



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية التربية
قسم علوم الحياة

بحث بعنوان

(دراسة التأثير السام لفلوريد الصوديوم على مستوى انزيمات الكبد
والدهون في ذكور الجرذان)

بحث مقدم إلى
مجلس كلية التربية- جامعة القادسية
وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في قسم
علوم الحياة

إعداد الطالبة

فاطمة محمد مجيد

بإشراف

د. هناء عناية ماهود

1440هـ

2019م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي
عِلْمًا ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة طه / الآية 114

الاهداء

إلى

(معلم البشرية النبي محمد (صلى الله عليه واله وسلم))

إلى

والذي الحبيب

إلى

من شجعتني على مدى الايام، وناضلت وسهرت الليالي في سبيل
تحقيق طموحاتي واحلامي.... (والدتي الحبيبة)... ادامها الله

إلى

من شجعتني وكان إلى جوارى دائما (زوجي الغالي)

إلى

اساتذة كلية التربية كافة وبالخصوص الاستاذة المشرفة
(د. هناء عناية ماهود)

أوجه لهم تحياتي وجهدي المتواضع
لكم منا التحية

الباحثة

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين، حمداً طيباً مباركاً فيه مليء
السّموات والأرض ومليء ما يدينها وصى الله على
محمد وآله الطيبين الطاهرين ولا يسعني في نهاية هذا
البحث الآن أتوجه بالشكر والامتنان إلى كل من ساهم في
إنجاز هذا الجهد المتواضع والشكر الجزيل لأستاذتي
المشرفة (د. هناء عناية ماهود) وإلى كافة أساتذة قسم
علوم الحياة

الباحثة

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة التأثيرات السمية لفلوريد الصوديوم على بعض المعايير الكيموحيوية , أذ استخدمت في هذه التجربة (10) من ذكور الجرذان البالغة, وقسمت الحيوانات الى مجموعتين (5جرذا) للمجموعة الواحدة (السيطرة C) جرعت ماء الشرب العادي فقط والعليقة , أما مجموعة المعاملة (T1) فقد جرعت يومياً بفلوريد الصوديوم بجرعة (20ملغم/كغم) من وزن الجسم , وكانت الكمية المعطاة هي (1مل/اليوم) بواسطة انبوب التجريع ولمدة (30 يوم). وتمت التضحية بالحيوانات وسحب الدم منها لغرض ملاحظة التأثيرات المرضية الحاصلة في المعايير المدروسة, أذ أظهرت نتائج التحليل ما يأتي :-

ارتفاع معنوي (T1) في مستويات انزيمات الكبد (Aspartate Transaminase, Alanine) عند المعاملة (T₁) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C .

ارتفاع معنوي (T1) في مستوى الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية والبروتين الدهني واطئ الكثافة والبروتين الدهني واطئ الكثافة جداً في مجموعة المعاملة (T1) بالمقارنة مع المجموعة السيطرة C , بينما نلاحظ انخفاضاً معنوياً لمستوى البروتين الدهني عالي الكثافة في مجموعة المعاملة (T1) بالمقارنة مع المجموعة السيطرة C .

المقدمة

الفلوريد Fluoride

الفلوريد عنصر نشط كيميائياً متواجد في الطبيعة بالقشرة الارضية والماء والطعام على هيئة أيون سالب الشحنة (F-) ولا يوجد في الطبيعة بوصفه عنصر حر, يقع الفلورين في المرتبة الثالثة مابين العناصر في وفرتها بالقشرة الارضية (Glasser, 1996), يتواجد الفلورين في الطبيعة مرتبط مع معادن مكوناً فلوريدات وتقع الفلوريدات ضمن المواد العشرين الاولى من (265) مادة سامة وتعد هذه المواد الاكثر تهديداً لصحة الانسان والحيوان (Whitfordet al., 1982). والفلوريدات سموم تراكمية تنشأ بصورة تدريجية نتيجة التناول المستمر للفلورايد, كون حقيقة الفلورايد يتجمع في الجسم, أدى الى فرض قانون في الولايات المتحدة لضبط أعلى مستوى تلوث بمكونات الفلورايد في مخازن الماء المقيس بواسطة وكالة حماية البيئة (EPA) Environmental protection agency (McDonough, 2002). ونتيجة للنشاط التفاعلي العالي للفلورايد فإنه يوجد في الأرض بصورة رئيسية متحداً مع مركبات مثل الكالسيوم والمغنيسيوم والألمنيوم وفلزات أخرى, كما توجد الفلوريدات العضوية وغير العضوية في كل أنواع الترب والمياه, بالإضافة الى ذلك فإنه موجود في النباتات والحيوانات المستهلكة والمتأولة من قبل الانسان كغذاء (Aga, 2006).

