Test of Soybean Extract to Eliminat the Harmfull Effects of MMC using Head Sperm Abnormalities Test in Albino Mice (Mus musculus)

Dr. Abbas A.Mohammad
Applied Science Department, University of Technology \Baghdad
Dr. Abdulnasser M. AL-Gebori
Applied Science Department, University of Technology \Baghdad
Mohammed K. Amin
Applied Science Department, University of Technology \Baghdad

Received on: 16/6/2013 & Accepted on: 26/11/2013

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the ability of methanolic extract of soybean to eliminat the harmfull effects of mitomycin C. By using sperm abnormalities test of male mice (Mus musculus).Seventyfive mice were used and divided into five groups by 15 mice for each group and each group was divided in turn into five groups: group 1 used as negative control , group 2 as positive control, were treated with mitomycin C (MMC) at 2mg/kg b.wt. intraperitonealy (i.p.) , while tested the remaining three groups with alcohol extract in concentrations ranged (2, 4, 8) mg\head\day within periods (1, 3, 5) week. The results don't show presence of abnormal change in the form of the heads of sperm in the stages of spermatids ,spermatocytes and spermatogonia in sperm cells and. So we cann't conclude that doses of soybean extract may permanently sterilize mice, and so cann't ability to recovering the effects of MMC.

Keywords :Soybeant extract, head sperm abnormalities, mice

فحص قدرة المستخلص الكحولي لفول الصويا في أزالة تأثيرات الضارة للمايتوماسين – سي- بأستخدام أختبار التشوهات في رؤوس النطف الفئران المختبرية

الخلاصة:

هدفت الدراسة الحالية الكشف عن قابلية المستخلص الميثانولي لفول الصويا (Soybean) في أزالة التأثير الضار للمايتومايسين سي في رؤوس النطف لذكور الفئران (*Mus musculus*) ، تم استخدام 75 فأرا موزعين على خمسة مجاميع بواقع 15 فأرا لكل مجموعة وكل مجموعة قسمت بدورها إلى خمسة مجاميع حيث

https://doi.org/10.30684/etj.32.5B.19
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

اعتبرت الأولى مجموعة السيطرة (control) في حين اختبرت الثلاث المتبقية بالمستخلص الكحولي وبتراكيز تروحت ما بين (2، 4، 8) ملغم/حيوان/يوم وللفترات (1، 3، 5) أسبوع.
بينت النتائج عدم وجود تغير جوهري في شكل رؤوس النطف في مراحل الخلايا المنوية والخلايا الأمية وسلفيات الخلايا النطفية عند مقارنتها مع العينة القياسية الموجبة ، لذا نستنتج ان جرع المعينه من مستخلص فول الصويا ، ليس لها القدرة على أزالة التأثير الضارللمايتومايسين سي .

المقدمة:

تعد النباتات مصدراً مهماً لصناعة الأدوية والعقاقير الطبية ، أذ أثارت أنتباة العلماء منذ فترة طويلة لفعاليتها البايولوجية كمصدر دوائي لتأثيرها العلاجي دون معرفة تأثيراتها الجانبية السلبية التي يمكن أن تحدثها على مواقع جسمية مختلفة غير مستهدفة ، نبات فول الصويا أحد أهم هذه النباتات ، نبات فول الصويا من النباتات العشبية ويدعى باللغة الأنكليزية Soyabean وعند الأمريكان Soybean وأسمة العلمي *Glycine max* ينتمي الى صنف Magnolipsida ورتبة Fabales والعائلة Fabaceae وتحت العائلة Faboideae [1] ، يتباين طول النبتة من 20 سم الى2 م ، بذور النبات تصنف كبذور زيتية تحتوي على نسبه عالية من الزيوت المشبعة وغير المشبعة و البروتينات وأملاح الكاليسيوم والمنغنيسيوم والحديد والبوتاسيوم والصوديوم والزنك والفوسفور ، وتحتوي على Phytic acid وAlpha-linolenic acid ومشابهات الفلافونيداتIsoflavones وgenistein وDaidzein [2] .

