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

دراسة كيموحيوية لتأثيرالسام لفلوريد الصوديوم على ذكور الجرذان البيض

بحث تخرج مقدم الى

مجلس كلية التربية / جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

من قبل
اكرم احمد حمزه الشبلاوي

أشراف
الدكتورة
هناء عناية ماهود

٢٠١٩/ ابريل
شعبان/ ١٤٤٠

أقرار المشرف

اشهد ان مشروع البحث دراسة كيموحيوية للتأثير السام لفلوريد الصوديوم في ذكور الجرذان البيض

اجري تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية /جامعة القادسية

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة .....

التوقيع :

الاسم : د. هناء عناية ماهود

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ :

البحث

دراسة كيموحيوية للتأثير السام لفلوريد الصوديوم في ذكور الجرذان البيض

اسم الطالب : اكرم احمد حمزه الشبلاوي

أشراف : د . هناء عناية ماهود

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة التأثيرات السمية لفلوريد الصوديوم على بعض المعايير الكيموحيوية , أذ أستخدمت في هذه التجربة (١٠) من ذكور الجرذان البالغة, وقسمت الحيوانات الى مجموعتبن (٥جرذا) للمجموعة الواحدة (السيطرة C) جرعت ماء الشرب العادي فقط والعليقة , أما مجموعة المعاملة (T١) فقد جرعت يومياً بفلوريد الصوديوم بجرعة (٢٠ملغم/كغم) من وزن الجسم , وكانت الكمية المعطاة هي (١مل/اليوم) بواسطة انبوب التجريع ولمدة (٣٠ يوم). وتمت التضحية بالحيوانات وسحب الدم منها لغرض ملاحظة التأثيرات المرضية الحاصلة في المعايير المدروسة, أذ أظهرت نتائج التحليل مايأتي :-

أظهرت النتائج وجود أرتفاع معنوي ($P<٠.٠٥$) في مستوى اليوريا في مصل الدم للمجموعة $T_١$ المعاملة بفلوريد الصوديوم عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة C. وكذلك أرتفاع معنوي ($P<٠.٠٥$) للمستوى المصلي للكرياتنين للمجموعة $T_١$ المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز ٢٠ملغم/كغم من وزن الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما أظهرت نتائج الدراسة حصول أنخفاض معنوي ($P>٠.٠٥$) في مستوى الكلوتاثيون للمجموعة T١ مقارنة بمجموعة السيطرة C.

كما اوضحت نتائج MDA لذكور الجرذان البيض للمجموعة $T_١$المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز ٢٠ملغم/كغم من وزن الجسم وجود ارتفاع معنوي ($P<٠.٠٥$) في مستوى MDA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C .

كذلك أشارت النتائج حصول انخفاض معنوي ($P<٠.٠٥$) بالنسبة لمستوى الالبومين Albumin لذكور الجرذان البيض للمجموعة $T_١$ المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

المقدمه

امتصاص الفلوريد وتوزيعه وطرحه

يمتص الفلوريد بسرعة في الجسم وأن تحديد مقدار الفلوريد الممتص تعد عملية صعبة,بسبب كون عند تنفس الهواء الجوي المحتوي على فلوريد الصوديوم أو أبخرة الفلور فأن الفلور يدخل مجرى الدم بسرعة خلال الرئتين ، وبصورة عامة فان أغلب الفلور المبتلع عن طريق الماء أو الغذاء يدخل مجرى الدم بسرعة خلال الجهاز الهضمي, وتعتمد كمية الفلوريد التي تصل مجرى الدم على عدة عوامل منها كمية الفلور المبتلعة وكمية الفلوريد الذائبة في الماء، بينما تؤثر العوامل الأخرى مثل الجنس والعمر والحالة الصحية في أيون الفلوريد بعد تواجده في الجسم (ATSDR, ٢٠٠١).