توجد الفلوريدات في القشرة الأرضية طبيعياً مع الصخور والفحم والطين والتربة, وتحرر الفلوريدات في الهواء بشكل نفايات تذررها الرياح, ويتحرر الفلورايد إلى الهواء من المواد الحاوية على الفلورومنها المعادن والفحم والطين عندما تسخن في درجات الحرارة العالية, كما يتحرر من الفحم المحترق والأسمدة الفوسفاتية ومصاهر الألمنيوم والزجاج والقرميد ومعامل الفلين والمصانع البلاستيكية, أن أكبر مصدر طبيعي للفلوريدات المتحررة إلى الهواء هو الانفجارات البركانية, ويؤخذ الفلورايد من الترب متراكماً في أجزاء النبات العليا, وان كمية الفلور التي تأخذها النباتات تعتمد على نوع النبات وطبيعة التربة وكمية الفلور وشكله في التربة, (Lung et al., 2003).

وان الفلورايد الناتج من الماء والتربة الملوثة من معاملة الأرض بالمواد البتر وكيميائية والأسمدة غير المسيطر عليها, وأستعمال المبيدات الزراعية وتلوث المياه الجوفية من فضلات المناطق الصناعية (Glasser, 1996).

بما أن الفلوريد جزءاً من القشرة الأرضية فإنه يمكن التعرض لكميات قليلة منه في الهواء والماء والتربة وتسمى هذه الكميات بالمستويات الأساسية Background levels, وتوجد الفلوريدات في سوائل الجسم والعظام والأنسجة, كما أنها توجد بصورة طبيعية بكميات قليلة جداً في الهواء, وان المستويات المقاسة في المناطق حول المدن حوالي أقل من (1 مايكروغرام/المتراً³) في الهواء, وتمتلك المناطق الريفية مستويات أقل نسبة الى عدد السكان القليل والمساحة الخضراء, كما ان الهواء الموجود حول مواقع الفضلات الخطيرة أو المصانع التي تستخدم أو تنتج فلوريد الصوديوم Sodium fluoride أو مركبات الفلوريد, ربما تحتوي مستويات عالية من تلك المواد الكيميائية (Glasser, 1996).

تكون المستويات الطبيعية من الفلوريدات الموجودة في المياه السطحية مثل الأنهار والجداول والبحيرات عادةً بمعدل (0.01-0.03) جزء من الفلوريد لكل مليون جزء ppm من المياه, وان مستويات الفلوريد في المياه الجوفية أعلى من تلك في الأنهار والبحيرات والجداول (حوالي 0.02-1.5 ppm) أما مياه البحر فإنها تحتوي وبصورة عامة على كميات فلوريد أكثر من المياه العذبة حيث يكون مدى مستويات الفلوريد فيها (1.4-1.5 ppm), أما مستويات الفلوريد في المياه الجارية والسطحية القريبة من الواقع الصناعي التي تستخدم الفلوريد ربما تكون أعلى من المستوى الطبيعي, إذ ان المناطق القريبة من الفضلات الخطيرة من الممكن فيها التعرض لمستويات أعلى من المستويات الطبيعية للفلوريد عند شرب المياه الجارية الملوثة به, بينما تحتوي التربة على (200-300 PPM) وكذلك تحتوي بعض المياه المعدنية على الفلوريد بتركيز 8.5 ملغم لكل لتر (Lantz et al., 1987).

