

دراسة تأثير مادة فلوريد الصوديوم على بعض معايير الدم الفسلجية و الكلى و الكبد في خنزير غينيا .

اسيل نجاح صبر

مدرس مساعد

كلية التربية / جامعة القادسية

الخلاصة

هدفت الدراسة الى معرفة تاثير مادة فلوريد الصوديوم (تركيز 100 جزء بالمليون في ماء الشرب) لمدة (30) يوما على بعض الجوانب الفسلجية للدم و الكلى و الكبد في اناث و ذكور خنازير غينيا ،وقد بينت النتائج ان مادة فلوريد الصوديوم قد احدثت اجهادا تاكسديا في الحيوانات المعاملة ادى الى حدوث انخفاضا معنوي في كمية الهيموكلوبين و زيادة في العدد الكلي لخلايا الدم البيض .كما اظهر الفحص المجهرى للاعضاء المدروسة في الحيوانات المعاملة بمادة فلوريد الصوديوم حدوث انتكاس في الخلايا الظهارية المبطنه للنبيبات الكلوية ، حدوث احتقان في الاوعية الدموية للكبد وظهور مناطق تنخر في نسيج الكبد.

المقدمة Introduction

يعد الفلوريد من العناصر الكيميائية المهمة في تلوث البيئة وذلك لانتشاره الواسع في الطبيعة ، إذ تطرح الكثير من مركبات الفلوريد بوصفها نواتج عرضية في معامل الحديد و الألمنيوم و البطاريات ، ويعد عنصر الفلوريد مهم للإنسان و الحيوان ، ولكن وضعت عدة مؤشرات تدل على تأثيراته السلبية عند تناوله بنسب عالية وان للفلوريد خاصية التراكم في أنسجة الجسم و لاسيما في العظام و الأسنان مع عدم قابلية الجسم على السيطرة بنحو مباشر على تمثيل هذا العنصر ،(عريبي ،1982).

يتواجد الفلوريد في مصل الدم بهيئتين ،الأولى ايونية و الثانية متحدة مع المواد الذائبة و قد لوحظ وجود علاقة طردية بين مستوى الفلوريد في البلازما و كمية الفلوريد المتناولة ، لذا فان ارتفاع مستوى الفلوريد في الأنسجة الطرية يرتبط بارتفاع مستواه في البلازما، (Whiteford et al.,1979). إن انتشار الفلوريد في جسم الانسان يتغير تبعا للعمر و مقدار التعرض للبيئة الملوثة بالفلوريد. (Carlson et al.,1960)

يحدث التسمم بالفلوريد تأثيرات سمية في الأسنان و العظام و الأنسجة الطرية فهو ينتشر بواسطة جهاز الدوران داخل الخلايا و خارجها فضلا عن ذلك يسبب التسمم بالفلوريد زيادة تكوين الأوكسجين و زيادة بيروكسيد الدهون و قد لوحظ وجود علاقة بين التسمم بالفلوريد و الإجهاد التأكسدي في الإنسان و الحيوان حيث يمثل الإجهاد التأكسدي زيادة في تركيز العديد من جذور الأوكسجين الفعالة (مثل جذور الهيدروكسيل OH و غيرها) في الخلايا بكميات تفوق قدرة مضادات الأكسدة للتخلص من هذه الجذور و بالتالي تسبب تدمير خلايا الجسم .

(Halliwell and Gutteridge , 1985 ; Zhang *et al.*, 2001). كما إن للفلوريد تأثير في تقليل قابلية خلايا الدم البيض على القيام بعملية البلعمة للأجسام الغريبة ، (Gablerg and Leong , 1979). كما أن للفلوريد القابلية على تثبيط تكوين الأجسام المضادة فضلا عن أحداثه خلا في الجهاز المناعي بحيث يهاجم أجهزة الجسم نفسها، (Gibson , 1992).

يؤدي فلوريد الصوديوم الى احداث افات في الطبقة المخاطية للمعدة تتضمن النزف الحاد ،(Muller *et al.*,1992).وفي دراسات اخرى وجد الباحثون ان للفلوريد تاثيرات جهازية ،اذ انه يؤدي الى انخفاض في الموجة الكهربائية المسؤولة عن الانقباض البطيني Electric systole مع انخفاض ايونات الكالسيوم والصوديوم الموجبة في الغدة الكظرية و العظام وعضلات البطين ،وزيادة تركيز ايون الصوديوم Na^{+} في الابهر و الرئة و المفاصل .

