

Original Article

Study of protective effects of *Avicenniamarina* hydroethanolic leaf extract (AME) on blood parameters in male rats induced with carbon tetrachloride (CCl₄)

Maryam Gholami*, Naser Mirazi, Zohre Solaymani, Sayyede Nahid Movasagh, Laila Yaghobii

Department of Biology, School of Basic Science, Bu-Ali Sina University, Iran

*Corresponding author; E-mail: fravarti11@gmail.com

Received: 10 August 2015 Accepted: 4 November 2015 First Published online: 9 December 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 February-March; 39(6):65-73

Abstract

Background: Carbon tetrachloride is one of the chemical toxins, disturbing hematopoietic texture and changing the blood parameters. In this study the protective effect of Mangrove's leaf extract on hematopoietic texture of rats induced by carbon tetrachloride is investigated.

Methods: 42 male rats were divided randomly into 6 groups (n=7): group induced by CCl₄ (carbon tetrachloride 1:1 with olive oil, 0.5ml single dose, i.p), sham (taking olive oil, 0.5ml/day, i.p single dose), treated groups: (1,2 and 3 by carbon tetrachloride 1:1 with olive oil, 0.5ml single dose and 200mg/Kg, 400mg/Kg and 800mg/kg AME /day for 96 hrs, i.p) and control (taking normal saline, 0.5ml/day, i.p). After the examination the blood samples were collected from heart directly and blood parameters such as RBC, WBC, PI, MCV, MCH, MCHC, Hb, Hct, Albumin, bilirubin and total protein separation of serum were analyzed.

Results: The necrotic hematopoietic texture, WBC, Platelets, serum Albumin and total protein of the treatment groups showed a significant increase rather than group induced by ccl₄ (P<0.001).

Conclusion: The *Avicennia marina* hydroethanolic extract has antioxidant and flavonoids compounds which probably have protective effects on hematopoietic texture from toxic agents such as CCl₄.

Keywords: *Avicennia Marina*, Hematopoiesis, Ccl4, Blood Parameters, Rat

How to cite this article: Gholami M, Mirazi N, Solaymani Z, Movasagh S.N, Yaghobii L. [Study of protective effects of *Avicenniamarina* hydroethanolic leaf extract (AME) on blood parameters in male rats induced with carbon tetrachloride (CCl₄)]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 February-March; 39(6):65-73. Persian.

مقاله پژوهشی

مطالعه اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina*. L) بر پارامترهای خونی در موش های صحرایی نر القاء شده با تراکلریدکربن

مریم غلامی*، ناصر میرازی، زهره سلیمانی، سیده ناهید موق، لیلا یعقوبی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، ایران
*ایمیل: fravarti11@gmail.comدریافت: ۱۳۹۴/۵/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۱۳ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۹/۱۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. بهمن و اسفند ۱۳۹۶؛ ۳۹(۶): ۶۵-۷۳

چکیده

زمینه: تراکلرید کربن یکی از سموم شیمیایی مختل کننده بافت خونساز و تغییر دهنده پارامترهای خونی است. در این بررسی اثر محافظتی عصاره برگ گیاه حرا بر روی بافت خونساز موش های القاء شده با تراکلریدکربن مطالعه می شود.

روش کار: ۲۲ سر موش صحرایی نر به ۶ گروه تقسیم شدند. گروه شاهد تزریق درون صفاقی تک دوز منفرد ۲ ml/Kg تراکلریدکربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون را تجربه کرد. شم و کنترل، به ترتیب دریافت کننده درون صفاقی روغن زیتون (به صورت تک دوز) و سالین نرمال (روزانه) به میزان ۲ ml/kg بودند. گروه های تیمار توسط ۲ ml/Kg تراکلرید کربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون القاء شده و بعد از دو ساعت به ترتیب با دوزهای ۲۰۰ mg/kg، ۴۰۰ mg/kg و ۸۰۰ mg/kg (۹۶ ساعت) عصاره حرا درمان شدند. خونگیری مستقیم از قلب، جداکردن سرم برای سنجش پارامترهای خونی از قبیل گلبول های قرمز و سفید، پلاکت ها و ... صورت پذیرفت. داده ها را با روش آماری ANOVA ارزیابی کرده و معیار اختلاف معنی دار بین آنها با $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: بافت خونساز نکروزه شده، گلبول های سفید، پلاکت ها، آلبومین سرم و توتال پروتئین گروه های تیمار نسبت به شاهد افزایش معنادار ($P < 0.001$) داشت.

نتیجه گیری: برگ حرا حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی و فلاونوئیدی است که احتمالاً اثرات حفاظتی بافت خونساز در برابر اثرات توکسیک تراکلریدکربن دارد.

کلید واژه ها: گیاه حرا، هماتوپوئیزیس، تراکلریدکربن، پارامترهای خونی، موش صحرایی

نحوه استناد به این مقاله: غلامی م، میرازی ن، سلیمانی ز، موق س ن، یعقوبی ل. مطالعه اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina*. L) بر پارامترهای خونی در موش های صحرایی نر القاء شده با تراکلریدکربن. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۶): ۶۵-۷۳

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

از ترکیبات شیمیایی نظیر تراکلرید کربن در صنایع به خصوص مواد شوینده‌ها و همچنین نظر به وجود ترکیبات زیستی فعال در گیاه حرا و از آنجائیکه که تاکنون اثرات محافظت کننده گی خونی این گیاه در حیوانات آزمایشگاهی القا شده با تراکلرید کربن مطالعاتی انجام نشده است، هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکی برگ گیاه حرا بر بافت خونساز در موش های صحرایی نر القاء شد توسط CCl_4 می باشد.