تأثير الفلوريد على أنزيمات الكبد

أن فعالية أحد أو كلا الأنزيمات الناقلة للأحماض الأمينية Transaminase, وهي Alanine aminotransferase (ALT) و Aspartate aminotransferase (AST) غالباً ما تقاس عند حصول أمراض الكبد, وأن الوظيفة الطبيعية لهذه الأنزيمات هي نقل مجموعة الأمين من حامض الأئين في حالة ALT ومن الحامض الأميني الأسبارتيت Aspartate في حالة AST الى الحامض الكيتونيلأنتاج مركب البايروفيت Pyruvate والأوكز الوأستيت Oxaloacetate بالترتيب (Champman et al., 2006).

الانزيم الناقل للألنين (ALT) ويسمى كلوتاميكبيروفيك Transaminase ويرمز له بـ (Glutamic pyrovate transaminase) ويفرز هذا الانزيم في الكبد وبنسبة قليلة في الكلى ، حيث عندما يوجد في الدم يدل على إصابة الخلايا الكبدية كالتهاب الكبد, ويسمى أنزيم الـAST أيضاً (GOT) Glutamate oxaloacetate transaminase, والسبب أنه ينقل المجاميع الأمينية من الكلوتاميت الى الاوكزالواستيتويكون المركب الناتج له هو الأسبارتيت (Aspartate) (Champe & Harvey, 1994).

أستخدم انزيم ALT كدليل على تحطم الخلايا الكبدية وخاصة في الكلاب والجرذان والقطط وأن الزيادة في مستويات هذا الانزيم في الدم تعطي دلالة على تحطم هذه الخلايا (Willaredet al., 1999). في حين يوجد أنزيم AST في الأرانب في القلب والكبد والعضلة الهيكلية والكلية والبنكرياس وبفعالية عالية جداً في الكبد والعضلة الهيكلية (Benson & Paul- Murphy, 1999).

وذكر (Palaniveluet al., 2005) أن الزيادة في مستويات الانزيمات الكبدية ALT,AST دليل على حدوث خلل في وظائف الكبد, وإن ارتفاع مستوى الانزيمات الكبدية في مصل الدم هو إشارة على وجود تحطم خلوي في نسيج الكبد. وأشارت العديد من الدراسات إلى إنالتعرض المفرط لفلوريد الصوديوم يؤدي الى تغيرات أيضية وتركيبية متنوعة في فعالية الانزيمات الكبدية (Akdoganet al., 2002).

لوحظ أن هنالك زيادة في تركيز الانزيمين (ALT , AST) في مصل دم الأبقار التي تناولت عليقة حاوية على عنصر الفلوريد (Stoddard et al., 1993). وأن هنالك تأثير واضح للفلوريد في أزيداد مستوى داء السكر التجريبي المستحدث بالألوكسان للجرذان المصابة, حيث يعد سبباً في زيادة مستوى أنزيم AST (Priyaet al., 1997).

يعد أنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline phosphotase (ALP أحد الانزيمات المنتشرة بصورة واسعة في مختلف أنحاء الجسم ويوجد بصورة جزئية في العظم والكبد وجدار الأمعاء ويتألف من مساعدات الانزيم التي تكون قادرة على أسترة الفوسفات الذائبة في الماء عند PH قاعدي, وتنتشر بصورة واسعة في الجسم مع وجود فعاليات مهمة لها في الكبد والقناة المعوية المعوية والعظم والمشيمة, وتتركز انزيمات الفوسفاتيز القاعدية بصورة كبيرة في الاغشية التي تقوم

بالوظائف ذات الطبيعة الامتصاصية او الافرازية, ولهذا توجد هذه الانزيمات في الكبد خصوصاً في الجيب الكبدي Hepatic Sinusoids وغشاء الاقنية الصفراء Biliary canalicular (Champmanet *al.*, 2006).