(Boeckhhaebisch and Olivereria,1998)

كما ان المعالجة بفلوريد الصوديوم تؤدي الى خفض مستوى البروتين في المبيض والرحم ومستوى هرمون الاستراديول Estradiol في مصل الدم ،وهذا الهرمون مهم في المحافظة على الشبق Estrus والتغيرات في القناة التناسلية والغدة اللبنية وتنظيم افراز الكونداتروبين Gonadotropins،(Chinoy and Patel,2001).وقد

اشار(Shashi *et al.*,1992) الى ان معاملة الارانب بفلوريد الصوديوم لمدة 100 يوم تؤدي الى تحلل العضلات الهيكلية وتجزئة البروتينات والاحماض الامينية،حيث ان كمية الاحماض الامينية والبروتين تقل كلما زادت جرعة الفلوريد.

(Shashi *et al.*,1992)

إن الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثير مادة فلوريد الصوديوم على بعض معايير الدم في حيوانات خنازير غينيا إضافة إلى دراسة التغيرات النسجية المرضية التي يمكن ان تحدثها هذه المادة في كلى و كبد خنازير غينيا .

المواد و طرق العمل Materials and Methods

استخدمت في هذه الدراسة حيوانات خنزير غينيا Cavia procellus بأعمار بالغة تراوحت ما بين (70 - 100) يوم ، (Collins ,1972) وبأوزان تراوحت ما بين (500-750) غرام حيث وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية ذات ابعاد (50× 35× 15) سنتمتر مزود بمعلف أمامي مشبك وقناني لشرب الماء سعة 500 مليلتر للقنينة الواحدة حيث تم توفير العلف و الماء طيلة فترة التجربة .
قسمت الحيوانات بصورة عشوائية إلى مجموعتين ، لكل مجموعة (6) حيوانات ما بين ذكور و إناث :-

المجموعة الأولى / تمثل مجموعة السيطرة – حيث أعطيت حيوانات هذه المجموعة ماء الشرب العادي طيلة فترة التجربة .

المجموعة الثانية / تمثل المجموعة المعاملة بمادة فلوريد الصوديوم – حيث أعطيت الحيوانات هذه المادة بتركيز (100 جزء بالمليون) في ماء الشرب .

استمرت مدة التجربة (30) يوما ، وبعد إتمام مدة التجربة تم تخدير الحيوانات بالايثر وتم سحب الدم من زاوية العين بواسطة الأنبوبة الشعرية بعد غرسها في جيب محجر العين Orbital Sinus وتم سحب الدم عبر الأنبوبة الشعرية إلى أنبوبة اختبار خاصة لحفظ الدم بعد تنظيفها و تجفيفها لحين إجراء فحوص الدم الفسلجية .
بعد ذلك تم قتل الحيوانات باستخدام جرعة عالية من بالايثر حيث تم تشريح الحيوانات بفتح البطن طوليا اذ تم عزل الكلى و الكبد و نقلها إلى أطباق بتري حاوية على المحلول الملحي الطبيعي تركيز (0.9%) حيث تمت إزالة الأنسجة الدهنية العالقة و حفظ هذه الأعضاء في محلول الفورمالين المثبت بتركيز (10%) وذلك لتهيئتها لخطوات التقطيع النسجي حيث أخذت عينات صغيرة من الكلى و الكبد و ثبتت في الفورمالين بتركيز (10%) لمدة (48) ساعة ، بعد ذلك غسلت النماذج بماء الحنفية الجاري لمدة (3) ساعات ثم مررت النماذج بسلسلة من الكحول الايثيلي المتصاعد التركيز (50% , 60% , 70% , 80% , 90% , 100%) ولمدة ساعتين لكل تركيز ، ثم أجريت عملية الترويق باستخدام الزايلين و لمدة ساعة ونصف ثم استعمل شمع البارافين ذي درجة انصهار تتراوح ما بين (56-58) درجة مئوية في عملية التشريب و الاسجاء ، وتم إعداد قوالب من الشمع بعد ذلك قطعت القوالب باستخدام المشراح الدوار و بسمك (6) مايكروميتر ، ولونت جميع المقاطع النسجية باستعمال صبغة هارس هيماتوكسلين – ايوسين ثم اجري عليها الإرساء و غطاء الشرائح باستعمال مادة كندا – بلسم كمادة لاصقة ، (Vacca ,1986).

