطبيعية الى ان فلوريد الصوديوم يؤدي الى ضمور أنوية الخلايا الطلائية (Epithelial cell nuclear pyknosis) للنبيب المنوي (3)، وتتفق هذه النتيجة مع نتيجة الباحثان Nusier و Bataineh (2) حيث ذكروا بأن تجريع ذكور الفئران الناضجة بمادة فلوريد الصوديوم بتركيز 100 و 300 جزء لكل مليون في ماء الشرب لمدة 12 اسبوع قد ادى الى زيادة عدد الاجنة المشوهة في انثى الفئران الملقحة من قبل ذكور معاملة بمادة فلوريد الصوديوم وبالتالي انخفاض الخصوبة.

يستنتج من هذه الدراسة ان معاملة انثى الفئران بمادة فلوريد الصوديوم يؤدي الى انخفاض القابلية الاخصابية لبويضات الاناث ونطف مواليدها الذكور.

تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم NaF إلى إناث الفران على القابلية الإخصابية لكل من بويضات الإناث ونطف مواليدها الذكور خارج الجسم

محمد و حسام و عبد الله

جدول 1- نتائج الإخصاب الخارجي للبويضات المستردة من مجاميع الإناث المعاملة بتراكيز مختلفة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 10 أسابيع

النسبة المنوية لمراحل انقسام الخلايا الجينية					الأجنة غير الطبيعية		البويضات المخصبة		معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	الصفات
16 خلية	خلايا 8	خلايا 4	خليتان	بويضة مخصبة	النسبة المنوية	معدل عددها	النسبة المنوية	معدل عددها		
6.46 ±3.15 A	41.12 ±5.97 a	29.19 ±4.82 a	21.45 ±3.65 A	1.78 ±1.78 a	17.60 ±2.03 A	1.25	52.59 ±3.49 a	7.1	13.5	مجموعة C السيطرة
0 ±0 A	0 ±0 b	3.71 ±3.71 b	33.79 ±7.87 B	62.50 ±9.56 b	35.62 ±2.69 B	1.66	38.22 ±3.80 b	4.66	12.19	معاملة T ₁
-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	معاملة T ₂ *
-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	معاملة T ₃ *

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

تشير المتوسطات التي تحمل حرفاً كبيراً ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية (P<0.05)

تشير المتوسطات التي تحمل حرفاً صغيراً ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية (P<0.01)

النسبة المنوية للبويضات المخصبة = (معدل عدد البويضات المخصبة / معدل عدد البويضات الكلي) × 100

النسبة المنوية للأجنة غير الطبيعية = (معدل عدد الأجنة غير الطبيعية / معدل عدد البويضات المخصبة) × 100

النسبة المنوية لأي مرحلة من مراحل انقسام الخلايا الجينية = (معدل عدد الأجنة لأي مرحلة من مراحل الانقسام / معدل عدد البويضات المخصبة) × 100

*بعد أن تم تشريح الإناث لوحظ عدم وجود بويضات في قرني الرحم وبذلك لم يتم إجراء الإخصاب الخارجي لها.

جدول 2- نتائج الإخصاب الخارجي للبويضات المستردة من مجاميع الإناث المعاملة بتراكيز مختلفة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 15 أسبوعاً

النسبة المنوية لمراحل انقسام الخلايا الجينية					الأجنة غير الطبيعية		البويضات المخصبة		معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	الصفات
16 خلية	خلايا 8	خلايا 4	خليتان	بويضة مخصبة	النسبة المنوية	معدل عددها	النسبة المنوية	معدل عددها		
5.69 ±2.77	32.37 ±4.36	33.74 ±4.52	22.55 ±4.73	5.65 ±2.77	19.02 ±2.65	1.37	54.96 ±3.46	7.2	13.1	مجموعة C السيطرة
-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	معاملة T ₁ *
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	معاملة T ₂ **
-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	معاملة T ₃ ***

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

* بعد أن تم تشريح الإناث وسحب البويضات لوحظ أنها بويضات متحللة ومشوهة لا تتفق لإجراء عمليات الإخصاب الخارجي

** ماتت جميع الحيوانات قبل نهاية مدة التجربة وبذلك لم يتم إجراء الإخصاب الخارجي لها

*** بعد أن تم تشريح الإناث لوحظ عدم وجود بويضات في قرني الرحم وبذلك لم يتم عمل الإخصاب الخارجي لها .

جدول-3: نتائج الإخصاب الخارجي لنطف المواليد الذكور التي عوملت أمهاتها بتركيز متعددة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 10 أسابيع

النسبة المنوية لمراحل انقسام الخلايا الجنينية					الأجنة غير الطبيعية		البويضات المخصبة		معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	الصفات
16 خلية	خلايا 8	خلايا 4	خليتان	بويضة مخصبة	النسبة المنوية	معدل عددها	النسبة المنوية	معدل عددها		
3.59 ±3.57 A	27.97 ±7.86 A	44.64 ±5.35 A	16.07 ±6.83 A	7.73 ±4.49 A	16.89 ±3.93 A	1.25	54.81 ±3.64 A	7.4	13.5	مجموعة السيطرة C
0 ±0 A	50 ±0 A	31.25 ±6.25 A	18.75 ±6.25 A	0 ±0 A	45.45 ±0.52 B	2.5	41.98 ±10.41 B	5.5	13.1	T ₁ معاملة
-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	T ₂ * معاملة
-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	T ₃ * معاملة

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية (P<0.05)

* لوحظ موت جميع المواليد ضمن هذه المجاميع بعد ولادتها بمدة لا تتجاوز أسبوعاً واحداً .