تأثير الفلوريد في مستوى كوليسترول الدم Blood Cholesterol level

هناك مصدران رئيسيان يحصل الشخص بواسطتهما على الكوليسترول في الدم(الغذاء الذي نأكله والغني بالدهون المشبعة والكوليسترول مثل اللحوم والكبد والاحشاء والمخ ،،والحليب ومشتقاته والطيور الداجنة)، ويشكل 20% من مجموع الكوليسترول في الجسم, المصدر الرئيسي الاخر للكوليسترول في الجسم وهو الكبد الذي يشكل 80% ،حيث يتم تصنيعه هناك، بعد وجبة الطعام يتم امتصاص الكوليسترول من الامعاء حيث ينقل إلى الدورة الدموية ومن ثم يحمل بواسطة بروتين خاص إلى الكبد، حيث يتم هناك تصنيع وإنتاج الكوليسترول (Fariaet *al.*, 2011).

أشارا عبد الرحمن و يونس (1995) عند إعطاء فلوريد الصوديوم الى الجرذان عن طريق الحقن تحت الجلد يؤدي الى زيادة الكوليسترول الكلي, الكليسريدات الثلاثية, البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة للكوليسترول , البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة جداً للكوليسترول.

وأشارت العديد من الدراسات الى ان التعرض المزمن للفلورايد يسبب ارتفاع في الدهون hyperlipidemia والجهد التأكسدي(Barbieret *al.*, 2010). في حين وجد(Shashi, 2003) أن للفلوريد تأثير تشبيطي على تصنيع الكوليسترول الكبدي والاحماض الدهنية الحرة في الارانبالمعاملة بفلوريد الصوديوم. وأكد (Chinoy& Patel, 2001) أن معاملة الفئران بالفلوريد تسبب زيادة مستوى الكوليسترول في المصل. وان التعرض المزمن لفلوريد الصوديوم يؤدي الى زيادة سريعة في مستويات دهون الكلية والكليسريدات الثلاثية والكوليسترول في مصل الدم .

وأوضحت دراسات أخرى أن الفلوريد يخفض الكوليسترول والكلوكوز ومستوى الألبومين في الدم, كما أدى أستعمال مضادات الاكسدة مع الفلوريد الى أنخفاض معنوي في مستوى كوليسترول المصل.

تأثير الفلوريد في مستوى اليوريا في الدم Blood urea level

ذكرت (Grucka-Mamczaret *al.*, 2007) أن حقن الجرذان بجرعة واحدة من فلوريد الصوديوم في الغشاء البريتوني أدى الى ارتفاع مستوى اليوريا, حيث أن المعدل المنخفض في إفراز اليوريا الى الأدرار نتيجة ضعف الترشيح الكبيبي ينتج عنه قصور كلوي يؤدي الى زيادة مستوى اليوريا في الدم, كما أن حقن الفلوريد يزيد من نسبة اليوريا في المصل وزيادة عملية ازالة مجموعة الأمين للأحماض الامينية في الكبد (Birkneret *al.*, 2000).

وللفلوريدات تأثيرات على الكليتين أيضاً حيث وجد بأن التعرض إلى المستويات العالية من الفلوريد سببت عدم كفاءة الكلية (ATSDR, 2001) .

طريقة العمل:

تحضير فلوريد الصوديوم:

أستخدمت الجرعة 20 ملغم/كغم من وزن الجسم من مادة فلوريد الصوديوم (Purohit *et al.*, 1999) وبعد أذابه الجرعة اليومية الكاملة من فلوريد الصوديوم في الماء المقطر, ثم تجريع كل حيوان بأستخدام محقنة خاصة بواقع (1مل) عن طريق الفم.

تصميم التجربة:

استخدمت في هذه التجربة (10) ذكور من الجرذان البيض بعمر 2-4 أسابيع موزعة توزيعاً عشوائياً الى مجموعتين متساوية العدد, أذ ضمت كل مجموعة (5جرذاً). وجرعت الحيوانات تجريعاً فمويماً لمدة (30) يوماً وعلى النحو الآتي :-

- 1- مجموعة السيطرة و اعطيت الماء فقط
- 2- مجموعة المعاملة جرعت هذه المجموعة من الجرذان يومياً بفلوريد الصوديوم بجرعة (20 ملغم /كغم) من وزن الجسم

جمع العينات:

بعد أنتهاء التجربة تم سحب الدم من القلب مباشرة بواسطة طعنة القلب وباستعمال محقنة طبية معقمة سعة (5مل).
وضع الدم المسحوب في أنابيب اختبار نظيفة خالية من المادة المانعة للتخثر, وتركزت لمدة (15-20) دقيقة ثم وضعت داخل جهاز الطرد المركزي لغرض فصل مصل الدم , عزل المصل بواسطة ماصة ميكانيكية دقيقة ووضع في انابيب بلاستيكية جديدة لغرض إجراء الاختبارات الكيموحيوية.