الفحوص الفسلجية للدم :- تم إجراء الفحوص التالية :-

1- حساب حجم الخلايا المرصوصة (مكداس الدم) Packed Cell Volume (P.C.V) :-

استخدمت طريقة Microhaematocrit في حساب الخلايا المرصوص باستعمال أنابيب شعيرية حاوية على مادة مانعة للتخثر فقد تم سحب عينة الدم في الأنبوبة الشعرية واغلقت إحدى نهايتي الأنبوبة بواسطة الطين الاصطناعي ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي الدقيق و بسرعة 8000 دورة / دقيقة و لمدة 15 دقيقة ، وبعدها تم حساب حجم الخلايا المرصوص باستعمال المسطرة الخاصة لهذا الغرض ، (Sood,1996) .

2- كمية الهيموكلوبين (Hb) Haemoglobin Concentration :- تم حساب كمية الهيموكلوبين في الدم باستخدام طريقة Cyanmethaemoglobin حيث أضيف (5) مل من محلول درابكن Drabkin's solution إلى أنبوبة اختبار معقمة ثم سحبت عينة من الدم مقدارها (20) مل و أضيفت إلى الأنبوبة الحاوية على محلول درابكن و بعد ذلك تم تقدير كمية الهيموكلوبين باستعمال جهاز قياس كمية الهيموكلوبين Haemoglobinmeter و بطول موجي مقداره (540) نانوميتر (Sood , 1996).

3- حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض (WBCs) White blood cells counts :-

تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض باستخدام مقياس الخلايا الدموية (Haemocytometer) ، (Dacie and Lewis,1984) .

التحليل الإحصائي :-

تم استخدام اختبار (T) لمقارنة معدل كل قياس من القياسات ما بين مجموعة السيطرة و مجموعة الحيوانات المعاملة بفلوريد الصوديوم عند مستوى احتمال $(p < 0.05)$. (Scheffler,1980).

النتائج Results

أ- نتائج الفحوص الفسلجية للدم

- 1- حجم الخلايا المرصوصة (مكداس الدم) :-
أشارت نتائج معاملة خنازير غينيا بمادة فلوريد الصوديوم تركيز (100 جزء بالمليون) في ماء الشرب و لمدة (30) يوم إلى عدم وجود فروق معنوية بمستوى احتمال ($P < 0.05$) في حجم الخلايا المرصوصة بالمقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة . جدول (1).
- 2- كمية الهيموكلوبين :- لوحظ انخفاض معنوي بمستوى احتمال ($P < 0.05$) في كمية الهيموكلوبين في الحيوانات المعاملة بفلوريد الصوديوم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . جدول (1).
- 3- العدد الكلي لخلايا الدم البيض :- بينت النتائج وجود زيادة غير معنوية بمستوى احتمال ($P < 0.05$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض في خنازير غينيا المعاملة بفلوريد الصوديوم مقارنة بمجموعة السيطرة . جدول (1).

جدول (1) :- يوضح تأثير مادة فلوريد الصوديوم تركيز (100 جزء بالمليون في ماء الشرب) على بعض معايير الدم الفسلجية في خنازير غينيا.

المعاملات	مجموعة السيطرة	المجموعة المعاملة	التحليل الإحصائي
معايير الدم	M ± S.E	مادة فلوريد الصوديوم M ± S.E	T.test
حجم الخلايا المرصوص (%)PCV	0.97 ± 30.05	1.17 ± 30.00	N.S
كمية الهيموكلوبين Hb (غرام/ 100 مل)	0.61 ± 12.3	0.31 ± 11.01	*
العدد الكلي لكريات الدم البيض (خلية/ملم ³)	522.20 ± 11075.3	873.21 ± 12824.72	N.S