أظهرت بعض الدراسات أنه يعمل ككابح Inhibtor لبعض المواد المنظمة لعملية الأنقسام الخلوي من خلال تحفيز بناء النترات Nitrate و(عوامل النمو Growth factors surivial) ويعمل كحاجز لتشكيل أوعية دموية جديدة Blocks formation of new blood vessels (Antiangiogenic effect) [3و4] ، كما وجد أن بذور فول الصويا تحتوي على Lecithin التي تعمل على خفظ معدل الكوليسترول في الدم و تحتوي على جميع الأحماض الأمينية الأساسية الثمانية للأنسان [5]. كما أنها غنية بـ Phytoestrogen الذي يقلل من الأصابة بأمراض القلب وهشاشة العظام وتقلل التغيرات البروتينية الحاصلة في الدماغ التي ترافق داء الزهايمر ، لكنها قد تؤدي الى أصابات خطرة مثل سرطان البروستات [6].

في جانب الأخر يوجد العديد من الأشخاص لديهم حساسية أتجاة فول الصويا ، أذ يعانون من عسر الهظم وأضطراب البنكرياس والجهاز الهظمي بسبب بروتين فول الصويا ، كما وجد أن بذور فول الصويا تحتوي على مادة تدعى Isoflavone وهي مادة مسرطنة [7] ، ولأحتوأها نسبه عالية من الهرمون الأنثوي Estrogen والتي قد تسبب العقم لدى الرجال فالكميات الكبيرة منه تؤدي الى ضعف النطف [8]، كما أن البذورها تؤدي الى خلل في مستوى هرمون الأستروجين Estrogen والتستيرون Testosterone في الرجال تؤدي الى قلة عدد النطف عند الذكور بسبب زيادة سكر الدم[9].

مادة المايتومايسين سي مادة مطفرة لها القابلية على أستحثاث سمية وراثية Genotoxicity في الخلايا مثل خلايا نقي العظم في الفئران من الأنقسام الأول بعد المعاملة ، يستخدم بشكل واسع كمادة سيطرة موجبة Positive control في أختبارات تحديد السمية الوراثية Genotoxic tests في الحيوانات المختبرية أو في الزراعة الخلوية Cell culures [10،11] ، يستحث ضرر في الكروموسومات من خلال تكوين الجذور الحرة Free radicals ويؤدي الى طفرات في الـ DNA [12] ، أذ لوحظ من خلال العديد من الدراسات التي اجريت في هذا المضمار انها تزداد عند التعرض للعوامل المطفرة Mutagenic agents سواء أكانت فيزيائية أو كيميائية وعلى سبيل المثال لا الحصر، وجد أن مركب Quercetin الموجود في الخضروات الورقية والفواكه والبقوليات والذي عرف كمطفر في النظام البكتيري وفي اختبار تشوهات رؤوس النطف [13] ، كما أحث المستخلص الكحولي لنبات الشبنت Dill زيادة معنوية في نسبه التشوهات في رؤوس النطف [14] . لهذا اعتمد أختبار التشوهات في رؤوس النطف لبيان القابلية التطفيرية لبعض المركبات والمواد، ومن الاختبارات الخاصة لكشف قابلية العوامل الفيزياوئية والكيمياوئية على استحثاث

التطفير أوالتسرطن في الخلايا الجنسية حيث وجد انها أكثر حساسية وبنسبة 100% للمواد المطفرة. كما يفضل هذا الاختبار لكونه من الاختبارات السريعة، قليلة التكلفة والتي لاتحتاج الى مواد أو معاملات كثيرة (كالاوساط الزرعية وغيرها)، يفحص خلال خمس أسابيع بعد المعاملة لأي مادة يراد أختبار قابليتها التطفيرية أو التسرطنية، من خلال متابعة المراحل المختلفة من تطور ونمو النطف Spermatogenesis وأثر تلك المواد في كل مرحلة منه فالاسبوع الاول يمثل تأثير المادة على النطف في مرحلة الخلايا المنوية Spermatids والأسبوع الثالث يمثل التأثير على مرحلة الخلايا الأمية للنطف Spermatocytes أما الأسبوع الخامس فيمثل التأثير على مرحلة سلف الخلايا النطفية Spermatogonia [15،16].

المواد وطرائق العمل :

تم جلب النبات من الأسواق المحلية وغسلها بماء الحنفية ومن ثم جفف في الظل وبوجود تيار هواء لمدة يومين، وسحق باستعمال هاون خزفي، وحضر المستخلص الكحولي الخام (Crude Extract) حسب الطريقة المذكورة في[17] حيث تم وزن (100) غم من المسحوق النباتي ونقع في (500) ملليلتر من الميثانول لغرض الحصول على المستخلص الكحولي، وترك الخليط في جهاز الحاضن الهزاز (Shaking Incubator) بدرجة (37)ْم ولمدة (24) ساعة، رشيح النقيع باستخدام ورق ترشيح من نوع (Whatman No.1) وبخر المحلول بجهاز المبخر الدوار (Rotary Evaporator Vaccum) للحصول على محلول مركز تحت تأثير الضغط المخلخل وتحت درجة حرارة الغرفة بوجود تيار هواء متداور لحين الحصول على مسحوق جاف ثم حفظ المسحوق الناتج في قنينة زجاجية معقمة لحين الاستعمال.