النتائج:

: المعايير الكيموحيوية

التغيرات في مستوى بعض أنزيمات الكبد لذكور الجرذ الابيض :-

بينت النتائج حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى انزيم ناقل أمين الاسبارتيت AST و مستوى أنزيم ناقل أمين الالنين ALT و مستوى أنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مجموعة المعاملة بفلوريد الصوديوم T_1 عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة C.

جدول (1) يبين تأثير فلوريد الصوديوم على بعض المعايير الانزيمية لكبد ذكور الجرذان البيض

المعايير المجاميع	AST المعدل \pm الخطأ القياسي	ALT المعدل \pm الخطأ القياسي	ALP المعدل \pm الخطأ القياسي
C السيطرة	15.38 \pm 0.11 c	10.37 \pm 0.07 c	80.58 \pm 0.12 c
T ₁	29.9 \pm 0.24 a	21.41 \pm 0.11 a	111.53 \pm 0.33 a
L.S.D	0.554	0.347	1.224

* الأرقام تمثل المعدل \pm الخطأ القياسي
 * الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية ($P < 0.005$) بين المجاميع
 * C تمثل مجموعة السيطرة
 * T₁ الجرعة تمثل مجموعة الحيوانات المجرعة لفلوريد الصوديوم

التغيرات في مستويات الكوليسترول

بينت نتائج الدراسة الموضحة في الجدول (2) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في تركيز كوليسترول الدم في مجموعة (T₁) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C.

التغيرات في مستويات الكليسيريدات الثلاثية

أشارت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (2) الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في المستوى المصلي للكليسيريدات الثلاثية للمجموعة T₁ مقارنة بمجموعة السيطرة C.

التغيرات في مستويات كوليستيرول البروتين الشحمي مرتفع الكثافة (HDL-C)

اظهرت نتائج أحصائيات الجدول (2) وجود انخفاض معنوي ($P > 0.05$) في مستوى كوليستيرول البروتين الشحمي مرتفع الكثافة (HDL) في مصل الدم للمجموعة (T₁) مقارنة مع مجموعة السيطرة (C) .

التغيرات في مستويات كوليستيرول البروتين الشحمي واطئ الكثافة (LDL-C)

الجدول (2) يشير الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في المستوى المصلي لكوليستيرول البروتين الشحمي واطى الكثافة (LDL-C) للمجموعة المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بمجموعة السيطرة

جدول (2) يبين تأثير مادة فلوريد الصوديوم على تركيز الكوليستيرول والدهون الثلاثية لذكور الجرذان البيض.

LDL-C	HDL-C	تركيز الكليسيريدات الثلاثية	تركيز الكوليستيرول	المجاميع
31.39± 0.12	28.21±0.19	43.29±0.27	71.39±0.14	السيطرة
C	C	C	C	C
52.69± 0.39	16.97±0.22	67.04±0.35	90.93±0.11	T ₁
E	d	b	a	
0.876	0.792	1.175	0.876	L.S.D

* الارقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي
* الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المجاميع
* C تمثل مجموعة السيطرة
* T₁ تمثل مجموعة الحيوانات المجرعة لفلوريد الصوديوم

المناقشة:

1. لمعايير الكيموحيوية

: مستوى أنزيمات الكبد (AST, ALT, ALP)

أشارت نتائج الدراسة الى حصول ارتفاع معنوي في مستوى فعالية أنزيمات الكبد (AST, ALT, ALP) عند تجريع ذكور الجرذان البيض البالغة بفلوريد الصوديوم بتركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة C.

