

## **Study of Protective Effect of *Avicennia marina* Leaf Hydroalcoholic Extract on Bone Marrow tissue in Male Rate induced with CCl<sub>4</sub>**

Naser Mirazii<sup>1</sup>, Maryam Gholami<sup>2\*</sup>

1- Associate, Professor in Physiology, Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.

2- Msc in Animal Physiology, Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.

Received: 4 Apr 2016, Accepted: 10 Aug 2016

---

### **Abstract**

**Background:** Carbon tetrachloride is one of the chemical toxins, disturbing bone marrow texture and changing the serum blood proteins. In this study, the protective effect of *Avicennia marina* leaf extract on bone marrow texture of rats induced by carbontetrachloride is investigated.

**Materials and Methods:** 42 male rats were divided randomly in to 6 groups: group induced by CCl<sub>4</sub> (carbon tetrachloride 1:1 with olive oil, 2 ml/kg single dose, i,p), sham(taking olive oil, 2ml/kg i,p single dose) and control (taking normal saline, 2ml/kg, i,p single dose ). Treated groups (1,2 and3): induced by carbon tetrachloride 1:1 with olive oil, 2ml/kg single dose and then after two hours treated by 200mg/Kg, 400mg/Kg and 800mg/kg AME /day for 96 hrs, i,p) After the examination the blood samples were collected from heart directly and WBC and blood proteins such as Albumin, total protein separation of serum and Sections sternum bone were analyzed. Data were analyzed by ANOVA and statistical significance differences were accepted at(p<0.05).

**Results:** The necrotic bone marrow texture, WBC, serum Albumin and total protein of the treatment groups showed a significant increase rather than group induced by CCl<sub>4</sub>(p<0.001).

**Conclusion:** The *Avicennia marina* leaf has active antioxidant and flavonoids compounds which probably have protective effects on bone marrow texture from toxic agents such as CCl<sub>4</sub>.

**Keywords:** *Avicennia marina*, Blood proteins, Bone marrow, CCl<sub>4</sub>.

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

Email:Fravarti11@gmail.com

## بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina.L*) بر بافت مغز استخوان موش‌های صحرایی نر سالم و القاء شده با $CCl_4$

ناصر میرازی<sup>۱</sup>، مریم غلامی<sup>۲\*</sup>

۱- دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۲۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** تتراکلرید کربن یکی از سموم شیمیایی مختل‌کننده بافت مغز استخوان و تغییر دهنده پروتئین‌های سرم خونی است. در این بررسی اثر محافظتی عصاره برگ گیاه حرا بر روی بافت خون‌ساز موش‌های القاء شده با تتراکلریدکربن مطالعه شده است.

**مواد و روش‌ها:** ۴۲ سر موش صحرایی نر به ۶ گروه تقسیم شدند. گروه شاهد تزریق درون صفاقی تک دوز ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم تتراکلریدکربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون را تجربه کرد. شم و کنترل، به ترتیب دریافت‌کننده درون صفاقی روغن زیتون و سالی‌نرمال (تک دوز) به میزان ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم بودند. گروه‌های تیمار توسط ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم تتراکلرید کربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون القاء شده و بعد از دو ساعت به ترتیب با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم (۹۶ ساعت) عصاره حرا درمان شدند. خون‌گیری مستقیم از قلب، جداکردن سرم برای سنجش گلبول‌های سفید، پروتئین‌های آلبومین، پروتئین کل سرم خونی و برش بافتی مغز استخوان جناغ رت‌های مدل صورت پذیرفت. داده‌ها را با روش آماری آنووا ارزیابی شدند و سطح معنی‌داری برابر با  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** بافت مغز استخوان نکروز شده، گلبول‌های سفید، آلبومین سرم و پروتئین کلی گروه‌های تیمار نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار ( $p < 0.001$ ) را نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** برگ گیاه حرا حاوی ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی است که احتمالاً اثرات حفاظتی بافت مغز استخوان از اثرات توکسیکی تتراکلریدکربن را هدایت می‌کند.

