التأثير ألفسلجي لعقار سينافلور [NaF] على الجهاز التناسلي لذكور الفئران البالغة

جليل إبراهيم اسعد & صلاح مهدي محسن & حيدر عبد ألزهره
منقذ عبد المجيد علوان
مركز بحوث التقنيات الأحيائيه /جامعة النهرين

Effect of sinaflor drug(NaF) on reproductive system in adult male mice

. Jalil Ibrahim Asaad *. .Salah Mehdy Muhsin*.; Hyder Abd Alzahra[1] Monqith Abdul-Majeed
*AL-Nahren University/Biotechnology Researches center .

ABSTRACT

The trail conducted to study the effect of sinaflor drug Syrian origin which contain 1 mg [NaF] on the reproductive system of twenty adult male mice. . the mice were divided randomly in to four groups .first group were given 0.500 ppm fluorine in drinking water second and third groups were given 0.250 and 0.125 ppm fluorine in drinking water respectively .The control group was given drinking water .The experiment continue fifty days and mice were scarified at the end of the period to study the fertility parameters Results showed that Sperm count and, dead sperm percentage had significant difference's($p<0.05$)in treated mice groups compared with control, while. Abnormal sperm and abnormal acrosome percentages had no differences between treated groups and control . Here was a significant difference($p<0.05$) in sera testosterone level between the treated groups compared with control group .fluorine accumulation in the testes was also measured and found the accumulation is increased and follow the increasing concentration of NaF in drinking water.

المستخلص

صممت التجربة لمعرفة تأثير عقار (السينافلور)سوري المنشأ والحاوي على ١ ملغ فلوريد الصوديوم على الجهاز التناسلي لذكور الفئران البالغة. قسمت الحيوانات عشوائيا الى ثلاث مجاميع معامله بتراكيز مختلفه من فلوريد الصوديوم في ماء الشرب مع مجموعة سيطرة .ألمجموعه الأولى تم إعطائها ٠.٥٠٠جزءبالمليون والمجموعة الثانية ٠.٢٥٠ جزء بالمليون والمجموعة الثالثة 0.125 جزء بالمليون لمدة خمسين يوما.تم التضحيه ب٢٠ ذكر و دراسة معايير الخصوبة لكل مجموعه. اظهرت النتائج بأن

تركيز النطف ونسبة النطف الميته تختلف معنويا ($p<0.05$)مقارنة مع مجموعة السيطرة أما بالنسبة لتشوهات النطف والأكروسوم(الجسم الطرفي) فلا يوجد اختلاف معنوي بين مجموعات المعاملة ومجموعة السيطرة .وجد فرق معنوي في مستوى هرمون التستستيرون ($p<0.05$) بين مجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة .تم قياس كمية الفلور المتراكم في خصى الحيوانات المعاملة والسيطرة ولوحظ زيادة نسبة التراكم للعنصر بزيادة جرعة فلوريد الصوديوم .

ألمقدمه:

الفلور عنصر طبيعي نادر وموجود غالبا" في ألتربه وهو قابل للاشتعال مخرش ،سام وتشكل مركبات الفلور حوالي ٠.٠٨ % من صخور الأرض وتكون على شكل فلوروسبار، كرايولايت فلوروابيتيت . إن فلوروسبار يحتوي اكبر نسبه من عنصر الفلور ويكون على شكل فلوريد الكالسيوم CaF2 [١] . وفي عام ١٩٠٠ اكتشف طبيب الأسنان ا Frederick.S.Mckay إن الفلور عنصر مهم في مكافحة تسوس الأسنان [٢] وقد تم لاحقا"استخدام مركبات الفلور في تثبيط ومنع تسوس الأسنان لتركز العنصر في مينا الأسنان[٤,٣].هناك ثلاث عوامل أساسيه في ألتسوس

١- وجود المناطق المتحسسة في الأسنان .

٢- سلالة البكتيريا المسببة للالتهاب مثل *streptococcus mutans*

٣- السكريات وغيرها من المواد الغذائية ألمحفزه لنمو البكتير يا حيث تترك مخلفات نموها على الأسنان وهذه المخلفات تحتوي على مواد تقوم بإذابة الجزء الصلب من مينا الأسنان .وأن عمل مركبات الفلور في منع التسوس عن طريق

١- تثبيط نمو البكتيريا وبذلك تقلل من حموضة الفم .