حضر المحلول الأساس Stock Solution باذابة (1) غم من المسحوق في (10) ملليتر من الماء المقطر المعقم ثم حضرت منهالأوزان التالية: (2 ، 4 , 8 ملغم).

الحيوانات:

تم الحصول على 75 ذكراً من الفئران المختبرية *Mus musculus* من مختبرات المركز الوطني للرقابة والبحوث الدوائية/ ساحة الأندلس/ بغداد. بعمر (8-12)أسبوعاً وبمعدل وزن يساوي25 غم وجرى تربيتها مختبرياً في أقفاص لدائنية ذات غطاء مشبك وأعطيت الماء والعليقة المتكاملة طيلة فترة اجراء التجربة. قسمت الفئران الى خمسة مجاميع وهي:

المجموعة الاولى ضمت (15) فأراً أعدت كسيطرة سالبة (عينة قياسية) Negative control ، المجموعة الثانية (السيطرة الموجبة) Positive control ضمت (15) حقنت بـ0.25 مليليتر تحت الغشاء البريتوني Intraperitoinal(I.P) من المادة المسرطنة مايتومايسين سي(Mitomycin C)، المجهز من قبل شركة Sigma (USA) تركيز2mg\kgb.wt المجموعة الثالثة ضمت (15) فأراً أعطيت الجرعة 2 ملغم/حيوان /يوم ولمدة خمسة أيام في الأسبوع. المجموعة الرابعة ضمت (15) فأراً أعطيت الجرعة 4 ملغم /حيوان /يوم ولمدة خمسة أيام في الأسبوع ، المجموعة الخامسة ضمت (15) فأراً أعطيت الجرعة 8 ملغم/حيوان/يوم ولمدة خمسة أيام في الأسبوع. علماً بأنه في كل مجموعة من المجاميع الثلاث الأخيرة أخذت الحيوانات للحصول على النطف بعد الأيام (35,21,7) من أعطاء المستخلص .

طريقة تحضير النطف:

أتبعت طريقة Wyrobek وBruce [15] للحصول على النطف مع أجراء بعض التحويرات عليها ،اذ يؤخذ البربخ Epididymis ويوضع في طبق بتري Petri dish حاوي على 5 سنتميتر مكعب من محلول ملحي متعادل (0.85%) ، يقطع ويهرس بأستخدام أبرة دقيقة Needle وملقط دقيق الى أجزاء صغيرة جداً ويوضع المحلول ومايحتويه في أنبوبة أختبار نظيفة . ثم يوضع المزيج في المثبت لمدة ساعة بعدها يجري تحضير الشرائح الزجاجية وصبغها بصبغة الهيماتوكسلين وتركها لمدة (15) دقيقة ثم تغسل بماء الحنفية

Tap water ، ثم تصبغ بالأيوسين Eosin وتترك لمدة 10 دقائق ، وتغسل بعدها الشرائح بالكحول ثم تجفف .

التحليل الأحصائي :

أجرى التحليل الأحصائي للبيانات المتحصل عليها لكل تركيز بأيجاد المتوسط والخطأ القياسي ، بينما قورنت تلك المتوسطات المختلفة بأستخدام أختبارt-test لأيجاد قيمة أقل فرق معنوي وعلى مستوى 5%.

النتائج والمناقشة:

لقد تم ملاحظة أكثر من عشر أشكال مختلفة لتشوهات رؤوس النطف من خلال الدراسة الحالية والتي تشمل معيوب الجسم الطرفي Acrosome defective وأنحراف قمة كلاب الرأس Apical hook ، فقدان الجسم الطرفيAcrosome loss ،نطف فاقدة لكلاب الرأسBlunt hook وتضخم الرأس Hammer head ، وشكل الرأس الشريطيRibbon shap ، الشكل الوتدي Pin shap ، وأشكال أخرى مثل نطف ذات رأس غير منتظم الشكل ونطف ذات رأس يشبه شكل المطرقة ، وذات نتوئين في الرأس ،الشوكة الطويلة والقصيرة . كانت الأشكال السائدة Prodominantly من التشوهات هي تضخم الرأس وأنحراف كلاب الرأس . أن النطف الناضجة تحتوي في منطقة الرأسHead على المادة الوراثية الـ DNA وفي منطقة القطعة الوسطية Midpiece تحتوي العديد من المايتوكوندريا المجهزة للطاقة المحركة للنطف من خلال الفركتوزFructose ، هذه الحركة تلعب دوراً مهماً في الخصوبة Fertility والتي يمكن أن تتجاوز أكثر من 100000 مرة من طول الذنب [18]