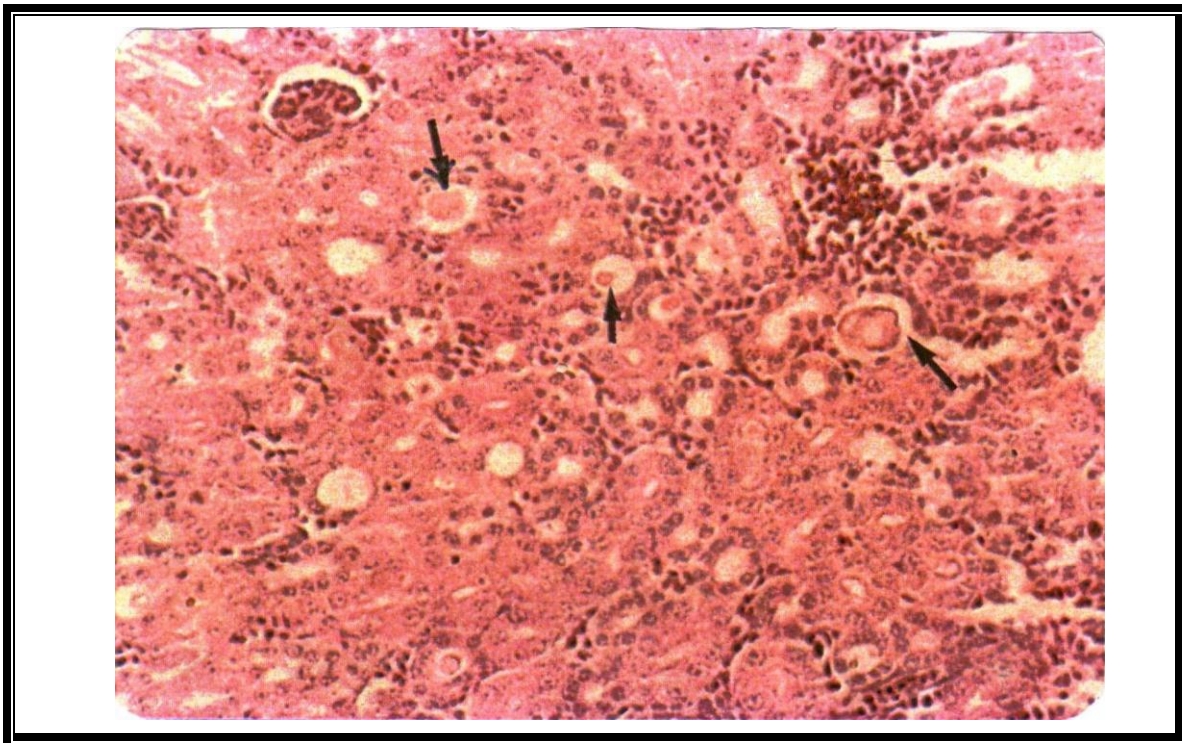
S.E ± M :- تمثل المعدل ± الخطأ القياسي

N.S :- عدم وجود فرق معنوي

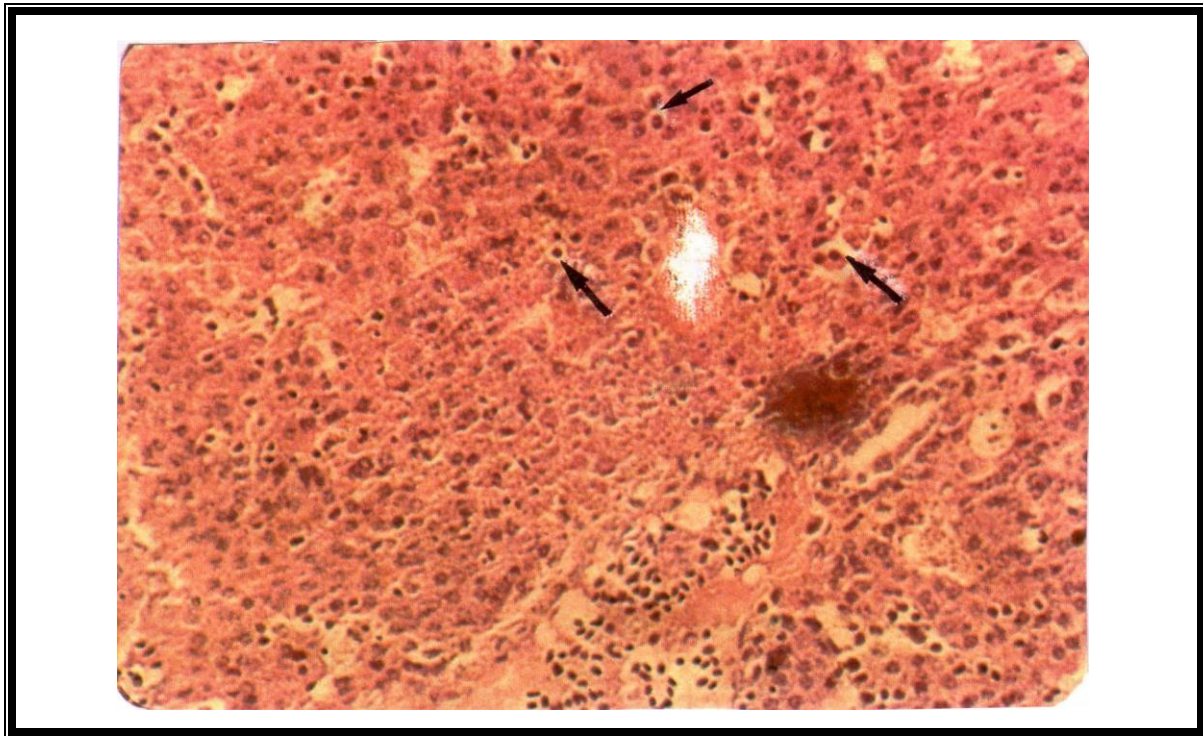
* :- وجود فرق معنوي مستوى احتمال $P < 0.05$

ب - الفحوص النسجية المرضية:- لوحظت عدة تغيرات نسيجية في كلى و كبد خنازير غينيا المعاملة بفلوريد الصوديوم (تركيز 100 جزء بالمليون في ماء الشرب) ، تمثلت هذه التغيرات في الكلى بحدوث انتكاس و انسلاخ الخلايا الظهارية المبطن للنبيبات الكلوية وكذلك لوحظ احتقان دموي في معظم مقاطع الكلى ، (صورة 1).

أما في الكبد فتمثلت التغيرات النسجية المرضية بحدوث احتقان في الأوعية الدموية الكبدية وظهور مناطق تنخر Necrosis area في نسيج الكبد ، (صورة 2).



صورة (1):- مقطع في كلية خنزير غيني معاملة بمادة فلوريد الصوديوم تركيز (100 جزء بالمليون) في ماء الشرب ، تشير الأسهم إلى أماكن انسلاخ الظهارة المبطنة للنيبيبات الكلوية. صبغة هارس هيماتوكسولين - أيوسين. 20x