٢- الفلور يبقى في لويحات مينا الأسنان dental plagues فعند نمو البكتيريا في الفم تزداد الحموضة المسببة لتسوس الأسنان لكن وجود الفلور في مينا الأسنان يعادل الحموضة من خلال ثقوب صغيره في آلمينا حيث يكون بعد ذلك مركب فلوروابيتيت نتيجة لاتحاده مع الكالسيوم وهو اقل ذوبانيه في الوسط ألحامضي من المركب الموجود أصلا "في الأسنان وبذلك يمنع التسوس[3،١].إن أهم المركبات ألمستخدمه في مكافحة التسوس هو فلوريد الصوديوم وهو مركب ابيض اللون متبلور يشبه الرمل ويذوب في السوائل ويستعمل بصوره وأسعه في الصناعات الكيمياويه وفي صناعة المبيدات الحشرية وكذلك في المجالات الطبية لمعالجة التسوس ويكون على شكل قطرات ومعاجين غسول أو حبوب [٦].ولنفس الغرض [يعطى فلوريد الصوديوم في مياه الشرب بمعدل٠.٢٥جزءبالمليون من عمر ٦ شهر إلى ٣ سنه ،٠.٥ جزء بالمليون من عمر ٣سنه الى ٦ سنه ١,واحد.،جزء بالمليون من عمر ٦سنه إلى ١٦ سنه لغرض منع تسوس ألآسنان .تتداخل بعض العناصر للتقليل من تاثير الفلور مثل المغنيسيوم،الالمنيوم ،و المواد الحاوية على الكا لسيوم[١] إن التعرض لفلوريد الصوديوم فتره قصيرة يؤدي إلى تخديش الجلد،غثيان ،قيئ ،إسهال، الم البطن ،فقدان الشهية .إن استنشاق فلوريد الصوديوم يؤدي إلى تخديش الأنف ،الحنجرة ،الرئة والسعال.اما .التعرض المستمر ولفترة طويلة وبتراكيز واطئه يؤدي إلى ضعف العضلات ورعشه وومضات عضلية ،اختلاجات وغيبوبة وقد يحدث الموت كذلك يؤثر على الجنين النامي والى اعتلال الكلية ويسبب أيضا" تلف الجهاز التناسلي مما يؤثر على الخصوبة[١].ويؤدي كذلك الى نقص في وزن الخصيه وغدة البروستات والحويصلات المنويه مع عدم تغير وزن الجسم ونقص في عددالنطف وقلة حركتها (،6، 7) نقص مستوى هرمون التيستستيرون في مصل الدم (8) مع تشوه اكروسوم وذيل النطف (9) اما التعرض المستمر للفلور ولمده طويلة وبتراكيز عاليه يؤدي إلى ترسب عنصر الفلور في العظام والأسنان مسببا" الألم وقلة الحركة يطلق عليها crippling skeletal flurosis وهو مرض مشابه لمرض هشاشة العظم ويطلق عليه أحيانا" marble bone بالأضافه إلى تلون الأسنان mottling teeth .ويعتبر الفلور من السموم التراكمية في حال التعرض له بجرعات قليله وبصوره مستمرة [10] .تهدف الدراسه

الحاليه لمعرفةاقل جرعه ذات تاثير سلبي من عقار سينافلور الحاوي على ١ ملغ فلوريد الصوديوم على الجهاز التناسلي الذكري في الفئران ..