علاقة فترة المعاملة بتكرار التشوهات في رؤ وس النطف :

1- خلال فترة الأسبوع الأول من المعاملة التي تمثل التأثير المادة على النطف في مرحلة الخلايا المنوية Spermatides ، جدول (1) يظهر معدل التشوهات لثلاث جرع وهي 2 ، 4 ، 8 ملغم/حيوان/ يوم والتي تراوحت (10.44،11.14،11.54) من مجموع التشوهات لرؤوس النطف لتراكيز الثلاث على التوالي والتي تؤكد عدم وجود أختلافات جوهرية بين الحيوانات المعاملة بفول الصويا و السيطرة الموجبة ، بينما كانت المقارنة بين العينة القياسية السالبة والموجبة المعاملة بـ2 ml MMC/kg b.wt. بمستوى ($P<0.01$) والتي ترجع الى أن MMC هذه المادة معروفة كمادة مطفرة ومسرطنة تعمل على تكوين جذور حرة تؤثر على الدناDNA [12]. أن هذه المرحلة من تطور نمو النطف تؤثر على الشكل الخارجي وأستطالة النطف وتكاثف النواة ، والتي تلعب عدد كبير من الجينات تأثيراً على العديد من الأنزيمات للخلايا سيرتولي Sertoli cells وأهمها أنزيم (cdk_2) Cyclin dependent kinase [18]، لقد وجد أن هناك علاقة بين تكاثف الكروموسوم والشكل العام للنطف من خلال الدراسات على خصوبة الأنسان والتكرار العالي لمعدل التشوهات (التغيرات الكروموسومية) وذلك من خلال دراسة وتحليل الهيئة الكروموسومية للنطف والتي أشارت بعدم وجود علاقة بين التغيرات الكروموسومية وخصوبة الرجل ولكن الأشكال غير الطبيعيةTeratozoosperma وقلة النطفOligzoospermia تتلازم (ترتبط) مع زيادة التغيرات الكروموسومية في النطف مثل [19].

2- جدول (2) يظهر معدل التشوهات بعد ثلاث أسابيع من المعاملة والتي تمثل فترة التأثير على مرحلة الخلايا الأمية للنطف Spermatocytes (10.55،11.52،10.13) للجرع 2،4،8 ملغم/حيوان / يوم من وزن الجسم على التوالي ، ولم تظهر عند مقارنتها مع السيطرة الموجبة في أختبارt-test فرقاً جوهرياً ، في دراسة Chavarro وجماعته وجدوا أن هذه التأثيرات قد تعود الى تأثيرات هرمون Estrogenic effects اوبسبب وجود Phytoestrogen وIsoflavone في فول الصويا التي أدت الى تقليل أنتاجية النطف لحوالي 99 رجل مريض بالعقم السريري[8] .

3- جدول (3) يمثل مرحلة التأثير على سلف الخلايا النطفية Spermatogonia ولهذه المرحلة فأن معدل التشوهات لم تظهر أي تغير في أرتفاعها عن مستوى التشوهات الحاصلة ذاتياً Spontanous للفئران السيطرة السالبة ، وكذلك لم يظهر أختبارt-test أى أختلاف معنوي بينهما ، أن هذه النتائج لا

تتوافق مع دراسة Sasamura وجماعته[3] وفي دراسة كل Velasquez من وBhathena [4] والتي أشارت الى أن فول الصويا يعمل ككابح لبعض المواد المنظمة لعملية الأنقسام الخلوي.

