

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, Pl, 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*) بر پارامترهای خونی در موش های صحرایی نر القاء شده با تتراکلریدکربنمریم غلامی^{*}، ناصر میرازی، زهره سلیمانی، سیده ناهید موق، لیلا یعقوبیگروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، ایران
ایمیل: نویسنده رابط: 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: تتراکلرید 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 تتراکلریدکربن 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 تتراکلریدکربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون را تجربه کرد. شش و کتترل، 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 تتراکلرید 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 تتراکلریدکربن دارد.

کلید واژه ها: گیاه حرا، هماتوپوئیزس، تتراکلریدکربن، 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*) بر پارامترهای خونی در موش های صحرایی نر القاء شده با تتراکلریدکربن. 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

بطور طبیعی در انسان گلبولهای قرمز، گرانولوسیت ها، منوسیت ها 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 می شوند. اکثر سلولهای مغز استخوان را پیشتازهای گرانولوسیت، گلبولهای قرمز یا پلاکتها که از نظر ریخت شناسی قابل تشخیص هستند تشکیل می دهند. در مغز استخوان رسیده بخشی از سلولها، فقط تحت عنوان لنفوسیت شناسائی می شوند و تعداد کمی از آنها را، منوسیت ها، ماکروفاژها، سلولهای آندوتلیال و پلاسماسلها تشکیل می دهد (۱). بافت خون به عنوان رابط بین سایر بافت های بدن از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. چرا که نه تنها خود این بافت می تواند در معرض انواع بیماری ها قرار گیرد، بلکه سایر بافت های آسیب دیده روی خود آن هم تأثیر گذار خواهند بود (۲). بافت خون ساز در معرض آسیب های شیمیایی واقع می شود که منجر به بروز ناهنجاری هایی در این بافت می شود یکی از این ترکیبات کربن تترا کلرید (CCl_4) است که در برخی مواد شیمیایی مثل پاک کننده ها کاربرد دارد (۳). تتراکلریدکربن، 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 می دهد. سمیت تتراکلریدکربن 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 می دهند 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 تتراکلریدکربن در سیتوکروم P_{450} به ماکرومولکول های زیستی نظیر پروتئین ها و DNA متصل شده و به آنها آسیب وارد می کند، همچنین شروع فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به غشای سلولی را رهبری می کند (۶). گیاهان دارویی از قدیم الایام مورد توجه بشر بوده است، گیاه حرا، گیاهی است که پوست، برگ ها و میوه های آن به طور گسترده در طب عامیانه برای درمان بیماری ها کاربرد دارد (۷). مهم ترین ترکیبات دارویی کشف شده در حرا آلکالوئیدها، بنزوفورانس، فلاونوئیدها بنزو کوئینون، تانین، تری- ترپن، آمینواسیدها، کربوهیدرات ها 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 می شوند (۱۰). حرا از خانواده شاه پسندیان، مجموعه متنوعی از درختان و درختچه ها 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

از ترکیبات شیمیایی نظیر تتراکلرید کربن در صنایع به خصوص مواد شوینده ها 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 تتراکلرید کربن مطالعاتی انجام نشده است، هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکی برگ گیاه حرا بر بافت خون ساز 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 تتراکلرید کربن مقدار 2 ml/Kg تتراکلرید 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 تتراکلرید کربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون (۱۵) به صورت تک دوز (تزریق داخل صفاقی) دریافت نمودند. گروه کنترل و شش به ترتیب سالی 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 سانتریفیوژ 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 داده ها بررسی شد و نرمال بودن داده ها توسط آزمون تائید گردید. در نهایت جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آماری

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 تزریقی 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 Hct ، Hb ، MCHC ، MCH ، MCV 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. فرایند 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:

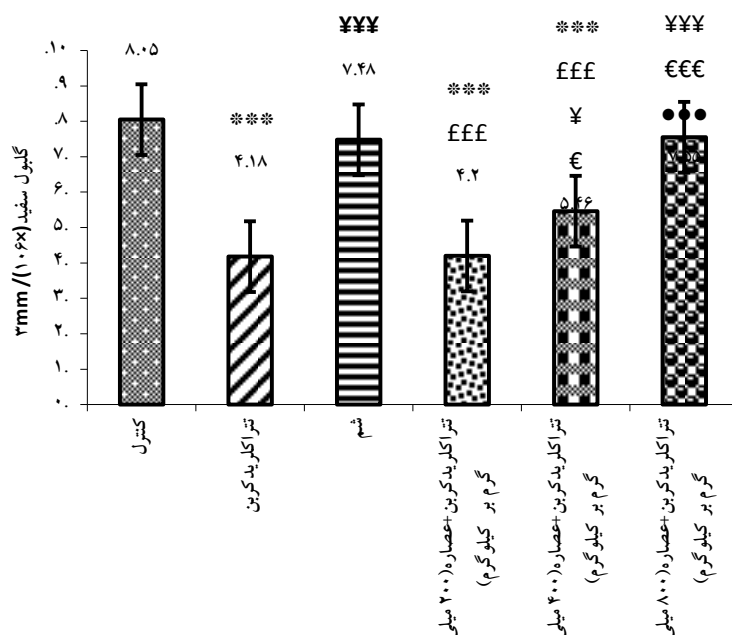
پروتکل انجام کار این تحقیق و انجام کلیه آزمون‌ها بر روی حیوانات مورد آزمایش بر اساس قوانین بین المللی و کمیته اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا با شماره ۴۸ - ۱۵۲ صورت پذیرفت.

یافته‌ها

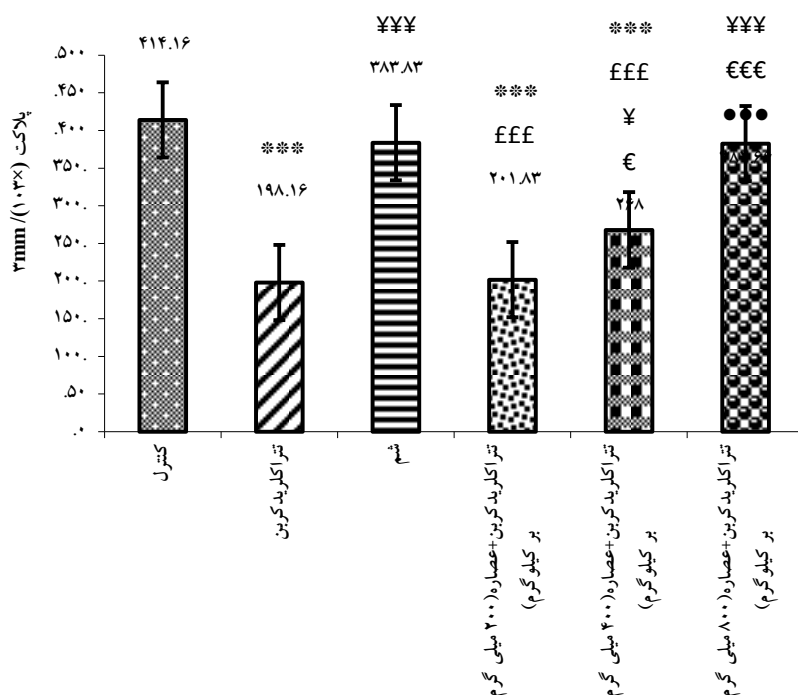
نتایج حاصل از مطالعات نشان داد که تراکلریدکربن دارای اثرات تخریبی بر بافت خون ساز و همچنین برخی از پارامترهای خونی در گروه شاهد (دریافت کننده CCl_4 به نسبت ۱:۱ با روغن زیتون) می باشد. در این بررسی دریافت تراکلریدکربن کاهش گلبول‌های سفید نسبت به گروه کنترل را در پی دارد، از طرفی مقایسه بین گروه شم (دریافت 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 هیدرواتانولی 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 $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارائه گردیده است. N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در مقایسات دو به دو است.