المواد وطرائق العمل

استخدم عشرون فأرة وحبوب سينافلور(فلوريد الصوديوم) ،هيموسايتوميتر ،سلايدات،صبغة الايوسين ،صبغة النكروسين ،صبغة كازريتس،عدة فحص هرمون تستستيرون ،هاون، نتروجين سائل ،حامض النتريك ،ميكروسكوب .قسمت حيوانات التجربة إلى أربعة مجاميع عشوائية بضمنها مجموعة السيطرة كل مجموعه (٥) فئران. وتم إذابة ٢.٢١ ملغم من فلوريد الصوديوم ٢٠ مل من الماء المقطر للحصول على ١ ملغ من الفلور وهو يساوي جزء بالمليون وتم بعد ذلك اكمال الحجم الى ١٠٠٠مل بالماء الاعتيادي وتم بعد ذلك تخفيف الحجم الاولي للحصول على تركيز٠ ٠.٥ و٠.٢٥٠ و. 0.125.جزء بالمليون من الفلور.و تم تجريع الحيوانات عن طريق ماء الشرب ولمدة خمسين يوما اعتبارا من٢٠٠٨/١٢/١٥ مع إعطاء حيوانات السيطرة ماء الشرب الاعتيادي. تم التضحيه با لحيوانات بتاريخ ٢٠٠٩/٢/٦ بعد سحب الدم من القلب منها لغرض قياس مستوى هرمون التستستيرون في مصل الدم للمجاميع الأربعة .أخذت خصى الحيوانات للمجاميع الاربعه وتم وزنها لمعرفة كمية الفلور المتراكم فيها عن طريق إضافة كميه من النتروجين السائل إلى الخصى ألموضوعه في الهاون وسحقها ولعدة مرات حتى تتحول إلى بودر.[11].بعد ذلك أضيف حامض النتريك المركز (٢ مل) إلى الباودر الخاص لكل مجموعه (المعاملة و السيطرة)مع إضافة ٢ مل ماء مقطر ومن ثم قياس كمية الفلور المتراكم في الخصى ولكل تركيز .لإغراض التقطيع النسيجي تم حفظ الخصى لأربعة مجاميع في محلول بوين . تم فصل البربخ من خصية الفئران ووضعت مع ٠.١ مل من محلول sperm preparation media وتم تقطيع البربخ للحصول على النطف .اخذ ١٠ مايكرو ليتر من الوسط الحاوي على النطف ووضعت على شريحة زجاجيه دافئة ومزجت مع قطره من صبغة الايوسين تركيز ١% وبعدها تمزج مع صبغة النكر وسين ٥% وبعدها تم حساب النطف الميته وكذلك تشوهات النطف . [١٣].اخذت ١٠ مايكروليتر من المحلول الحاوي على النطف على شريحة زجاجيه دافئة وعمل مسحه من السائل المنوي وتثبت بالكحول الاثيلي تركيز ١% لمدة ٣ دقائق وتجفف في الهواء وتغمر في صبغة كازريتس Gasaretts لمدة ٦٠ دقيقه حيث تتكون ألصبغه من صبغة الايوسين ٣٠ مل تركيز ١% وايثانول ١٥ مل تركيز ١% .لمعرفة نسبة تشوهات الاكروسوم .[١٤]. أخذت كميه من المحلول الحاوي على النطف بواسطة ماصه خاصة لحساب عدد كريات الدم الحمراء ويكمل الحجم إلى الاشاره المخصصة بواسطة محلول عد النطف المتكون من ٢.٩ سترات الصوديوم مع ٢-٣ قطره من صبغة الايوسين تركيز ١% وقطره من الفورمالين لغرض قتل النطف وبعد ذلك يتم حساب عدد النطف بواسطة الهيموسايتوميتر في المربع المخصص لعد كريات الدم الحمراء.

التحليل ألاحصائي:

خضعت النتائج للتحليل الاحصائي باستخدام ANLYSIS OF VARIANS وباستخدام .L.S.D لغرض التفريق بين المعدلات (١٥)

النتائج والمناقشة :

من النتائج المتحصل عليها من التجربه يتوضح مايلي:-

التركيز

وجود فروقات معنويه (p>0.05.) بين مجاميع الفئران المعامله بالفلور اذ إن ٠.٥٠٠ جزء بالمليون في ماء الشرب من عقار السينافلور ادى الى انعدام النطف مقارنة"مع مجموعة السيطره وقد أزدادت اعداد النطف في التراكيز الأقل حيث كان العدد ٧٠ مليون نطفه في تركيز ٠.٢٥٠ جزء بالمليون من عقار السينافلور و١١٠ مليون نطفه في تركيز ٠.١٢٥ جزء بالمليون من عقار السينافلور مقارنة مع مجموعة السيطره التي كان تركيز النطف فيها ١٢٠ مليون ويعزى ذلك الى الجهد التأكسدي لعنصر الفلور الذي ادى الى صغر حجم الخصيه والبربخ وكذلك قلة اعداد وصغر اقطار النبيبات المنويه مع صغر في حجم الحويصلات المنويه والذي ادى الى قلة عدد النطف (٧ ،٨.) جدول رقم (١) .