صورة (2):- مقطع في كبد خنزير غيني معاملة بمادة فلوريد الصوديوم (100 جزء بالمليون) في ماء الشرب ، تشير الأسهم إلى مناطق التخر في نسيج الكبد. صبغة هارس هيماتوكسولين- أيوسين. 20x

أشارت النتائج إلى انخفاض كمية الهيموكلوبين في خنازير غينيا بعد المعاملة لمدة (30) يوم بمادة فلوريد الصوديوم (تركيز 100 جزء بالمليون في ماء الشرب) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، و هذه النتيجة تتفق مع ما ذكرته الباحثان (Susheela and Jain, 1983) من أن الفلوريد يخفض كمية الهيموكلوبين و فسر الباحثون (Banupriya et al., 1997) هذا الانخفاض بأنه يعود إلى الإجهاد التأكسدي الذي يسببه الفلوريد والذي يؤدي إلى أحداث تغيرات في كريات الدم الحمر و الهيموكلوبين تتمثل بحدوث انخفاض في عدد كريات الدم الحمر و كمية الهيموكلوبين .

وقد أضاف الباحثون (Shivarajashankara et al., 2001) أن الإجهاد التأكسدي الذي يسببه الفلوريد يؤدي إلى تكوين الجذور الحرة التي تؤدي إلى بيروكسدة الدهون في الأغشية الخلوية لخلايا الدم مؤدية إلى تحلل الأحماض الدهنية المشبعة .