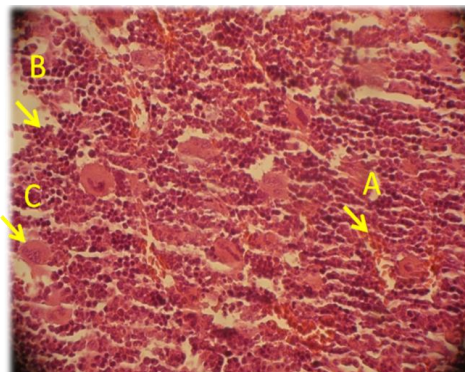
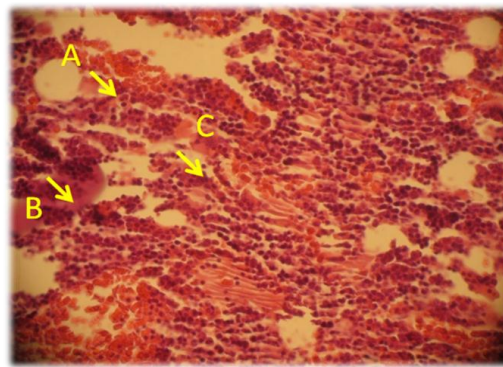
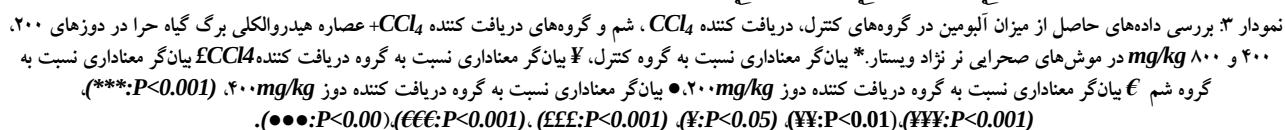
گلبول قرمز ($\times 10^9/\text{mm}^3$)	کنترل ($\mu\text{ml/kg}$)	شاهد ($\mu\text{ml/kg}$)	شم ($\mu\text{ml/kg}$)	عصاره CCl_4 + (200mg/kg)	عصاره CCl_4 + (400mg/kg)	عصاره CCl_4 + (800mg/kg)
(Mean $\pm$ SEM)	۵/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳۰	۵/۳۳ $\pm$ ۰/۱۵۶	۵/۰۱ $\pm$ ۰/۱۹۲	۵/۱۳ $\pm$ ۰/۱۸۲	۵/۲۱ $\pm$ ۰/۲۴۵	۵/۲۵ $\pm$ ۰/۰۹۲
		N.S	N.S	N.S	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						



نمودار ۱: بررسی داده‌های حاصل از شمارش گلبول‌های سفید 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 ، (***: $P < 0.001$)، (††††: $P < 0.001$)، (†††: $P < 0.001$)، (††: $P < 0.05$)، (†: $P < 0.05$)، (•••: $P < 0.001$)، (••••: $P < 0.001$)، (•••••: $P < 0.001$)، (••••••: $P < 0.001$)، (•••••••: $P < 0.001$)، (••••••••: $P < 0.001$)، (•••••••••: $P < 0.001$)، (••••••••••: $P < 0.001$)، (•••••••••••: $P < 0.001$)، (••••••~



نمودار ۲: بررسی داده‌های حاصل از شمارش پلاکت‌ها 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 ، (***: $P < 0.001$)، (††††: $P < 0.001$)، (†††: $P < 0.001$)، (††: $P < 0.05$)، (†: $P < 0.05$)، (•••: $P < 0.001$)، (••••: $P < 0.001$)، (•••••: $P < 0.001$)، (••~



شکل ۱: میکروگراف تهیه شده از جناب موش های صحرایی در گروه های ۱: کنترل؛ ۲: شمش؛ ۳: القاء شده با CCl_4 ؛ ۴: تیمار دو سلول میلیولاکس (پیکان C) گلبول قرمز (پیکان A) و سلول های اجدادی ملوسیت ها (پیکان B) بزرگمایی (x۴۰۰) و رنگ آمیزی هماتو کسپلین & اتوزین.

بحث

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 تتراکلریدکربن در موش های صحرایی 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 تتراکلریدکربن 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، (تتراکلریدکربن، 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 خون ساز را رهبری کرده و تخریب غشا بافت های ذکر شده را در پی دارد در نتیجه کاهش معنی دار پارامترهای خونی توجیه پذیر است. تتراکلریدکربن افزایش دهنده پراکسیداسیون لیپیدی در دیواره غشای گلبول قرمز است (۱۸ و ۱۹)، در مطالعه حاضر گلبول های قرمز تحت تأثیرکربن تتراکلرید 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 تتراکلریدکربن 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. تتراکلریدکربن 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