النطف الميته

وجدت فروقات معنويه بمستوى(p <0.05)،في نسبة النطف الميته حيث ازدادت نسبة النطف الميته وبلغت ٦ ٨٣.% و ٦ ٦٩.% في التركيز ٠.٢٥٠ و٠.١٢٥ جزء في المليون على التوالي مقارنة" مع مجموعة السيطره التي كانت نسبة النطف الميته فيها ٦. ٢٣.% ويعزى سبب ذلك قلة نشاط انزيم بيروكسيديز وانزيم كاتليز المسؤولين عن إزالة السميه من السائل المنوي و انخفاض في مستوى هرمون التيستيسترون المسؤول عن إنضاج النطف في النبيبات المنويه [٨]وتغير في ايض النطف [١٠] وكذلك التاثير السام للفلور على خلاياسرتولي المسؤوله عن إنضاج النطف [١١] ممايتسبب في زيادة نسبة النطف الميته. جدول (١)

النطف المشوهه

لا توجد فرقات معنويه في نسبة النطف المشوهه في السائل المنوي للفئران التي اعطت التراكيز الثلاثه للفلور مقارنة مع مجموعة السيطره.وقد يكون سبب ذلك قلة تركيز الفلور المعطى في ماء الشرب والكافى لاحداث التشوهات . جدول(١)

تشوهات الاكروسوم .

لاتوجد فروقات معنويه في تشوهات الاكروسوم للنطف في السائل المنوي للفئران التي تم اعطائها الفلور وبالتراكيز الثلاثه مقارنة مع مجموعة السيطره .إن سبب ذلك قد يعود الى قلة تركيز الفلور في الماء اوان الفلور لايتداخل في تصنيع بروتين MN 7 الذي له دورفي تكوين الاكروسوم من خلال الحويصلات لجهاز كولجي [٧] . جدول (١)

جدول (١)النسبه المئويه للخصائص الفيزياويه للسائل المنوي للفئران ± الخطأ القياسي

التركيزالفلور	تركيزالنطف×١٠^6	النطف الميتة %	النطف المشوهة%	الأكروسوم المشوه%
٠.٥٠٠	A 0±0	A 0±0	A 0±0	A 0±0
0.250	B 8.36±70	B 1.16±83.60	B 1.09٦ ±٢٣ .٠0	B 1.26±6 ٠٠.
0.125	C 5.47±110	C 2.03±٦٩.٦٠	B 0.63±٤.٠٠	B 0.63±٤.٠٠
سيطرة	D 9.48±120	D 0.74±23.6٠	B 0.89±٤.٠٠	B 0.80±٤.٠٠

الاحرف المختلفه تشير الى وجود فروقات معنويه(p‹0.05) بين المجاميع عموديا

هرمون التيستيسترون.

يتاثر مستوى هرمون التيستيسترون في مصل الدم سلبا" مع تركيز الفلور المعطى حيث وجد فرق معنوي بمستوى(p>0.05) في مستوى الهرمون للحيوانات المعامله بالفلور قياسا" مع مجموعة السيطره

فقد بلغ ١٠ و ٢٠ و٣٠ ng/DL في التراكيز ٠.٥00 و٠.٢٥٠ و٠.١٢٥ جزء بالمليون على التوالي اما مجموعة السيطره فكان ٥٠ ng/DL ويعزى سبب ذلك الى تداخل الفلور في عمل انزيم Testicular (HSD) 3 beta hydroxyl steroid dehydrogenase, Delta (5) ,17 beta-HDSويتداخل الفلور ايضا" في عمل خلايا ليدك التي تفرزالاندروجين ومنها يقلل من عملية Sterodiogenesis وبالتالي قلة مستوى هرمون التيستيستيرون في بلازما الدم .[14] .جدول (٢).

جدول [٢] مستوى هرمون تيستيستيرون في الفئران

هرمون تيستيسترون [نانو غرام\ديسيلتر]	0.500 ppm	0.250 ppm	0.125 ppm	سيطرة
	A 0.94±10	B 1.84±20	C 2.2±30	D 3.53±50

الاحرف المختلفه تشير الى وجود فروقات معنويه(p‹0.05) بين المجاميع

تراكم الفلور

الفلور من العناصر التي تتراكم في انسجة الخصيه اذ تزداد كمية الفلور المتراكم في التركيز ٠.٥00 جزء بالمليون لتصل الى ٠.٠٧٥ ملغ /غرام من وزن الخصيه وتبدا الكميه بالتناقص كلما قل تركيز الفلور في ماء الشرب وهي نفس النتيجه التي حصل عليها [16] .