يمتص الفلوريد المتناول فموياً بنسبة ٥٠% عن طريق القناة الهضمية بعد حوالي ٣٠دقيقة, بغياب الكالسيوم وبعض الكاتيونات الاخرى Cations التي يشكل الفلوريد معها مركبات ذات امتصاص ضعيف وغير قابلة للذوبان, والفلوريد ذات ايونات سالبة الشحنة الكهربائية جدا والذي يعني أن له ميل شديد لأكتسابالشحنة الموجبة ليشكل أيونات الفلوريد في المحلول, كما أن المحاليل المائية للفلورايد في ظروف حامضية كما في المعدة يتحول الفلورايد الى حامض الهيدروفلوريك(Barbier*et al.*, ٢٠١٠).

ينتقل الفلورايد خلال الأغشية الحيوية في المقام الأول من خلال الأنتشارااللاأيوني لحامض الهيدروفلوريكHF حيث أن الجزيئة الصغيرة لفلوريد الصوديوم تنتقل خلال الاغشية الخلوية اسرع من جزيئة ايون الفلوريد المنفصلة مما ينتج امتصاص خلوي أكثر حدة , كما أن نفاذية الأغشية لـ NaFاكثر ب٥-٧ احجام من الفلوريد(Gutknecht & Walter,١٩٨١).

أشارت الدراسات المختبرية على الجرذان إلى أن فلوريد الصوديوم يمتص بسرعة من المعدة والقناة المعوية، حيث إن الأمتصاص من المعدة يحدث بسهولة وبعلاقة عكسية مع درجة الأس الهيدروجينيpH لمحتويات المعدة (Sato*et al.*, ١٩٨٦). إذ إن امتصاص فلوريد الصوديوم من تجويف فم الجرذ يزداد مع أنخفاض درجة الاس الهيدروجينيpH في المحلول (Whitford*et al.*, ١٩٨٢). وبذلك يعتمد أمتصاص الفلورايد عبر الغشاء المخاطي للفم والمعدة بقوة على درجة الحموضة pH(Khalisa*et al.*, ١٩٩١).

وفي حيوانات المختبر فأن وجود الغذاء والفلورايد المرتبط مع أيونات الكالسيوم والألمنيوم والمغنيسيوم في القناة المعوية يقلل معنوياً من كمية الفلورايد الممتص خلال الدورة الجهازية للجسم(Spencer*et al.*, ١٩٨١; Rao, ١٩٨٤) . وقد لوحظ حدوث أنخفاضفي أمتصاصيه

الفلورايد الذي تستهلكه إناث الفئران من ٧٦% -٤٧% عندما أرتفع مستوى الكالسيوم في العليقة من ٠.٥% الى٢% على التوالي (Harrison*et al.*,١٩٨٤). كذلك ان الكالسيوم والألمنيوم وكلوريد الصوديوم والمستويات عالية من الدهن هي العوامل الغذائية التي تقلل من أمتصاص الفلورايد(Mossa& Al-Meshal, ١٩٨٧). وتعمل أملاح الألمنيوموامالاح الكالسيوم الموجودة في الغذاء على تقليل كمية الفلورايد التي تساهم القناة المعويةبأمتصاصها في الأغنام)(Underwood, ١٩٧٧. وقد أشار الباحث (Kao*et al.*, ٢٠٠٤) الى أن أستهلاك تراكيز عالية من كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$ أو سلفات المغنيسيوم $MgSO_4$تؤدي الى تقليل التأثيرات السامة للفلورايد.