روش کار

انتخاب و گروه بندی حیوانات: در این بررسی تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۳۰ از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. رت های نر به مدت یک هفته در مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه در شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. به شش گروه کنترل، شش، شاهد، تیمار ۱، ۲ و ۳ بطور تصادفی تقسیم شدند (هر گروه ۷ سر). گروه های تیمار توسط تراکلرید کربن مقدار 2 ml/Kg تراکلرید کربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون القاء شدند و دو ساعت بعد به ترتیب با عصاره هیدروالکی گیاه حرا با دوز 200 mg/kg و 400 mg/Kg و 800 mg/kg (۱۴) روزانه و به مدت ۹۶ ساعت به روش تزریق داخل صفاقی درمان شدند. گروه شاهد مقدار 2 ml/Kg تراکلرید کربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون (۱۵) به صورت تک دوز (تزریق داخل صفاقی) دریافت نمودند. گروه کنترل و شش به ترتیب سالیین نرمال و روغن زیتون (تک دوز) به میزان 2 ml/kg و بطور داخل صفاقی دریافت کردند. بعد از پایان آزمایشات، حیوانات به وسیله اتر بیهوش گردیده و سپس خونگیری مستقیم از داخل قلب آنها انجام گردید. خون تهیه شده توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه و با مدت زمان ۱۰ دقیقه سانتریفیوز شد و سرم آنها توسط پیپت جدا گردید و سرم آن جهت اندازه گیری پارامترهایی از قبیل: RBC، WBC, Hb, PL, Hct, MCV, MCHC، پروتئین توتال، آلبومین سرم جدا شد. همچنین نمونه های بافت مغز استخوان جناغ جهت تهیه مقاطع بافت شناسی جدا و پس از فیکس شدن در فرمالین و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) تهیه گردید.

جهت مقایسه سطوح سرمی پارامترهای خونی در گروه های مورد آزمون از نرم افزار SPSS و آزمون ANOVA استفاده شد و معیار اختلاف معنی دار بین آنها با $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف وضعیت نرمال بودن داده‌ها بررسی شد و نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون تأیید گردید. در نهایت جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری

بطور طبیعی در انسان گلبولهای قرمز، گرانولوسیت ها، منوسیت‌ها و پلاکتها، پس از تولد، فقط در مغز استخوان تولید شده و لنفوسیتها علاوه بر مغز استخوان و تیموس، در اعضاء ثانویه لنفوی نیز ساخته می‌شوند. اکثر سلولهای مغز استخوان را پیشتازهای گرانولوسیت، گلبولهای قرمز یا پلاکتها که از نظر ریخت شناسی قابل تشخیص هستند تشکیل می‌دهند. در مغز استخوان رسیده بخشی از سلولها، فقط تحت عنوان لنفوسیت شناسائی می‌شوند و تعداد کمی از آنها را، منوسیت ها، ماکروفاژها، سلولهای آندوتلیال و پلاسماسلها تشکیل می‌دهد (۱). بافت خون به عنوان رابط بین سایر بافت‌های بدن از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. چرا که نه تنها خود این بافت می‌تواند در معرض انواع بیماری‌ها قرار گیرد، بلکه سایر بافت‌های آسیب دیده روی خود آن هم تأثیر گذار خواهند بود (۲). بافت خون ساز در معرض آسیب های شیمیایی واقع می‌شود که منجر به بروز ناهنجاری هایی در این بافت می‌شود یکی از این ترکیبات کربن ترا کلرید (CCl_4) است که در برخی مواد شیمیایی مثل پاک کننده‌ها کاربرد دارد (۳). تراکلریدکربن، مایع بی بو و غیر قابل اشتعال است (۴). همچنین یک محلول ایجاد کننده مسمومیت کبدی در پروتئین و لیپید است، که میزان فرآیند پرواکسیداتیو را افزایش می‌دهد. سمیت تراکلریدکربن بستگی به شکل گیری رادیکال CCl_3^0 در واکنش با اکسیژن و ایجاد سمیت بیشتر به دلیل شکل گیری و تبدیل شدن به رادیکال تری کلرومتیل پروکسیل دارد. مطالعات نشان می‌دهند که رادیکال تری کلرومتیل کربن قابلیت ایجاد انواعی از اکسیژن واکنش پذیر در سایر بافت های غیر کبدی شامل کلیه، قلب، شش، بیضه، مغز و خون دارد (۵). رادیکال های آزاد حاصل از شکست تراکلریدکربن در سیتوکروم P_{450} به ماکرومولکول‌های زیستی نظیر پروتئین‌ها و DNA متصل شده و به آنها آسیب وارد می‌کند، همچنین شروع فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به غشای سلولی را رهبری می‌کند (۶). گیاهان دارویی از قدیم الایام مورد توجه بشر بوده است، گیاه حرا، گیاهی است که پوست، برگ‌ها و میوه‌های آن به طور گسترده در طب عامیانه برای درمان بیماری‌ها کاربرد دارد (۷). مهم ترین ترکیبات دارویی کشف شده در حرا آلکالوئیدها، بنزوفورانس، فلاونوئیدها بنزوکوئینون، تانین، تری-ترین، آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها کاروتنوئیدها، استروئیدها، اسیدهای آلی، گلیکوزید و آنتوسیانین هاست (۸ و ۹)، که خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد مالاریایی، ضد توموری حرا را سبب می‌شوند (۱۰). حرا از خانواده شاه پسندیان، مجموعه متنوعی از درختان و درختچه‌ها در مناطق جزر و مدی دارد (۱۱ و ۱۲). این گونه جهان وطنی در مناطق ساحلی آفریقای شرقی، خلیج فارس، هند و ملاتری پراکندگی داشته و تحمل شرایط محیطی سخت را دارد (۱۳). با توجه به استفاده روزافزون