.

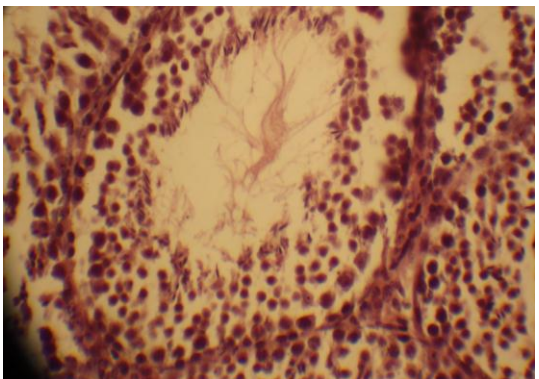
جدول (٣) وزن وتركيز الفلور المتراكم ملغ/غم لخصى الفئران المعامله بالفلور

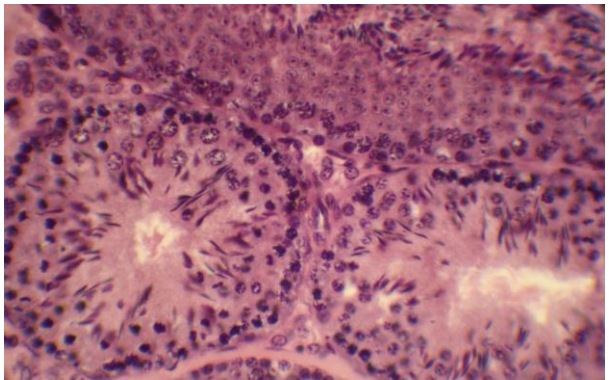
التركيز	0.5 ppm	0.25 ppm	0.125 ppm	سيطرة
وزن الخصية غرام	C 0.001±0.04	B 0.001±0.090	A 0.01±0.11	A 0.001±0.12
تركيز الفلور ملغم	C 0.001±0.075	B 0.001±0.0555	A 0.01±0.022	A 0.001±0.020

الاحرف المختلفه تشير الى وجود فروقات معنويه(p‹0.05) بين المجاميع افقيا

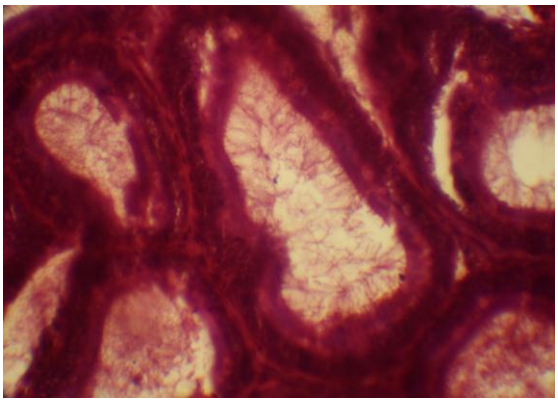
. الفحص النسيجي

الفحص النسيجي لخصى الفئران المعامله بالتركيز ٠.٥00 و٠.٢٥٥ جزء بالمليون من عقار السينافلور اظهراختلاف في احجام النبيبات المنويه مع تثخن الجدار القاعدي للنبيب المنوي بدرجه متوسطه وإن معظم الانيبات تحوي خلايا سرتولي فقط وان اقل من ٥% من الانيبات المنويه تحتوي على نطف (تركيز الفلور ٠.٥00 جزء بالمليون) واكثر من ٤٠% من الانيبات المنويه تحتوي على نطف (تركيز الفلور ٠.٢٥0جزء بالمليون) صوره [2و3]التركيز ٠.١٢٥ جزء بالمليون ومجموعة السيطره النبيبات المنويه باعداد جيده مع وجود فروقات بسيطه في الاقطار مع عدم وجود التثخن في الغشاء القاعدي للنبيب المنوي وان اغلب النبيبات المنويه تحتوي على اعداد طبيعيه من النطف .صوره [1و4] .