إن الجذور الحرة للأوكسجين تؤدي إلى تلف الهيموكلوبين و تكوين ترسبات داخل كرية الدم الحمراء ، تؤدي هذه الترسبات إلى تحلل خلايا الدم الحمر (Jain, 1989).

بينت النتائج حدوث تغيرات نسيجية في كلى و كبد خنازير غينيا المعاملة بفلوريد الصوديوم ، حيث أشارت العديد من الدراسات إلى أن مادة الفلوريد تؤدي إلى إحداث تغيرات كلوية تتمثل بتنخر أنسجة الكلية وظهور تجاويف صغيرة في النيبات و التأثير على وظيفة الكلية و حدوث عجز كلوي وذلك من خلال تأثيره في قلة تصفية اليوريا و انخفاض مستوى الترشيح الكبيبي و احتباس البروتين غير النتروجيني في الدم.

(Lantz et al., 1987; Dote et al., 2000; Shashi et al., 2002).

قد تعود التغيرات التي يحدثها الفلوريد في الكلية إلى دوره في إحداث الالتهاب في الكلية و بيروكسدة الدهون في الأغشية الخلوية للخلايا الكلوية (Woldbott et al., 1978).

أما الكبد فيعد من الأعضاء التي تتأثر بالفلوريد حيث أن التعرض للفلوريد يؤدي إلى خلل في تصنيع الكولاجين و تجزئته في الكبد كما أنه يؤدي إلى ضرر الخلايا الكبدية كما تتكون مناطق بؤرية focal area لفرط التنسج للخلايا الكبدية ، كما أنه يسبب بيروكسدة الدهون للخلايا الكبدية و يقوم بتثبيط الأنزيمات المضادة للأكسدة في الكبد .

(Antonyan, 1980; Sun et al., 1998; Shashi and Thapar, 2000).

وقد تعود التغيرات النسيجية الحاصلة في الكبد نتيجة المعاملة بالفلوريد إلى قلة فعالية الأنزيمات المتعلقة بايض الجذور الحرة،

. (Shivarajashankara *et al* ., 2001)
وقد اتفق هذا مع ما توصلت إليه دراسة قام بها الباحثان (Vani and Reddy
(2000, بينت أن معاملة الفئران بالفلوريد أدت إلى حدوث انخفاض في فعالية
الكلوتاثيون ترانسفيراز GST والكاتاليز CAT .
وقد تعزى التغيرات المرضية الحاصلة في الكبد إلى تأثير الفلوريد في أيض
الكاربوهيدرات إذ يعمل الفلوريد على زيادة الكلايوجين في الكبد مصحوبة بقلّة
فعالية انزيم الفوسفوريليز و إن تجمع الكلايوجين و قلّة استخدامه في الكبد تؤثر و
تعطل في وظيفة الكبد، (Chinoy *et al*,. 1999) .

المصادر References

المصادر العربية :-

* عريبي ، عبد علي عرمش (1982) : تاثير تناول نسب عالية من عنصر الفلور
التناسلي في الاكباش
العواسي ، اطروحة ماجستير ، كلية الطب
البيطري ، جامعة بغداد.

المصادر الاجنبية :-

Antonyan ,O.A. (1980). Lipid Peroxidation in
Protective role of dietary factors. Zh.
Eksp. Klin. Med. ,20(4) :381 – 388.

Banupriya , C.A.Y.Anitha ,K. Muralimohan ,E. ,Pillai , K.S.
and Murthy ,P.B.(1997). Toxicity of fluoride to
diabetic rates Fluoride ,30(1): 51 – 58.

Boeckhhaebisch ,E.M.A. and Oliveria , R.M.(1998). Systemic
Effects of fluoridated water on rats.
Fluoride,31(2) :100 –101.

Carlson , C.H. Armstrong , W.D. and Singer, L. (1960).
Distribution , migration and binding of whole
blood fluoride evaluated with radio. fluoride.
Am. J. physiol., 199: 187-189.

Chinoy , N.J. ,Joseph ,R. Sequeira ,E. and Narayana ,M.V.
(1991). Effects of Sodium fluoride on the muscle
and liver of albino rates . Indian J. Environ.
Toxicol .1:129-134.

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

Collins , G.R. (1972). Syllabus for the laboratory animal technologist. American association for laboratory animal science ,Joliet .Pub1., 72(2) :440 - 445.