اثر گذاشته و افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد ایجاد نماید ($P < 0.001$). همچنین مقایسه بین گروه دریافت کننده CCl_4 + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (به تناسب دوز تزریقی) با گروه‌های کنترل و شم اثبات کرده است که عصاره منجر به تغییرات افزایشی گلبول سفید نسبت به گروه‌های مذکور شده است (نمودار ۱).

پس از ارزیابی تعداد پلاکت‌ها مشاهده شد، پلاکت در گروه دریافت کننده CCl_4 نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است، همچنین اختلاف معنی داری نسبت به تعداد پلاکت‌های گروه شم نشان داده شده است. عصاره تهیه شده حرا بر حسب دوز تزریق شده منجر به افزایش معنی دار ($P < 0.001$) تعداد پلاکت در گروه‌های تیمار شده است (نمودار ۲). میزان آلبومین خون پس از تزریق تراکلریدکربن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی دار به نمایش گذاشته است و در گروه‌های تیمار شده با عصاره به تناسب دوز دریافتی افزایش معنی دار ($P < 0.001$) پیدا کرده است (نمودار ۳). پروتئین کلی خون در گروه دریافت کننده CCl_4 نسبت به گروه کنترل و شم کاهش نمایش داد که پس از دریافت عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا بویژه در دوزهای بالاتر افزایش معنی دار ($P < 0.001$) نسبت به گروه‌های ذکر شده پیدا کرده است (نمودار ۳). طی شمارش تعداد منوسیت خون، دریافت CCl_4 منجر به کاهش منوسیت‌های خون نسبت به گروه شم شده است، که دریافت عصاره در هر سه دوز منجر به افزایش این سلول خونی شده است. لازم به ذکر است دریافت CCl_4 منجر به افزایش تعداد ائوزینوفیل نسبت به گروه کنترل و شم شده است و بعد از دریافت عصاره کاهش آن به محدوده طبیعی به نمایش گذاشته شده است. پس از دریافت تراکلریدکربن، تعداد نوتروفیل‌های خونی کاهش داشته اند و طی تاثیر عصاره برگ گیاه حرا تقریباً تا حدود طبیعی افزایش پیدا کرده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، تراکلریدکربن و تزریق عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا بر تعداد RBC اثر معناداری ندارد (جدول ۱). همچنین اثر تراکلریدکربن و عصاره بر پارامترهای MCV ، MCH ، $MCHC$ ، Hb و Hct و لنفوسیت‌های خون موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار معنی دار نمی باشد.

تحلیل واریانس یک طرفه بین آزمودنی و برای مقایسات دو به دو از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد.

برگ گیاه بعد از جمع آوری شدن جهت شناسایی علمی به وسیله متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان ارسال گردید. فرآیند عصاره گیری در این مطالعه بر اساس منابع قبلی انجام شد (۱۶) جهت آماده سازی عصاره‌ها، ابتدا برگ‌های گیاه حرا انتخاب، در شرایط سایه خشک و با استفاده از آسیاب برقی پودر گردید. برای اطمینان از هرگونه آلودگی، پودرها با استفاده از تکنیک تند الیزاسیون استریل شدند. به منظور تهیه عصاره اتانولی، مقداری از پودر (۱۸۰ گرم) در ۵۶۰ سی سی اتانول ۸۰ درصد حل و استخراج انجام شد. سپس عصاره صاف و توسط دستگاه روتاری (شرکت مهندسی تسلا - نمایندگی رسمی IKA-آلمان) تحت فشار پائین با سرعت ۶۰ دور در دقیقه و دمای ۵۰ درجه سانتیگراد تغلیظ شد. عصاره بدست آمده به مدت ۴۸ ساعت در زیر هود گذاشته شد تا کاملاً خشک گردد. سپس عصاره تغلیظ و خشک شده، تا زمان مصرف در فریزر و در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد.

ملاحظات اخلاقی:

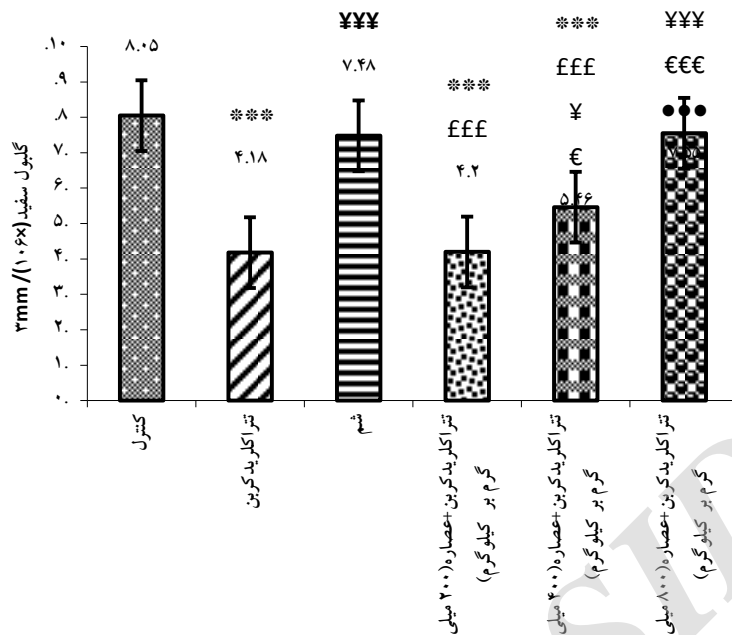
پروتکل انجام کار این تحقیق و انجام کلیه آزمون‌ها بر روی حیوانات مورد آزمایش بر اساس قوانین بین المللی و کمیته اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا با شماره ۴۸ - ۱۵۲ صورت پذیرفت.