. ويعزى الارتفاع في مستويات الانزيمات AST, ALT,ALP الى تكوين الجذور الحرة التي تهاجم الاغشية البلازمية لخلايا الكبد مما يؤدي الى تسرب هذه الانزيمات (Cotran, 1999). أن حالة الاجهاد التأكسدي الناتجة عن زيادة مجاميع الاوكسجين الفعالة تكون نتيجة تحطم الـ DNA والبروتينات والدهون في الخلايا الكبدية مما يؤدي الى تحطم هذه الخلايا ونضوح محتوياتها الى مجرى الدم ومنها أنزيمات AST, ALT,ALP (Huang *et al.*, 2012).

مستويات الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية وال LDL,HDL-C

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى ارتفاع معنوي في تركيز الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية و LDL مع انخفاض معنوي في مستوى HDL-C في ذكور الجرذان البيض البالغة المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز 20ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة C, وقد اشار (Perez- Nievas *et al.*, 2007) ان المعاملة بالفلوريد تنقص مستويات الانسولين ويكون للفلوريد تأثير مثبط على تصنيع الكوليسترول الكبدي (Hepatic cholesterol) والدهون الثلاثية والاحماض الشحمية في الارانب المعاملة بفلوريد الصوديوم . وأتفقت النتائج كذلك مع ملاحظته (Khalisa *et al.*, 1991) ان معاملة ذكور الارانب بـ (100 ppm) من فلوريد الصوديوم لمدة 60 يوماً أدى الى ارتفاع مستوى الكوليسترول وباقي الدهون في الدم. في حين أدت دراسة (Chinoy& Patel, 2001) الى ارتفاع مستوى الكوليسترول في الدم لأنثى الفئران المختبرية المعاملة بفلوريد الصوديوم .

أختلفت نتائج (Tao *et al.*, 2006) عن الدراسة الحالية بأنخفاض مستوى كوليسترول الدم للخنزير المعاملة بفلوريد الصوديوم بجرعة 150ملغم/كغم من وزن الجسم.

المصادر الاحنسة

1. Aga, M., Iwaki, K., Ushio, S., Masaki, N., Fukuda, S., Ikeda, M., & Kurimoto, M. (2006). Preventive effect of Coriandrum sativum (Chinese parsley) on aluminum deposition in ICR Mice. 56(5), 187-190.
2. Akdogan, M., Bilgili, A., Karaoz, E., Gokcimen, A., Yarsan, E., & Eraslan, G. (2002). The Structural and biochemical alternations in liver

- of rabbits, received fluor with water for particular dose and period, *FU. J. Health Sci*, 16, 41-46.
3. **Barbier, O., Arreola-Mendoza, L., & Del Razo, L. M. (2010).** Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chemico-biological interactions*, 188(2), 319-333.
 4. **Benson, K. G., & Paul-Murphy, J. (1999).** Clinical pathology of the domestic rabbit: acquisition and interpretation of samples. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 2(3), 539-551.
 5. **Birkner, E., Grucka-Mamczar, E., Machoy, Z., Tarnawski, R., & Polaniak, R. (2000).** Disturbance of protein metabolism in rats after acute poisoning with sodium fluoride. *Fluoride*, 33(4), 182-186.
 6. **Champman, R.W.; Collier, J.D. & Hayes, P.C. (2006).** Liver and Biliary tract diseases (ch.23) : in principles & Practice of Medicine (20th Ed): Boom, N.A.; Colledge, N. R.; Walker, B.R. and Hunter, J.A.A. (ED): *Elsevier limited*. India. P:940.
 7. **Champe, P., & Harvey, R. (1994).** Glycosaminoglycans. *Lippincott's illustrated reviews: biochemistry, 2nd edn. Lippincott-Raven, Philadelphia*, 150-152.
 8. **Chinoy, N., & Patel, T. N. (2001).** Effects of sodium fluoride and aluminium chloride on ovary and uterus of mice and their reversal by some antidotes. *Fluoride*, 34(1), 9-20.
 9. **Cotran, R. S. (1999).** Cellular pathology I: cell injury and cell death. *Robbins pathologic basis of disease*, 23-25.
 10. **Faria, S. L., Faria, O. P., Buffington, C., de Almeida Cardeal, M., & Ito, M. K. (2011).** Dietary protein intake and bariatric surgery patients: a review. *Obesity surgery*, 21(11), 1798-1805.