يحصل طرح الفلورايد من الجسم عن طريق الكلية غالباً(Pindur&Kiesewetter, ١٩٩١). حيث يظهر الفلورايد بسرعة في البول بعد امتصاصه، وهناك عوامل عديدة تؤثر على طرح الفلوريد مع البول كمجموع الفلوريد المستهلك والتعرض المسبق للفلوريد والعمر وجريان البول ودرجة حموضة البول pH وحالة الكلية الوظيفية١٩٨٢ ,.*et al*Ekstrand().ووجد ان كلية الكلب لها القابلية علىتخفيض تركيز الفلوريد الموجود في البلازما بالبول بمقدار ١٠-٢٠ ضعفاً من خلال التصفية الكبيبية(Carlson*et al.*, ١٩٦٠). (Glomerular filtration)

تأثيرات الفلوريد في مستويات الكلوكوز بالدم Blood Glucose level

ذكر الباحثينChinoy&Patel(٢٠٠١ ,) أن تأثير الفلوريد على عملية التحلل السكري تكون بالتأثير المباشر على العمليات الأيضية داخل خلوية اذ ينتج عن أستخدام غسول الفم المزود بالفلوريد تثبيط أيض الكلوكوز (عند الخطوة Glucose-٦-phosphate) الذي يحث على أزالة الكالسيوم .

وهناك تأثير واضح لأيونات الفلوريد في فاعلية إنزيمات البنكرياس إذ أشار (Chlubek*et al.*, ٢٠٠٣) إلى تأثير الفلوريد في فاعلية الإانزيم المضاد للأكسدة في بنكرياس الجرذ oxidative enzymeantiخلال تعرضها إلى فلوريد الصوديوم في ماء الشرب مدة٤اشهر. وقد استنتج من خلال هذه الدراسة أن الفلوريد يؤدي إلى تثبيط إنزيم Superoxide dismutase البنكرياسيعن طريق التأثير المباشر عليه. كما وجد (Menoyo*et al.*, ٢٠٠٨) بان للفلوريد دوراً مثبط في إفراز هرمون الأنسولين عندما أعطي على شكل فلوريد صوديوم فموياً orally للجرذان التي منعت عن الطعام ونتج عن ذلك انخفاض فوري لمستويات الأنسولين وتبعته زيادة في مستوى السكر في بلازما الدم,وهذه الظواهر لوحظت عندما كانت تراكيز الفلوريد في البلازما (٥-١٥) مايكرومول,كذلك وجد أن هذه الظواهر ترجع إلى مستوياتها الطبيعية بعد مضي مدة (٤-٥) ساعات بعد إزالة الفلوريد من البلازما والأنسجة الرخوة .

تأثير الفلوريد في مستوى اليوريا في الدم Blood urea level

ذكرت (Grucka-Mamczar*et al*., ٢٠٠٧) أن حقن الجرذان بجرعة واحدة من فلوريد الصوديوم في الغشاء البريتوني أدى الى ارتفاع مستوى اليوريا, حيث أن المعدل المنخفض في أفراز اليوريا الى الأدرارنتيجة 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 للاحماض الامينية في الكبد (Birkner*et al*., ٢٠٠٠).

وللفلوريدات تأثيرات على الكليتين أيضاً حيث وجد بأن التعرض إلى المستويات العالية من الفلوريد سببتعدم كفاءة الكلية وحدوث خمج للأنسجة البينية للنفرونات interstitial nephritis(ATSDR, ٢٠٠١).

وفي دراسة قام بها (Shi& Sun,)٢٠٠٥وجماعته وجد أن للفلوريد تأثيرات عكسية في كلية الجرذ ظهرت في تركيز (٥ ppm) فلوريد في ماء الشرب وهذا يعد أقل تركيز, على الرغم من أن الجرذ يعد أكثرمقاومة للتسمم بالفلوريد.

إذ وجد (Brinker*et al*., ٢٠٠٦)وجماعته عند إعطاء ذكور جرذان فلوريد الصوديوم مع الكافائينCaffeine في ماء الشرب لمدة (٥٠) يوما وبالجرع (٤.٩) ملغم من فلوريد الصوديوم/كغم من وزن الجسم مع (٣) ملغم كافائين/كغم من وزن الجسم، حدوث تغيرات في وظائف الكلية لمستوياتالكرياتينين واليوريا والبروتين والكالسيوم وكذلك حصول تغيرات إنزيمية.