Dacie ,J. V.and Lewis ,S.M.(1984).Practical haematology . 6,ed.,Edinburgh,Churchill .

Dote , T. Kono ,K. ,usuda, K. ,Nishiura ,H. and Tagawa ,T.(2000). Acute renal damage dose response in rate to intravenous infusion of Sodium fluoride. Flouride , 33(4):210 – 217.

Galber , and Leong ,P.A. (1979). “Fluoride inhibition of Polymorephonuclear Leucocytes” J. Dent. Res. ,48(9):1933 – 1939 .

Gibson ,S.(1992). “Effect of fluoride on Immune system function” complem. Med. Res. ,6:111 – 113.

Halliwell ,B.and Gutteridge ,J. M. C.(1985). Free radicals in biology and medicine clarendon press. Oxford ,NewYork.

Jain , S.K.(1989). The neonatal erythrocyte and its oxidative susceptibility. Seminars Hematol. ,26 :286 – 300.

Lantz , O. ,Jouvin ,M.H. and Druet , P.(1987). Fluoride induced chronic renal failure. Am.J. Kidney Dis. ,10(2):136 –145.

Muller ,P. ,Schmid ,K. ,Warnecke ,G. ,Setniker,I.and Simon,B. (1992). Sodium fluoride induced gastric mucosal lesions :Comparison with

sodium
,Gastroenterology ,30(4) :252-

monofluorophosphate
256.

Scheffler , W.C.(1980).Statistics for the biological science.2nd ed.
Addison, Wesley publication company .California.

Shashi ,A. ,Singh ,J.P. and Thapar, S.P.(1992) .Protein
degradation in skeletal muscle Of rabbit
during experimental fluorosis .Fluoride
,25(3):155-158 .

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

Shashi , A. and Thapar ,S. P. (2000).Histopathology of
fluoride – induced hepatotoxicity in rabbits.
Fluoride, 34(1) :34 – 42.

Shivarajashankara , Y.M. , Shivarajashankara, A.R. ,Bhat
,P.G. and Rao, S. (2001). Effect of fluoride
intoxication on lipid peroxidation and
Antioxidant system in rats .Fluoride , 34(2)
:108 –113.

Sood, R.(1996). Hematology for students and practitioners.
4th ,ed., Jayapee Brothers Medical publishers,(p)
LTD., India.

Sun ,G., Qiu,L. ,Ding, G.,Qian, C. and Zheng ,Q.(1998).
Effect of B-carotene and SOD on lipid Peroxidation
induced by fluoride :An experimental study.
Fluoride,31(3) :S₂₉ .

- Susheela, A.K. and Jain ,S.K.(1983) .Fluoride – induced
Haematological changes in rabbits. Bull. Environ.
Contam Toxicol., 30(4): 388 – 393.**
- Vacca ,L.(1985). Laboratory manual of histochemistry. 1st
ed .Raven press. NewYork.**
- Vani, M.L. and Reddy , K.P. (2000).Effects of fluoride
accumulation on some enzymes of brain and
gastrocnemius muscle of mice. Fluoride ,33(1):17 –16**
- Waldbott, G.L. ,Burgstahler ,A. W. and Mckinney ,H.L.
(1978). Fluorideation :the great dilemma.
Lawrence, Kansas :Coronado press. ,P.148 – 174.**
- Whiteford., G.M. ,David. H.P. and Keith, E.R. (1979).
Fluoride tissue distribution : Cohort – term
kinetics. Am. J. Physiol., 236(2) :141 – 148.**
- Zhang ,Z. ,Shen, X. and Xu, X.(2001). Effects of Selenium
on the damage of learning – memory ability of mice
induced by fluoride . Wei. Sheng. Yan. Jiu. ,30(3) :
144 – 150 .**

Abstract

The present study aimed to know the effect of sodium fluoride (100 ppm in drinking water) for 30 days on some of physiological aspects of blood ,kidneys and liver of guinea pigs male and female. The results showed that the sodium fluoride caused oxidative stress in treated animals that caused a significant decrease in hemoglobin content and an increase in total Leucocyte count. Microscopical examination of studied organs in animals treated with sodium fluoride revealed degeneration of renal epithelial tubular cells ,Congestion of liver blood vessels and there is Necrosis area in liver tissue.