11. **Grucka-Mamczar, E., Birkner, E., Zalejska-Fiolka, J., Machoy, Z., Kasperczyk, S., & Blaszczyk, I. (2007).** Influence of extended exposure to sodium fluoride and caffeine on the activity of carbohydrate metabolism enzymes in rat blood serum and liver. *Fluoride*, 40(1), 62-66.
12. **Glasser, G.(1996).** Fluoride: Atoxic Tort perspective-panacea or poison, 3rd ed, DES.J.
13. **Huang, G.-J., Deng, J.-S., Huang, S.-S., Shao, Y.-Y., Chen, C.-C., & Kuo, Y.-H. (2012).** Protective effect of antrosterol from *Antrodia camphorata* submerged whole broth against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Food Chemistry*, 132(2), 709-716.
14. **Khalisa Khadim Khudair, Awse Muhammed Ali Kiesewetter, H., Jung, F., Pindur, G., Jung, E., Mrowietz, C., & Wenzel, E. (1991).** Effect of garlic on thrombocyte aggregation, microcirculation, and other risk factors. *International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology*, 29(4), 151-155.
15. **Lantz, O., Jouvin, M.-H., De Vernejoul, M.-C., & Druet, P. (1987).** Fluoride-induced chronic renal failure. *American Journal of Kidney Diseases*, 10(2), 136-139.
16. **Lung, S.-C. C., Hsiao, P.-K., & Chiang, K.-M. (2003).** Fluoride concentrations in three types of commercially packed tea drinks in Taiwan. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 13(1), 66-73.
17. **McDonough, J.J.M.(2002).** Fluor acetate metabolism *Pseudomonas cetacean*. Pro ceding of the science work shop. The Royal Society of New Zealand, Miscellanies Series28.
18. **Palanivelu, V., Vijayavel, K., Balasubramanian, S. E., & Balasubramanian, M. (2005).** Influence of insecticidal derivative (cartap

- hydrochloride) from the marine polychaete on certain enzyme systems of the fresh water fish *Oreochromis mossambicus*. *Journal of environmental biology/Academy of Environmental Biology, India*, 26(2), 191.
19. **Perez-Nievas, B. G.; Garcia-Bueno, B.; Caso, J. R.; Menchen, L.; and Lez . J. C.(2007)**. Corticosterone as a marker of susceptibility a oxidative/nitrosative cerebral damage after stress exposure in rat *Psychoneuroendocrinology* , 32(6):703-711.
 20. **Priya, B., Anitha, K., Mohan, E. M., Pillai, K., Murthy, P., & Nadu, T. (1997)**. Toxicity of fluoride to diabetic rats. *Fluoride*, 30(1), 51-58.
 21. **Purohit, S., Gupta, R., Mathur, A., Gupta, N., Jeswani, I., Choudhary, V., & Purohit, S. (1999)**. Experimental pulmonary fluorosis. *The Indian journal of chest diseases & allied sciences*, 41(1), 27-34.
 22. **Stoddard, G.E.; Hams, L . E. & Batemen, G.(1993)**. Effect of calcium and fluoride on dairy cattle, Growth and feed consumption, *J.Dairy Sci.* 64:112-128.
 23. **Tao, X., Xu, Z. R., & Wang, Y. Z. (2006)**. Effects of dietary fluoride levels on growth, serum indexes and antioxidant systems in growing pigs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(1), 65-70.
 24. **Whitford, G. M., Callan, R. S., & Wang, H. (1982)**. Fluoride absorption through the hamster cheek pouch: A pH-dependent event. *Journal of Applied Toxicology*, 2(6), 303-306.
 25. **Willared, M.D.; Tueolten, H.; Turnwald, G.H. (1999)**: Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. 3rd ed. W.B.Saunders.