طريقة العمل :-

تحضير فلوريد الصوديوم

أستخدمت الجرعة ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من مادة فلوريد الصوديوم (Purohit *et al.*, ١٩٩٩) وبعد أذابه الجرعة اليومية الكاملة من فلوريد الصوديوم في الماء المقطر, ثم تجريع كل حيوان بأستخدام محقنة خاصة بواقع (١مل) عن طريق الفم.

تصميم التجربة

استخدمت في هذه التجربة (١٠) ذكور من الجرذان البيض بعمر ٢-٤ أسابيع موزعة توزيعاً عشوائياً الى مجموعتين متساوية العدد, أذ ضمت كل مجموعة (٥جرذاً). وجرعت الحيوانات تجريعاً فموياً لمدة (٣٠) يوماً وعلى النحو الأتي : -

١- مجموعة السيطرة واعطيت الماء فقط

٢- مجموعة المعاملة جرعت هذه المجموعة من الجرذان يوميا بفلوريد الصوديوم بجرعة (٢٠ ملغم /كغم) من وزن الجسم

جمع العينات

بعد أنتهاء التجربة تم سحب الدم من القلب مباشرة بأستعمال طعنة القلب وبأستعمال محقنة طبية معقمة سعة (٥مل) .

وضع (٣مل) من الدم المسحوب في أنابيب أختبار نظيفة خالية من المادة المانعة للتخثر, وتركت لمدة (١٥-٢٠) دقيقة في داخل جهاز الطرد المركزي لغرض فصل مصل الدم مصل الدم, عزل المصل بواسطة ماصة ميكانيكية دقيقة ووضع في انابيب بلاستيكية جديدة لغرض أجراء الاختبارات الكيموحيوية

النتائج :

التغيرات في مستوى اليوريا

أظهرت نتائج (الجدول١) وجود أرتفاع معنوي (P<٠.٠٥) في مستوى اليوريا في مصل الدم للمجموعة T_1 المعاملة بفلوريد الصوديوم عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة C.

التغيرات في مستوى الكرياتنين Creatinine Level

دلت نتائج الدراسة الموضحة في الجدول (١) على وجود أرتفاع معنوي (P<٠.٠٥) للمستوى المصلي للكرياتنين للمجموعة T_1 المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز ٢٠ملغم/كغم من وزن الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

جدول (١) يبين تأثير فلوريد الصوديوم على المستوى المصلي لليوريا والكرياتنين في ذكور الجرذان البيض

المجاميع	Ureaمستوى اليوريا	Creatinineمستوى الكرياتنين
C السيطرة	٢١.٥٤±٠.٢٥c	٠.٦٢±٠.٠٢c
T_1	٣٩.٨٩±٠.٢٤a	١.٥٩±٠.٠٤a
L.S.D	**٠.٩٢٠**	**٠.١٠٢**

*** الارقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي**
*** C تمثل مجموعة السيطرة**
*** T_1 تمثل مجموعة الحيوانات المجرعة لفلوريد الصوديوم**
*** الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية (P<٠.٠٥) بين المجامي**

التغيرات في مستوى الكلوتاثيون GSH وبيركسدةالدهنMDA والالبومين Albumin

أظهرت نتائج الدراسة الحالية كما في الجدول (٢) حصول أنخفاض معنوي (P>٠.٠٥) في مستوى الكلوتاثيون للمجموعة T١ مقارنة بمجموعة السيطرة C.

كما اوضحت نتائج MDA لذكور الجرذان البيض للمجموعة T_1المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز ٢٠ملغم/كغم من وزن الجسم وجود ارتفاع معنوي (P<٠.٠٥) في مستوى MDA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C .