سیستم دفاعی بدن مربوط به ترکیبات پلی ساکاریدی گیاهان مانند اکناسن و اکناکوزید 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 تتراکلریدکربن است. ترکیبات سولفوری 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 سلیوم می باشد (۲۲). عصاره برگ حرا به ویژه دوز 800 mg/kg توانایی ترمیم پلاکت ها و بازگرداندن تعداد پلاکت ها تا حدود طبیعی را دارد. احتمالاً برگ گیاه حرا که حاوی 349 ترکیب فعال زیستی است، ترکیبات سولفوری و آنتی اکسیدانی (آلیل سیستین، آلیسین و سلیوم) 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 گلی 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 تتراکلریدکربن 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 تتراکلریدکربن را مهار کند و مقدار این پروتئین را در سرم خون بالا ببرد. کاهش معنی دار مقدار پروتئین کل خون در اثر تزریق تتراکلریدکربن 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

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 می کند. برای دسترسی به نتیجه جامع تر، پیشنهاد می شود، 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.

قدردانی

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

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

نتایج بدست آمده در این تحقیق، تأثیر CCl_4 و همچنین عصاره توانسته است بطور معنی داری تعداد گلبول‌های سفید خون را تحت تأثیر خود قرار دهد. تراکلریدکربن با اعمال اثر تخریبی خود نوتروفیل‌های خونی را تخریب کرده و به طور معنی داری کاهش داده است و عصاره تجویز شده بویژه در بالاترین دوز تزریقی نوتروفیل‌ها را تا نزدیک حد طبیعی احیا کرده است. اضافه کردن پلی ساکارید به محیط کشت سلول‌های ایمنی افزایش معنی دار تعداد این سلول‌ها را در پی دارد و افزایش فاگوسیتوز (بیگانه خواری) توسط این سلول‌ها را منجر می‌شود (۲۱). در مطالعه ای، مشاهده شد که سطح گلیکوپروتئینی سلول میزان مهاجرت سلول‌های نوتروفیلی را به محل آسیب دیده، و بدنبال آن میزان بیگانه خواری را در محل تخریب شده تعیین می‌کند (۲۶). احتمالاً ترکیبات پلی ساکاریدی و گلیکوپروتئینی موجود در برگ حرا توسط حلال الکلی جدا شده و توانسته است اثر حفاظتی خود را بر این سلول ایمنی اعمال کند. نتایج حاصل بیان کننده افزایش معنی دار تعداد ائوزینوفیل خونی در اثر تراکلریدکربن و اثبات کننده اثر تخریبی تراکلریدکربن است. عصاره برگ حرا به ویژه دوز 800 mg/kg توانایی کاهش دادن و بازگرداندن تعداد ائوزینوفیل‌ها تا حدود طبیعی که حدود $4-0\%$ درصد است را دارد. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، CCl_4 و همچنین عصاره توانسته است بطور معنی داری تعداد مونوسیت‌های خون را تحت تأثیر خود قرار دهد. تراکلریدکربن با اعمال اثر تخریبی خود مونوسیت‌های خون را تخریب کرده و به طور معنی داری کاهش داده است و عصاره تجویز شده بویژه در بالاترین دوز تزریقی مونوسیت‌های خون را تا نزدیک حد طبیعی احیا کرده است. از آنجا که مونوسیت‌ها در زمان وارد آمدن آسیب از خون خارج شده خود را به بافت تخریب شده رسانده و شروع به بیگانه خواری می‌کند، گمان می‌رود مشابه نوتروفیل‌ها، افزایش این سلول‌های ایمنی تحت تأثیر گلیکوپروتئین‌ها و پلی ساکاریدهای موجود در عصاره باشد (۲۱ و ۲۶). نتایج حاصل از بررسی انجام شده بر روی اثرات CCl_4 و عصاره برگ گیاه حرا بر تعداد لنفوسیت خون،

- 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 promyelocytic leukaemia 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 Juniperus phoenicea and Cupressus sempervirens 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 Ziziphus 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. Tolooei 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 Shahrood 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, Haghparsat A, Danesh M M. [The Effects of Alcoholic Extract of Crocus sativus. L Petals on Blood Biochemical Parameters in Rats]. *Journal of Arak Medical Sciences University* 2013; **16**(16): 14-21. (Persian).
 25. Mirzaei A, Mohamaadi J, Mirzaei N, Mirzaei 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 Wistar 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 Ziziphusjuzuba. L Fruit Extract on Peripheral Blood Cells in Mice]. *Association of Physiology and Pharmacology* 2013; **17**(2): 224-230. (Persian).