یافته‌ها

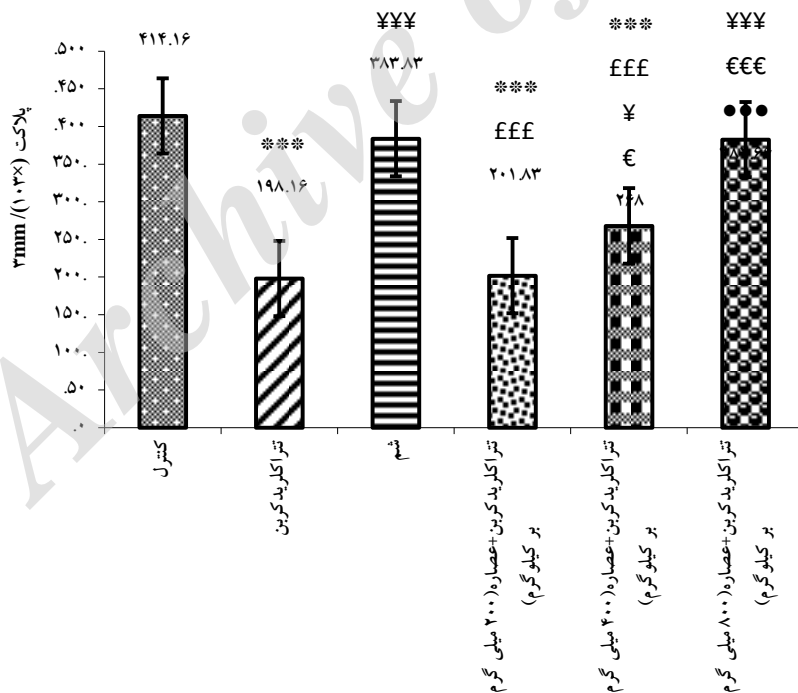
نتایج حاصل از مطالعات نشان داد که تراکلرید کربن دارای اثرات تخریبی بر بافت خون ساز و همچنین برخی از پارامترهای خونی در گروه شاهد (دریافت کننده CCl_4 به نسبت ۱:۱ با روغن زیتون) می باشد. در این بررسی دریافت تراکلرید کربن کاهش گلبول‌های سفید نسبت به گروه کنترل را در پی دارد، از طرفی مقایسه بین گروه شم (دریافت کننده روغن زیتون) با گروه شاهد بیانگر اختلاف معنی دار بین آن‌ها بوده و CCl_4 منجر به کاهش تعداد گلبول سفید نسبت به گروه شم شده است. مطالعات نشان داد عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا قادر است بر تعداد WBC

جدول ۱: داده‌های حاصل از شمارش گلبول‌های قرمز در گروه‌های کنترل، دریافت کننده CCl_4 (شاهد)، شم و گروه‌های دریافت کننده CCl_4 + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۴۰۰، ۲۰۰ و ۸۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار نتایج آزمایش به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه گردیده است. N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در مقایسات دو به دو است.

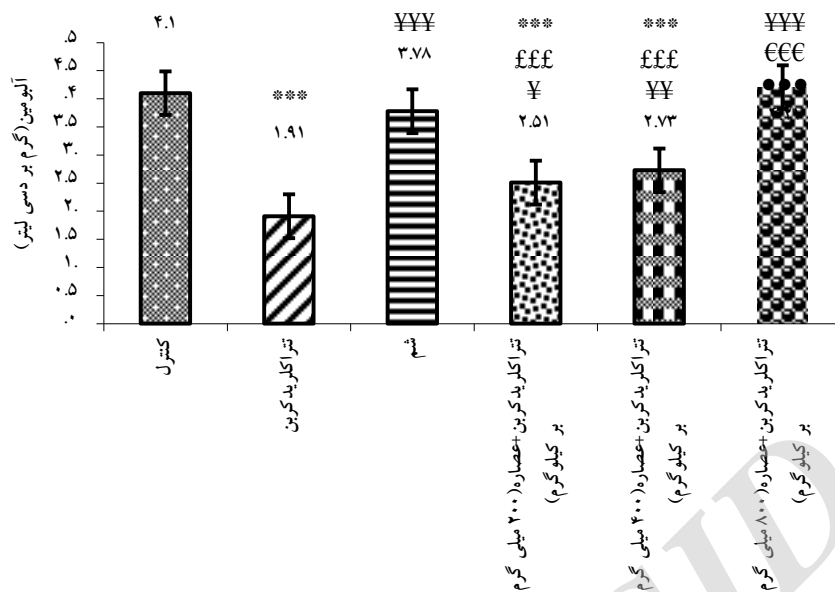
عصاره + ccl_4 (۸۰۰ mg/kg)	عصاره + ccl_4 (۴۰۰ mg/kg)	عصاره + ccl_4 (۲۰۰ mg/kg)	شم (۲ ml/kg)	شاهد (۲ ml/kg)	کنترل (۲ ml/kg)	گلبول قرمز $(\times 10^6) / mm^3$ (Mean \pm SEM)
۵/۲۵ \pm ۰/۰۹۲	۵/۲۱ \pm ۰/۱۴۵	۵/۱۳ \pm ۰/۱۸۲	۵/۰۱ \pm ۰/۱۹۲	۵/۳۳ \pm ۰/۱۵۶	۵/۲۶ \pm ۰/۱۳۰	
N.S	N.S	N.S	N.S	N.S		
N.S	N.S	N.S	N.S			
N.S	N.S	N.S				P
N.S	N.S					
N.S						