كذلك أشارت النتائج الموضحة بالجدول (٢) انخفاض معنوي (P<٠.٠٥) بالنسبة لمستوى الالبومين Albumin لذكور الجرذان البيض للمجموعة T_1 المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز ٢٠ ملغم/كغم من وزن الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول (٢) يبين تأثير فلوريد الصوديوم على مستوى الكلوتاثيون وبيروكسيدة الدهن والالبومين في ذكور الجرذان البيض

المجاميع	الكلوتاثيون GSH	بيركسدة الدهن MDA	الالبومين Albumin
C السيطرة	٢.٤٣±٠.٠٨a	١.٦٧±٠.٠٢c	٤.٢٥±٠.١٠a
T_1	١.٢٢±٠.٠٣c	٢.٤٣±٠.٠٥ a	٢.٥٩±٠.٠٨b
L.S.D	٠.١٦٢	٠.٠٩٨	٠.٨٧٦

*** الارقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي**
*** C تمثل مجموعة السيطرة**
*** T_1 تمثل مجموعة الحيوانات المجرعة لفلوريد الصوديوم**
*** الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجاميع**

المناقشة:

التغيرات في مستوى اليوريا Urea والكرياتنين Creatinine في الدم

اوضحت نتائج الدراسة حصول أرتفاع معنوي في مستويات اليوريا والكرياتنين لمصل الدم الحيوانات المعاملة بفلوريد الصوديوم والذي يمكن ان يعزى الى التسمم بالفلوريد الذي يؤدي الى قصور في وظائف الكلية حيث ان المعدل الواطئ في أفراز اليوريا الى البول يؤدي الى زيادة مستوى اليوريا في الدم وأن التسمم بالفلوريد يؤدي الى قصور في وظائف الكلية والى زيادة مستوى اليوريا في الدم (Gruckaet *al.*, ٢٠٠٥).

أما أرتفاع مستوى الكرياتنين حدث بسبب أرتفاع مستويات الإنزيم الدفاع المضادة للأكسدة SODوCAT والتغير الحاصل يعزى الى الاجهاد التأكسدي المرتبط بزيادة توليد الجذور الحرة التي لها القابلية على عمل بيركسدة الدهن في الكلية ونقص مستوى مضادات الاكسدة والانزيمات المضادة للأكسدة (Mohan *et al.*, ٢٠١٠) .

التغيرات في مستوى الكلوتاثيون GSH وبيركسدة الدهنMDA والالبومين Albumin

أوضحت نتائج الدراسة الحالية وجود أنخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيونGSH والالبومين Albumin في ذكور الجرذان البيض البالغة المعاملة بفلوريد الصوديوم بتركيز ٢٠ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة C, وقد يعزى سبب الانخفاض في مستوى الكلوتاثيون الى حدوث حالة الاجهاد التأكسدي بفعل المعاملة المستمرة بفلوريد الصوديوم (Yetuk*et al*., ٢٠١٤), ونتيجة مشاركة الكلوتاثيون الفعالة في منع الاكسدة في حالات الاجهاد التأكسدي, أما من خلال الازالة المباشرة للجذور الحرة أو عن طريق الانزيمات التي تكون مادة أساسية لها مثل الكلوتاثيونبيروكسيديز*Glutathione peroxidase*مما يؤدي الى زيادة أستهلاك الكلوتاثيون وتحوله الى شكله غير الفعال الكلوتاثيون ثنائي الكبريتdimercaptopropano (Demir*et al*., ٢٠٠٣).

أوضحت النتائج كذلك ارتفاع مستوى بيركسدة الدهن MDA وأنخفاض مستوى الالبومين, الى المعاملة بفلوريد الصوديوم التي تؤدي الى زيادة انتاج بيروكسيد الهايدروجينH_2O_2 اوبذلك يساهم في أنتاج بيركسدة الدهون (Basha&Sujitha, ٢٠١١).

أماسبب الانخفاض في الالبومين للمجموعة المعاملة بالفلوريد ممكن ان يعزى الى حجب الجذور الحرة حيث يعد الالبومين من مضادات الاكسدة المهمة في الدم, أذ يمتلك الالبومين مجموعة ثايول واحدة في كل جزيئة تمكنه من أزاله العديد من الجذور الحرة وأصلاح الضرر الناجم عنها (Ruot*et al*., ٢٠٠٠).