النسبة المنوية للبويضات المخصبة = (عدد البويضات المخصبة / عدد البويضات الكلي) × 100

النسبة المنوية للأجنة غير الطبيعية = (عدد الأجنة غير الطبيعية / عدد البويضات المخصبة) × 100

النسبة المنوية لأي مرحلة من مراحل انقسام الخلايا الجنينية = (عدد الأجنة لأي مرحلة من مراحل الانقسام / عدد البويضات المخصبة) × 100

جدول-4: نتائج الإخصاب الخارجي لنطف المواليد الذكور التي عوملت أمهاتها بتركيز متعددة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 15 أسبوعاً

النسبة المنوية لمراحل انقسام الخلايا الجنينية					الأجنة غير الطبيعية		البويضات المخصبة		معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	الصفات
16 خلية	خلايا 8	خلايا 4	خليتان	بويضة مخصبة	النسبة المنوية	معدل عددها	النسبة المنوية	معدل عددها		
12.16 ±7.22 A	35.89 ±5.68 A	41.54 ±3.45 a	10.41 ±6.25 A	0 ±0 a	14.08±3 .74 A	1	56.80 ±2.93 a	7.1	12.5	مجموعة السيطرة C
0 ±0 A	33.34 ±0 A	66.66 ±0 b	0 ±0 A	0 ±0 a	66.66 ±0 B	2	29.41 ±0 b	3	10.2	T ₁ معاملة
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T ₂ * معاملة
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T ₃ * معاملة

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية (P<0.05)

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية (P<0.01)

* لم تحدث ولادات في هذه المجاميع مطلقاً

النسبة المنوية للبويضات المخصبة = (عدد البويضات المخصبة / عدد البويضات الكلي) × 100

النسبة المنوية للأجنة غير الطبيعية = (عدد الأجنة غير الطبيعية / عدد البويضات المخصبة) × 100

النسبة المنوية لأي مرحلة من مراحل انقسام الخلايا الجنينية = (عدد الأجنة لأي مرحلة من مراحل الانقسام / عدد البويضات المخصبة) × 100

عدد البويضات المخصبة) × 100

المصادر

1. Al-Hiyasat, AS, Elbetieha, AM, and Darmani, H. **Reproductive toxic effects of ingestion of sodium fluoride in female rats. Fluoride, 33(2): 79-84. (2000).**
2. Butaineh HN, and Nusier MK. **Impact of 12-week ingestion of sodium fluoride on aggression, sexual behavior and fertility in adult male rats. Fluoride, 39(4): 293-301(2006).**
3. Chinoy NJ, and Sequeira, E. **Effects of fluoride on the histoarchitecture of reproductive organs of the male mouse. Reprod. Toxicol. 3(4): 261-7(1989).**
4. Chinoy NJ, Mehta D, and Jhala DD. **Effects of fluoride ingestion with protein deficient or protein enriched diets on sperm function of mice. Fluoride, 39(1): 11-16(2006).**
5. Das Sarkar S, Maiti R, and Ghosh D., **Management of fluoride induced testicular disorders by calcium and vitamin-E co-administration in the albino rat. Reprod. Toxicol., 10. Epub ahead of print (2006).**
6. David RH. **Review of fluoride: risks and benefits. The University of Calgary, CALGARY, Alberta, Canada. (Internet File)(1997)**
7. Dietary Reference Intakes (DRI), for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. **Standing committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. National Academy Press, Washington, D.C. (1997).**
8. Goh, E.H., and Neff, A.W. **Effects of fluoride on xenopus embryo development. Food Chem. Toxicol. 41(11): 1501-8(2003).**
9. Helal M, and El Dakdoky M. **Fetotoxicity of fluoride in rats and the protective action of some antioxidants. Fluoride, 39(3): 202-210(2006).**
10. Krasowska A. **Influence of low-chitin krill meal on reproduction of clethrionomys glareolus. Comp. Biochim. Physiol. 94C(1): 313-320 (1989).**

11. McGregor A. **The thyroid and pregnancy – fertility, management and physiological changes. Department of Medicine, GKT School of Medicine of KCL, LONDON(2004).**
12. Narayana MV, and Chinoy NJ. **Reversible effects of sodium fluoride ingestion on spermatozoa of the rat. Int. J. Fertil. Menopausal Stud. 39(6): 337-46 (1994).**
13. Shashi A. **Histopathological changes in rabbit ovary during experimental fluorosis . Indian J. Pathol. Microbiol. 33(2):113-7(1990).**
14. Thibodeaux, J.R.; Hanson, R.G.; Rogers, J.M.; Grey, B.E.; Barbee, B.D.; Richards, J.H.; Butenhoff, J.L.; Stevenson, L.A.; and Lau, C. **Exposure to perfluorooctane sulphonate during pregnancy in rat and mouse. I: maternal and prenatal evaluations. Toxicol. Sci. 74(2): 369-81((2003).**
15. World Health Organization (WHO). **Fluorides. Environmental Health Criteria 227. Geneva. (Internet File) (2002).**