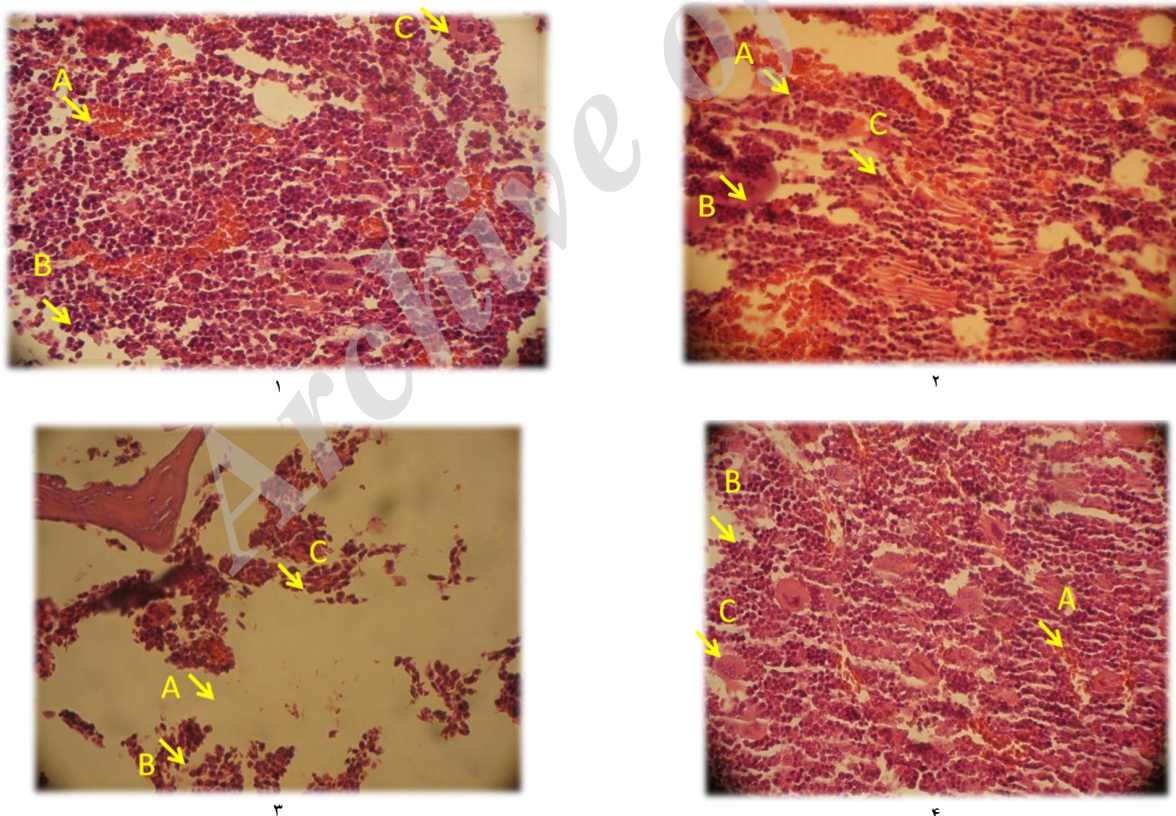
نمودار ۱: بررسی داده‌های حاصل از شمارش گلبول‌های سفید در گروه‌های کنترل، دریافت کننده CCl_4 ، شم و گروه‌های دریافت کننده CCl_4 + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه خرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده CCl_4 بیانگر معناداری نسبت به گروه شم € بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ mg/kg ، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ mg/kg (***: $P < 0.001$)، (€€€: $P < 0.001$)، (€: $P < 0.05$)، (€€€: $P < 0.001$)، (€€€: $P < 0.001$)، (¥: $P < 0.05$)، (¥¥¥: $P < 0.001$)



نمودار ۲: بررسی داده‌های حاصل از شمارش پلاکت‌ها در گروه‌های کنترل، دریافت کننده CCl_4 ، شم و گروه‌های دریافت کننده CCl_4 + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه خرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده CCl_4 بیانگر معناداری نسبت به گروه شم € بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ mg/kg ، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ mg/kg (***: $P < 0.001$)، (€€€: $P < 0.001$)، (€: $P < 0.05$)، (€€€: $P < 0.001$)، (€€€: $P < 0.001$)، (¥: $P < 0.05$)، (¥¥¥: $P < 0.001$)



نمودار ۳: بررسی داده‌های حاصل از میزان آلبومین در گروه‌های کنترل، دریافت کننده CCl_4 ، شام و گروه‌های دریافت کننده CCl_4 +عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده CCl_4 بیانگر معناداری نسبت به گروه شام € بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ mg/kg، • بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ mg/kg. (***) $P < 0.001$, (£££) $P < 0.001$, (YYY) $P < 0.001$, (¥) $P < 0.05$, (¥¥) $P < 0.01$, (¥¥¥) $P < 0.001$, (•••) $P < 0.001$, (€€€) $P < 0.001$.