أن هذه التشوهات في رؤوس النطف يمكن أن تستحث من خلال الطفرات في المراحل المبكرة لعملية تكوين الخلايا الأمية وسلف الخلايا النطفية للمراحل المبكرة من عملية الأنقسام الأختزالي (مراحل تكوين النطف) [20] ، لذا يقترح أن خلايا النطف تظهر في خلال الأسبوع بسبب أن عملية تكوين النطف في الفأر تنجز خلال فترة أكثر من (5) أسابيع [21] . أن الطفرة في الخلايا الجنسية خلال أو قبل فترة التكاثر تؤثر على الأنجاب والتي تقود الى الطفرات المسرطنة او في الخلايا الجسمية ،والتي تظهر تغير جيني لهذا يظهر أنحراف أو خطأ في الشفرة [22] ، وربما أن هذه المستخلصات لفول الصويا تؤثر على بروتين FABP$_9$ (Fatty acid-binding protein 9) الذي يلعب دوراً في تشكيل الرأس والقطعة الوسطية أثناء عملية تكوين النطف ، والتي تتوافق مع نتائج هذه الدراسة [23،24] وأستناداً الى دراسةGotoh [22] على فئران ضرب $B_{10}M$ ، علماً أن هناك تأثير لأليلين متباعدين متنحيينRecessive alleles مؤثرة على تشوهات رؤوس النطف.

النتائج من هذه الدراسة والتي تشيرالى عدم قابلية المستخلص الكحولي لفول الصويا من أزالة التأثير التطفري للمادة المسرطنة المايتوماسين سي .

جدول (1) تأثير مستخلص نبات على النطف في مرحلة الخلايا المنوية Spermatides بعد الأسبوع الأول من المعاملة.

المجموعة	الجرعة	عدد الحيوانات	عدد النطف المفحوصة	SE ± m	مستوى الأختلاف ما بين حيوانات السيطرة والمعاملة بأختبارt-test
السيطرة السالبة		5	2500	0.65±4.86	
MMC	2mg\kg.b.w.	5	2500	0.55±12.32	P<0.01
I	2/رأس/يوم	5	2500	0.56±10.44	N.S
II	4/رأس/يوم	5	2500	0.57 ±11.14	N.S
III	8/رأس/يوم	5	2500	0.63±11.54	N.S

المتوسط =M ، =SE القياسي الخطأ

جدول (2) تأثير مستخلص نبات على النطف في مرحلة الخلايا الآمية Spermatocytes بعد الأسبوع الثالث من المعاملة.

المجموعة	الجرعة	عدد الحيوانات	عدد النطف المفحوصة	SE ± m	مستوى الأختلاف ما بين حيوانات السيطرة والمعاملة بأختبارt-test
السيطرة		5	2500	0.65±4.86	
MMC	2mg\kg.b.w.	5	2500	0.55±12.55	P<0.01
I	2/رأس/يوم	5	2500	0.65±10.55	N.S
II	4/رأس/يوم	5	2500	0.57±11.52	N.S
III	8/رأس/يوم	5	2500	0.76±10.13	N.S

المتوسط =M ، =SE القياسي الخطأ

جدول (3) تأثير مستخلص نبات على النطف في مرحلة سلف الخلايا النطفية Spermatogonia بعد الأسبوع الخامس من المعاملة.

المجموعة	الجرعة	عدد الحيوانات	عدد النطف المفحوصة	SE ± m	مستوى الأختلاف ما بين حيوانات السيطرة والمعاملة بأختبار t-test
السيطرة		5	2500	0.65±4.86	
MMC	2mg\kg.b.w.	5	2500	0.55±12.32	P<0.01
I	2/رأس/يوم	5	2500	0.42±10.55	N.S
II	4/رأس/يوم	5	2500	0.56±11.13	N.S
III	8/رأس/يوم	5	2500	0.64±12.42	N.S