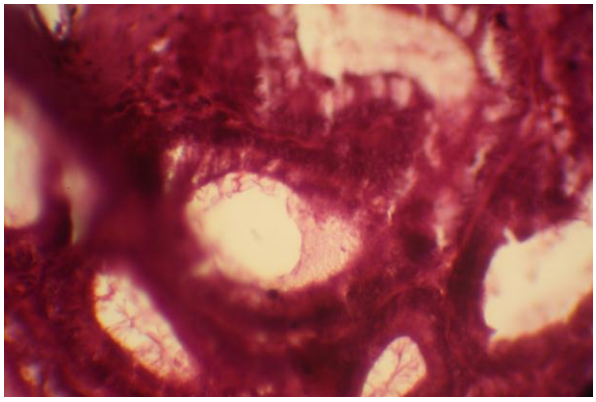




صوره(٢) مقطع نسيجي لخصى فئران مجموعة (0.500)جزء بالمليون فلور صوره(١) مقطع نسيجي لخصى فئران مجموعة السيطره



صوره (٤) مقطع نسيجي لخصى فئران مجموعة (0.125)جزء بالمليون فلور



صوره(٣)مقطع نسيجي لخصى فئران مجموعة (0.250)جزء بالمليون فلور

References

:1- SD .Faust, and M.Aly. Osman,.(1998) . Chemistry of water Treatment Ann Arbor press .,2end.Ed:p.417.

2-B.,Robert p.,and A. Goldstein. (1997)". Fluorid Chemist &Druggist keeping Faith in .24 May:24.

3-L.E Wolisky.(1994).Caries and Cariology .I n Oral Microbiology and Immunology.2ed.R.J Nisengard and M.G.Newman
.Philadelphia.W.B.Saunders Company.

4- JD. Featherstone,prevention and reversal of Dental Caries .(1999):role of low level fluoride –immunity Dent Oral Epidemiol;27:31-40 .

5-Connelly."caries Treatment With Fluoride .(1998)"United States patent 5738113, .

6-- ZX .Zhu, CJ .Ying,Lius H,Yang KD,Wong .The primary study of antagonism of selenium on fluoride –induced
Reproductive toxicity of male rat (china repoplic health).(2000).Aug 16 **(8):679-8.**

7- D. Ghosh.,Das[Sarker].S, Maiti.R,Jana.D,Das.U].Testicular toxicity in sodium fluoride treated association with oxidative stress.Reprod.Toxicol(2002).jul,16[4] :385 ..
8- Zhao ZL , Wu NP, Gao WH.The influence of fluoride on the content of testosterone and cholesterol in rat .FLOURIDE 1995;28(3):128-130 .
9- I.Tanii, Arakis,Toshimorik,K . intra acrosomal organization of ago-kilodalton antigen during spermatogenesis in the rat
(1994)-cell Tissue.. Res-277:61-67 .
10- -Ortiz-perez D .Rodri,Guez-Marti,Nez.M.Marti,Nez F ,Borja-Aburto VH,Castelo J,Grimaldo JI ,De la cruze,Carrizales.l.Diaz-Barriga.F .fluoride induced disruption of reproductive hormons in men.(2003).Environ R Res.sep.93(1):20-30. . -
11-Samb rook J,Russell D.W.(2001).Molecular Cloning laboratory manual .chater 7.(7-5)
12- Chemineau,P.Cognine.Y ,Guerin Y,Orgeure P and Valtet J.C .(1991).Training manual on artificial insemination in sheep and goat-FAO.Animal production and health pp)
13-ME.Well,and Awa O.A.(1970).Anew Technigues for assessing acrosomal characteristics of spermatozoa .J.Dairy.Sci.53:227-232
14 MV,-Narayana. NJ.Chinoy .(1994). Effect of fluoride on rat testicular steroidogenesis Fluoride.27(1):7-121 -
15- G.W Snedecar .W.G,Cochron.(1980).Statical Method .Iowa Stati. Uni. press Iowa .
16 - A Kumar, AK Susheela.(1994.) ultra structural studies of spermatogenesis in rabbit exposed to chronic fluoride toxicity .Int.j. Fertil Menopausal study . May-Jun ;39 (3):164-71
.

(تاريخ استلام البحث).....(٢٠١٠/١/٤)
(تاريخ قبول نشر البحث).....(٢٠١٠/٦/٦)