شکل ۱: میکروگراف تهیه شده از جناغ موش‌های صحرایی در گروه‌های ۱: کنترل؛ ۲: شام؛ ۳: القاء شده با CCl_4 ؛ ۴: تیمار دو سلول میلوپلاکس (پیکان C) گلبول قرمز (پیکان A) و سلول‌های اجدادی میلوپیت‌ها (پیکان B) بزرگنمایی (x400) و رنگ آمیزی هماتوکسیلین & انوزین.

بحث

سیستم دفاعی بدن مربوط به ترکیبات پلی ساکاریدی گیاهان مانند اکناسن و اکتاکوزید و ترکیبات آلکیل آمیدی آن می باشد (۲۱). برگ گیاه حرا حاوی انواع کربوهیدراتهاست. گمان می رود برگ این گیاه ارزشمند منبعی غنی و ارزشمند برای تقویت سیستم ایمنی بدن باشد. نتایج حاصل بیان کننده کاهش معنی دار تعداد پلاکت در اثر تراکلریدکربن است. ترکیبات سولفوروی موجود در عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی را علیه رادیکال های آزاد فعال می کنند، این اثر محافظتی در مقابل رادیکال های آزاد بخاطر حضور ترکیبات زیستی فعال و آنتی اکسیدانی های قابل توجهی چون آلیل سیستین، آلیسین و سلنیوم می باشد (۲۲). عصاره برگ حرا به ویژه دوز ۸۰۰ mg/kg توانایی ترمیم پلاکت ها و بازگرداندن تعداد پلاکت ها تا حدود طبیعی را دارد. احتمالاً برگ گیاه حرا که حاوی ۳۴۹ ترکیب فعال زیستی است، ترکیبات سولفوروی و آنتی اکسیدانی (آلیل سیستین، آلیسین و سلنیوم) و یا ترکیباتی مشابه این قبیل ترکیبات دارد که طی ایستادگی کردن در مقابل فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی و حذف کردن رادیکال های آزاد از خون در گردش، روند محافظت کننده گی پلاکت های خونی را رهبری می کند. اثر تنش با کاهش قابل توجه تعداد پلاکت و گلبول های سفید نشان داده می شود، افزایش تعداد این سلول ها، ممکن است به دلیل فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضدپراکسیداسیون چربی باشد (۲۳). نتایج به دست آمده بیان کننده کاهش معنی دار آلبومین در اثر تراکلریدکربن بوده و عصاره حرا بر اساس دوز تزریق شده عمل ترمیمی خود را پیاده کرده است. آلبومین به محصولات دفعی سموم و داروهای مضر که ممکن است به بدن آسیب بزنند متصل و موجب دفع آن ها می شود. فلاونوئیدهای پلی فنلی، آنتی اکسیدان های قوی هستند که به آلبومین متصل شده در سرم خون حمل می گردند و با این پروتئین اثرات متقابل دارند و مانع از اتصال آلبومین با سموم و دفع آن از بدن می شود (۲۴). عصاره حرا غنی از ترکیبات پلی فنلی که بزرگترین گروه آن فلاونوئیدهاست، می باشد. احتمالاً این ترکیب ارزشمند گیاه حرا با متصل شدن به آلبومین، توانسته است اثرات منفی تخریبی تراکلریدکربن را مهار کند و مقدار این پروتئین را در سرم خون بالا ببرد. کاهش معنی دار مقدار پروتئین کل خون در اثر تزریق تراکلریدکربن و بازگشته شدن مقدار آن تا حد طبیعی در اثر تزریق عصاره کاملاً مشهود است. متابولیت های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام مشتق از گیاهان دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال های آزاد می باشند که در قسمت های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (۲۵). گمان می رود ترکیبات فنلی جدا شده از برگ حرا، طی مقابله با پراکسیداسیون لیپیدی و حذف کردن رادیکال های آزاد، روند افزایشی پروتئین های سرم خون را به عمل می آورد. با توجه به