المتوسط =M ، =SE القياسي الخطأ

المصادر

[1]Blackman,S.;Obendorf,R.and Leopold,A.(1992)Maturation Proteins and Sugars in Desication Tolerance of Developing Soybean Seeds.Plant Physiology. 100(1):225-300.
[2]Gottstein,N.;Ewins,B.;Benjamin, A.;Eccleston ,C . ;Hubbard,G . Kavanagh,I.;Minihane,A.;Weinberg,P. and Rimbach,G.(2007) Effect of Genistein and Daidzein on Platelet Aggregation and Monocyte and Endothelial Function.British J.of Nutrition.89(5):607-616.
[3]Sasamura,H.;Takahashi,A.;Yuan,J.;Kitamura,H.;Masumori,N.;Miyao,N.;Itoh,N.and Tsukamoto,T.(2004) Antiproliferative and Antiangiogenic Activities of Human Renal Cell Carcinoma.Urology.64(2)389-393. in Genistein
[4]Velasquez,M. and Bhathena,S (2007) Role of Dietary Soy Protein in Obesity.Int.J.Med.Sci.4(2):72-82.
[5]Sacks,P.; Lichtenstein,A.; Van Horn,L.; Harris,W.; Kris –Etherton,P. and Winston,M.(2006) American Heart Assocition Nutrition Committee. Soy Protein,Iso flavones and Cardiovascular Health : An American Heart Association Science Advisory for Professionals from the Nutrition Committee. Circulation.113(7):1034-44 .
[6] Yan,L. and Spitznagel, E. (2009)Soy consumption and Prostate Cancer Risk in Men : Arevisit of a meta-analysis .The American Journal of Clinical Nutrition.89(4):1155-1163.
[7] Levis,S.;Strickman-Stein,N.;Ganjei-Azar,P.;Xu,P.;Doerge,D. and Krischer,J.(2011) Soy isoflavones in the Prevention of Menopausal Bone Loss and Menopausal Symptoms : ARandomized ,Double-blind Trial .Archives of Internal. Medicine.171(15):1363-1369
[8] Chavarro,J.;Toth,T.;Sadio, S.and Hauser,R.(2008) Soy Food and Isoflavone Intake in Relation to Semen Quality Parameters Among Men From an infertility Clinic. Hum.Reprod. 23(11):2584-2590
[9]Olugbenga,O. and Samuel,O.(2007) Testicular Paramters and Sperm Morphology of Chinchilla Rabbit Fed with Different Planes of Soymeal .In.J.Morphol.25(1):139-144
[10]Brookes,P.(1990) The Eary History of the Biology Alkylating Agents. Mutation .Research.233(1 2):3-14

[11]Russo,A.,;Stocco,A.;Renzi,L. (1992) Persistence of chromosomal lesions induced in actively proliferating bone marrow cells of the mouse. Mutation .Research . 269(1):119-127.

[12]Mona ,A. Abo-Zeid and Ayman,A.Farghaly (2009) The Anti-Mutagenic Activity of Piperine Against Mitomycine C Induced Chromosomal Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Mice.JGEB(Journal of Genetic Engineering and Biotechnology) .7(1):45-50.

[13]Sudheer, Yoshida , M.;Sasak,M. and Kauachi,T.(1980) Cytogenetic effects of quercetin on culture mammlian cells .Proc.Jap.Acad.Sci.56:443-447.

[14]Al-janabi,A.;Ahmed,S.;Amin,M.and Bedan,D. (2013) Induction of Sperm Head Abnormalities in Male Mice by Using Dill Extracts .Eng.and Technology J.\ Uni.of Technology.Vol.31(3):40-48. (In Arabic).

[15]Wyrobek,A . and Bruce,W . (1975)Chemical induction of sperm abnormalities in mice .Proc.Nat.Acad.Sci. 72:4425-4429 .

[16]Tates, A. and Natarajan,A . (1979) A correlative on the genetic damage induced by chemical mutagen in bone marrow and spermatogonia . Mutation .Research.37:267-278.

[17]Shalaby,M. and Hamowieh,A.(2010)Safety and Efficacy of Zingiber officinale Roots on Fertility of Male Diabetic Rats . Food Chem. Toxicol. 48(10):2920-2924.

[18]Suarez,S.(2008) Control of Hyperactivation in Sperm .Hum. Reprod. 15(9):985-991.

[19]Martin,R. and Rademaker,A.(1988) The Relationship Between Sperm Chromosomal Abnormalities and Sperm Morphology in Humans. Mutation .Research.207(3-4):159-164.

[20]Hugenholtz,A. and Bruce,W.(1983) Radiation induction of mutations affecting sperm morphology in mice. Mutation .Research.107:177-185.

[21]Bruce,W. and Heddle,J.(1979)The mutagenic activity of 61 agents as determined by the micronucleus, Salmonella and sperm abnormality assays. Canadian Journal of Genetic Cytology .21:319-334 .

[22]Gotoh,H.(2010) Inherited Sperm Head Abnormalities in the B10.M Mouse Strain.Reprod.Fert. and Devel.22(7): 1066-1073.

[23]Shu,X.;Zheng,Y.;Cai,H.;Gu,K.;Zheng,W. and Lu,W.(2009)Soy Food Intake and Breast Cancer Survival.J.of American Medical Association .302(22):2437-2443

[24]Selvare,V.;Asano,A.;Page,J.;Nelson,J.;Kothapalli,K.;Foster,J.;Brenna,J.;Weiss,R. andTravis,A. (2010) Mice Lacking FABP9\PERF15 Develop Sperm Head Abnormalities but are Fertile .Dev.Biol. 348(2):177-189.