المصادر

١: **Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga, S., & Itakura, Y. (٢٠٠١).** Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of nutrition,* ١٣١(٣), ٩٥٥S-٩٦٢S.

٢: **Barbier, O., Arreola-Mendoza, L., & Del Razo, L. M. (٢٠١٠).** Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chemico-biological interactions,* ١٨٨(٢), ٣١٩-٣٣٣.

٣: **Birkner, E., Grucka-Mamczar, E., Machoy, Z., Tarnawski, R., & Polaniak, R. (٢٠٠٠).** Disturbance of protein metabolism in rats after acute poisoning with sodium fluoride. *Fluoride,* ٣٣(٤), ١٨٢-١٨٦

٤: **Birkner, E., Grucka-Mamczar, E., Żwirska-Korczala, K., Zalejska-Fiolka, J., Stawiarska-Pięta, B., Kasperczyk, S., & Kasperczyk, A. (٢٠٠٦).** Influence of sodium fluoride and caffeine on the kidney function and free-radical processes in that organ in adult rats. *Biological trace element research,* ١٠٩(١), ٣٥-٤٧.

٥: **Basha, M. P., & Sujitha, N. (٢٠١١).** Chronic fluoride toxicity and myocardial damage: antioxidant offered protection in second generation rats. *Toxicology international,* ١٨(٢), ٩٩

٦: **Chlubek, D., Grucka-Mamczar, E., Birkner, E., Polaniak, R., Stawiarska-Pięta, B., & Duliban, H. (٢٠٠٣).** Activity of pancreatic antioxidative enzymes and malondialdehyde concentrations in rats with hyperglycemia caused by fluoride intoxication. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology,* ١٧(١), ٥٧-٦٠

٧: **Carlson, C. H., Armstrong, W., & Singer, L. (١٩٦٠).** Distribution, migration and binding of whole blood fluoride evaluated with radiofluoride. *American Journal of Physiology--Legacy Content,* ١٩٩(١), ١٨٧-١٨٩

٨: **Connett, E., & Connett, P. (٢٠٠١).** Fluoride: the hidden poison in the National Organic Standards. *Pesticides and You,* ٢١, ١٨-٢٢.

٩: **Demir, S., Yilmaz, M., Koseoglu, M., Akalin, N., Aslan, D., & Aydin, A. (٢٠٠٣).** Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turkish Journal of Gastroenterology,* ١٤(١), ٣٩-٤٣

١٠: **Ekstrand, J., Spak, C., & Ehrnebo, M. (١٩٨٢).** Renal clearance of fluoride in a steady state condition in man: influence of urinary flow and pH changes by diet. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology,* ٥٠(٥), ٣٢١-٣٢٥

١١: Gutknecht, J., & Walter, A. (١٩٨١). Hydrofluoric and nitric acid transport through lipid bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes,* ٦٤٤(١), ١٥٣-١٥٦.

١٢: **Grucka-Mamczar, E., Birkner, E., Zalejska-Fiolka, J., Machoy, Z., Kasperczyk, S., & Blaszczyk, I. (٢٠٠٧).** Influence of extended exposure to sodium fluoride and caffeine on the activity of carbohydrate metabolism enzymes in rat blood serum and liver. *Fluoride,* ٤٠(١), ٦٢-٦٦

١٣: Grucka-Mamczar, E., Birkner, E., Zalejska-Fiolka, J., & Machoy, Z. (٢٠٠٥). Disturbances of kidney function in rats with fluoride-induced hyperglycemia after acute poisoning by sodium fluoride. *Fluoride,* ٣٨(١), ٤٨-٥١

١٤: **Harrison, J., Hitchman, A., Hasany, S., Hitchman, A., & Tam, C. (١٩٨٤).** The effect of diet calcium on fluoride toxicity in growing rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology,* ٦٢(٣), ٢٥٩-٢٦٥

١٥: **Khalisa Khadim Khudair, Awse Muhammed Ali Kiesewetter, H., Jung, F., Pindur, G., Jung, E., Mrowietz, C., & Wenzel, E. (١٩٩١).** Effect of garlic on thrombocyte aggregation, microcirculation, and other risk factors. *International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology,* ٢٩(٤), ١٥١-١٥٥.