در این بررسی که به منظور مطالعه اثرات عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا بر تغییرات برخی از پارامترهای خونی از قبیل تعداد گلبول های قرمز خون (RBC)، گلبول های سفید خون (WBC)، میزان هموگلوبین خون (Hb)، درصد هماتوکریت خون (Hct)، آلبومین (Albumin) و پروتئین کل خون (Total protein)، میانگین حجم سلولی (MCV)، میانگین هموگلوبین سلول (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) که متعاقب تزریق داخل صفاقی تراکلریدکربن در موش های صحرائی نژاد ویستار بالغ ایجاد می گردد، طراحی شده است. گروه ششم هیچ گونه تفاوت معنی داری را با گروه کنترل نشان نداده و بیان کننده آن است که روغن زیتون فاقد اثر بر روی پارامترهای خونی می باشد و هر گونه تغییر در پارامترهای خونی در گروه شاهد که دریافت کننده CCl_4 با روغن زیتون به نسبت ۱:۱ است تنها ناشی از تراکلریدکربن است. عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا به صورت وابسته به دوز بر فاکتورهای خونی چون گلبول سفید، پلاکت های خون، آلبومین و پروتئین کل خون و تعداد نوتروفیل ها و منوسیت های خونی مؤثر می باشد. در مطالعه حاضر در همراهی با گزارش ارائه شده توسط ابراهیمی و همکاران (۱۷) نشان داده شد، (تراکلریدکربن، توسط آنزیم های سیتوکروم p450 تقلیل پیدا کرده و منجر به ایجاد رادیکال های بسیار فعالی می شود که القاء پراکسیداسیون لیپیدی (برقراری اتصال با پروتئین ها یا لیپیدهای غشا یا گرفتن هیدروژن از اسیدهای چرب غیر اشباع غشا) در بافت کبدی و خونساز را رهبری کرده و تخریب غشا بافت های ذکر شده را در پی دارد در نتیجه کاهش معنی دار پارامترهای خونی توجیه پذیر است. تراکلریدکربن افزایش دهنده پراکسیداسیون لیپیدی در دیواره غشای گلبول قرمز است (۱۸ و ۱۹)، در مطالعه حاضر گلبول های قرمز تحت تأثیرکربن تراکلرید تخریبی را نشان ندادند، احتمال می رود که این امر به خاطر عمر طولانی گلبول های قرمز (۱۲۰ روز) و کوتاه بودن زمان آزمایش (۹۶ ساعت) باشد. برای سایر پارامترهای خونی مطالعه حاضر (Hb, MCV, MCH, MCHC) اثر معنی دار تخریبی تراکلریدکربن رخ نداده است. تغییرات این پارامترها با تغییرات گلبول های قرمز رابطه مستقیم دارد. از آنجایی که در این مطالعه گلبول های قرمز دستخوش تغییر قرار نگرفته است، پارامترهای ذکر شده تغییری را به نمایش نگذاشته اند (۲۰). با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، تأثیر CCl_4 و همچنین عصاره توانسته است بطور معنی داری تعداد گلبول های سفید خون را تحت تأثیر خود قرار می دهد. تراکلریدکربن با اعمال اثر تخریبی خود گلبول های سفید را تخریب کرده و به طور معنی داری کاهش داده است و عصاره تجویز شده بویژه در بالاترین دوز تزریقی گلبول های سفید را تا نزدیک حد طبیعی احیا کرده است. تقویت

بیان کننده این واقعیت است که هیچکدام از آن‌ها بطور معنی داری تعداد لنفوسیت های خون را نسبت به گروه کنترل تغییر نداده اند. شاید علت این امر بخاطر کوتاه بودن زمان آزمایش باشد. تاثیر مثبت بر روی تعداد لنفوسیت‌ها ناشی از اثر پلی ساکاریدهای (مثل آرابینوز و گالاکتوز) موجود در عصاره‌های گیاهی است (۲۷). در صورت استمرار یافتن تحقیق (حداقل دو هفته) احتمال می‌رود تاثیر مثبت افزایشی بر تعداد گلبول های قرمز، لنفوسیت‌ها و پارامترهای بدون تغییر ذکر شده توسط عصاره حرا که غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی است هدایت شود. عصاره برگ حرا بعد از مدت چند روز قادر است تا اثرات مخرب تزریقی تراکلریدکربن را جبران نماید و اثرات محافظت کنندگی خود را به نمایش بگذارد.

نتیجه گیری

بررسی حاضر نشان داد که عصاره تهیه شده از برگ گیاه حرا به صورت وابسته به دوز اثر محافظت کنندگی بر روی پارامترهای خونی موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار القاء شده تراکلریدکربن پیاده می‌کند. برای دسترسی به نتیجه جامع تر، پیشنهاد می‌شود، اثر گیاه حرا در دامنه وسیع تری از دوزهای تزریقی و خوراکی آزموده شده و اثرات خالص مواد فعال آن بررسی شود. از آنجایی که برگ گیاه حرا غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی بوده و تا کنون عوارضی از آن گزارش نشده، احتمالاً در صنعت داروسازی جای پیشرفت چشم گیری دارد.

قدر دانی

نویسندگان مراتب سپاس خود را از پرسنل محترم آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری و مسئولین محترم دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی سینا تقدیم می‌دارد.

References

1. Ma fersoon R. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. (Published No) 3. Tehran, Raphii Andishe Publishing Institute. 2007; PP: 56-57.
2. Harison Radolph T. Blood System, (Published No) 1, Raphii Andishe Publishing Institute. 2009; PP: 97-98.
3. Ahmadizade M, Amir gholami F. [Effect of saymetadin on ccl4 dystrophy in hephatocyte]. *Journal of JondyShapoor* 2010; 2(2): 1-8. (Persian).
4. Onuoha SC, Chinaka NC. Carbon tetrachloride Induced Renal Toxicity and The Effect of Aqueous Extract of Gongronemalatifolium in Wistar Albino Rats. *Drug Discovery* 2013; 4(11): 15-18.
5. Venkatanarayana G, Sudhakara G, Rajeswaramma K, Indira P. Combined Effect of Curcumin And Vitamin E Against ccl4 Induced Liver Injury In Rats. *American Journal of Life Sciences* 2013; 1(3): 117-124. doi: 10.11648/j.ajls.20130103.17
6. Moradi F, Eydi A, Mortazavy P, Haeryrohani A, Saphi Sh. [Antioxidant Effect of Mg in oxidative strees in male rat induce with ccl4]. *Journal of Yasouj* 2014; 19(8): 675-684. (Persian).
7. Zamani Ghandomani M, Frouzandemalati E. Evaluation of Protective Efficacy of *Avicenna marina* Leaves against Complete Freund's Adjuvant-Induced

- Arthritis in Wistar. *Journal of Pharmaceutical Research* 2014; **13**(3): 945-951.
8. Zamani Ghandomani M, Frouzandemalati E. [Antinociceptive Effect of Extract of Mangrove in male rat]. *Medical Journal of Tabriz of Medical Sciences and Health Services* 2014; **36**(1): 34-39. (Persian).
 9. Shafie M, Forghani A, Moshtaghian J. Anti-inflammatory Effect of Hydroalcoholic Extract Of Mangrove And Vitamin C On Arthritic Rats. *Journal of Pharmacology and Life Sciences* 2013; **2**(7): 32-37.
 10. Srinivasan B, Muthukumarasamy S, Jeyaraj M. Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Mangrove Plant Extract and Their Potential Mosquito Larvicidal Property. *Journal of Parasitic Diseases* 2016; **40**(3): 991-996. doi: 10.1007/s12639-014-0621-5.
 11. Prabhakaran J, Kavitha D. Ethnomedicinal Importance of Mangrove Species of Pitchavaram. *Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 2012; **3**(2): 611-614.
 12. Afzal M, Fida M, Habib A, Inamulla H, Alam J, Fias M, Noor ul A, et al. Efficacy of Avicenna marina Leaves Extracts against Some Atmospheric Fungi. *Journal of Biotechnology* 2011; **10**(52): 10790-1094. doi: 10.5897/ajb10.2214
 13. Hosani M, Anouti F. A Preliminary Exploration of Heavy Metal Contamination within Avicennia marina In the United Arab Emirates. *Journal of Environ Anal Toxicol* 2014; **4**(5): 232. doi:10.4172/2161-0525.1000232.
 14. Karami L, Majd A, Mehrabian S, Nabiuni M, Salehi M, Irian S. Antimutagenic and anticancer effects of Avicennia marina leaf extract on Salmonella typhimurium TA100 bacterium and human promyelocyticleukaemia HL-60 cells. *Science Asia* 2012; **38**: 349-355.
 15. Sanaa Ahmed A, MahaZaki R, Nabawia Ali I, Mohga Shafik A, Hayat Mohamed S, Magda Mohamed M. Protective role of Juniperusphoenicea and Cupressussempervirens against CCl4. *World J Gastrointestinal Pharmacol Therapeutics* 2010; **1**(6): 123-131. doi: 10.4292/wjgpt.v1.i6.123
 16. Devi A, Rajkumar J. In vitro Antibacterial Activity and Stability of Avicennia marina Against Urinary Tract Infection Pathogens at Different Parameters. *Journal of Biological sciences* 2013; **16**(19): 1034-1039. doi: 10.3923/pjbs.2013.1034.1039
 17. Ebrahimi S, Sadeghi H, Pourmahmoudi A, Askariyan SH, Askari S. [Protective Effect of Zizphus Vulgaris Extract, on Liver Toxicity in Laboratory Rats]. *Yasuj University of Medical Sciences* 2010; **16**(2): 58-63. (Persian). doi: 10.13005/bpj/826
 18. Toloeei M, Mirzaei A. Effects of Pistacia Atlantica Extract on Erythrocyte Membrane Rigidity, Oxidative Stress, and Hepatotoxicity Induced by CCl4 In Rats. *Global Journal of Health Science* 2015; **7**(7): 32-38.
 19. Oluwatosin A, Oluyemi A. Possible Protective Effect of Kolaviron on CCl4-Induced Erythrocyte Damage in Rats. *Bioscience Reports* 2000; **20**(4): 259-263. doi: 10.1023/a:1026488823157
 20. Namjoo A, Haidarian E, Rafiyian K M, Jafarian D M. [The Effect of long-time Oral Administration of Garlic Extract on Changing Tissue, Blood parameters and Enzyme Rats]. *Journal of Shahrecord Medical Sciences University* 2013; **15**(1): 103-113. (Persian).
 21. Modaresii M, Asadii S. [The Study of Effect of Echinacea Extract on Blood Parameters in Mice]. *Journal of Lorestan Medical Sciences University* 2012; **4**(2): 84-91. (Persian).
 22. Nasr A. Protective Effect Of Aged Garlic Extract Against The Oxidative Stress Induced by Cisplatin on Blood Cells Antioxidant Enzymes in Rats. *Toxicology Report* 2014; **1**: 682-691. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.09.003
 23. Ramadan K, Alshamrani S. Effect of Salvadorapersica Extract on the Hematological and Biochemical Alterations Against Immobilization-induced Rats; *Scientifica (cario)* 2015; **2015**: 5. doi: 10.1155/2015/253195
 24. Babaii A, Arshamii J, Haghparast A, Danesh M M. [The Effects of Alcoholic Extract of Crocus satires. L Petals on Blood Biochemical Parameters in Rats]. *Journal of Arak Medical Sciences University* 2013; **16**(16): 14-21. (Persian).
 25. Mirzaii A, Mohamaadi J, Mirzaii N, Mirzaii M. [Evaluation of Antioxidant Activity and Total Phenolic Extract of Soil, Grass, Weed, Coriander and Fenugreek]. *Fasa Medical Sciences University* 2011; **1**(3): 160-167. (persian).
 26. Ahmad W, Jantan I, Kumolosasi E, Bukhari S. Immunostimulatory Effect of the Standardized Extract of Tinosporacrispa on Innate Immune Responses in Witar Kyoto Rats. *Drug Des Devel Ther* 2015; **9**: 2961-2973. doi: 10.2147/DDDT.S85405
 27. Norii A M, Hojatii M, Sediighy M. [The Study of Effect of Ziziphusjujuba. L Fruit Extract on Peripheral Blood Cells in Mice]. *Association of Physiology and Pharmacology* 2013; **17**(2): 224-230. (Persian).