١٦: **Kao, W. F., Deng, J. F., Chiang, S. C., Heard, K., Yen, D. H., Lu, M. C., . . . Lee, C. H. (٢٠٠٤).** A simple, safe, and efficient way to treat severe fluoride poisoning—oral calcium or magnesium. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology,* ٤٢(١), ٣٣-٤٠

١٧: **Mossa, J. S., Al-Yahya, M. A., & Al-Meshal, I. A. (١٩٨٧).** Medicinal Plants of Saudi Arabia.

١٨: **Menoyo, I., Puche, R. C., & Rigalli, A. (٢٠٠٨).** Fluoride-induced resistance to insulin in the rat. *Fluoride,* ٤١(٤), ٢٦٠-٢٦٩.

١٩: **Mohan, M., Kamble, S., Gadhi, P., & Kasture, S. (٢٠١٠).** Protective effect of Solanum torvum on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology,* ٤٨(١), ٤٣٦-٤٤٠

٢٠: **Pindur, G.,H, Kieswetter F. Jung . (١٩٩١).**Eeffect of garlicotherombocyte aggregation , Microcirculation , and other risk factors . int jelin pharmacol ter toxicol ; ٢٩(٤) : ١٥١-١٥٨. ٣٤

٢١: **Purohit, S., Gupta, R., Mathur, A., Gupta, N., Jeswani, I. Choudhary, V., & Purohit, S. (١٩٩٩).** Experimental pulmonary fluorosis. *The Indian journal of chest diseases & allied sciences,* ٤١(١), ٢٧-٣٤.

٢٢: **Rao, G. S. (١٩٨٤).** Dietary intake and bioavailability of fluoride. *Annual review of nutrition,* ٤(١), ١١٥-١٣٦.

٢٣: **Ruot, B., Breuillé, D., Rambourdin, F., Bayle, G., Capitan, P., & Obled, C. (٢٠٠٠).** Synthesis rate of plasma albumin is a good indicator of liver albumin synthesis in sepsis. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism,* ٢٧٩(٢), E٢٤٤-E٢٥١.

٢٤: **Sato, T., Yoshitake, K., & Hitomi, G. (١٩٨٦).** Mechanism of fluoride absorption from the gastrointestinal tract in rats *Studies in Environmental Science* (Vol. ٢٧, pp. ٣٢٥-٣٣٢): Elsevier.

٢٥: **Spencer, H., Osis, D., & Lender, M. (١٩٨١).** Studies of fluoride metabolism in man: a review and report of original data. *Science of the Total Environment,* ١٧(١),

٢٦: **Szczepaniak, L. S., Nurenberg, P., Leonard, D., Browning, J. D., Reingold, J.S., Grundy, S., . . . Dobbins, R. L. (٢٠٠٥).** Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism,* ٢٨٨(٢), E٤٦٢-E٤٦٨

٢٧: **Underwood, E.J. (١٩٧٧).** Fluorine: Trace elements in human and animal nutrition. (eds.) ٤th ed. Academic Press, New York, San Francisco, London, Pp:٣٤٧-٣٧٤.

٢٨: **Whitford, G. M., Callan, R. S., & Wang, H. (١٩٨٢).** Fluoride absorption through the hamster cheek pouch: A pH-dependent event. *Journal of Applied Toxicology,* ٢(٦), ٣٠٣-٣٠٦

٢٩ **Yetuk, G., Pandir, D., & Bas, H. (٢٠١٤).** Protective role of catechin and quercetin in sodium benzoate-induced lipid peroxidation and the antioxidant system in human erythrocytes in vitro. *The Scientific World Journal,* ٢٠١٤.