**واژگان کلیدی:** گیاه حرا، مغز استخوان، تتراکلریدکربن، پروتئین‌های خونی

\*نویسنده مسئول: ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

Email: Fravarti11@gmail.com

## مقدمه

در پستانداران پس از تولد، مغز استخوان اولین مکانی است که شروع به خون‌سازی می‌کند، سلول‌های خونی بالغ از بخش خارج عروقی، لایه ادوتیشیا و اندوتلیوم عروق خونی عبور کرده و به داخل خون رها می‌شوند. مغز استخوان تنها ارگانی است که در آن دو نوع سلول بنیادی مجزا به همراه بافت هایشان در یک جا جمع شده‌اند، این دو نوع سلول بنیادی عبارتند از سلول‌های بنیادی مزانشیمی استرومایی و سلول‌های بنیادی خون‌ساز (۱). سلول بنیادی خواستگاه و منشأ انواع سلول‌ها در بدن بوده و دارای دو ویژگی مهم یعنی پرتوانی و خودنوسازی می‌باشد؛ یعنی هم قدرت تبدیل به انواع سلول‌ها را دارد و هم می‌تواند به سلولی تمایز نیافته مشابه خودش تبدیل شود تا منبع اصلی سلولی بنیادی هم باقی بماند (۲). اغلب بیماری‌های خونی ناشی از نقص در خون‌سازی، هموستاز و یا سیستم ریتیکولوآندوتلیال (خون‌سازی خارج از مغز استخوان) که می‌تواند به صورت کمی (افزایش یا کاهش تعداد سلول‌ها)، کیفی (اختلال در عمل سلول‌های تولید شده) و یا هر دو باشد (۳). سلول‌های بنیادی خون‌ساز همواره تحت تاثیر عوامل آسیب‌رسان چون اشعه و داروهایی که در شیمی‌درمانی کاربرد دارند مثل دانوروبیسین و سیکلوفسفامید هستند (۴). هم‌چنین این اختلالات در اثر استفاده از مواد شیمیایی متعددی القاء می‌شوند که یکی از این القاء‌کننده‌ها تتراکلرید کربن است (۵) که در مواد شوینده و پاک‌کننده‌ها کاربرد گسترده‌ای دارد (۶). تتراکلرید کربن، مایع بی‌بو و غیر قابل اشتعال است (۷). هم‌چنین یک محلول ایجادکننده مسمومیت کبدی در پروتئین و لیپید است، که میزان فرآیند پرواکسیداتیو را افزایش می‌دهد. سمیت تتراکلرید کربن بستگی به شکل‌گیری رادیکال  $CCl_3^0$  در واکنش با اکسیژن و ایجاد سمیت بیشتر به دلیل شکل‌گیری و تبدیل شدن به رادیکال تری کلرومتیل پروکسیل دارد. مطالعات نشان می‌دهند که رادیکال تری کلرومتیل کربن قابلیت ایجاد انواعی از اکسیژن واکنش‌پذیر در سایر بافت‌های غیر کبدی شامل کلیه،

قلب، شش، بیضه، مغز و خون دارد (۸). رادیکال‌های آزاد حاصل از شکست تتراکلرید کربن در سیتوکروم P450، به ماکرومولکول‌های زیستی نظیر پروتئین‌ها و DNA متصل شده و به آنها آسیب وارد می‌کند، هم‌چنین شروع فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به غشا سلولی را رهبری می‌کند (۹). در شرایط عادی، در بدن پراکسیداسیون لیپیدی محدودی دیده می‌شود، اما افزایش این پراکسیداسیون توسط رادیکال‌های آزاد خسارات سلولی را در پی دارد و در سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش حاصل می‌آید. ایجاد استرس اکسیداتیو (پیروزی رادیکال‌های آزاد بر دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن) کار اصلی تتراکلرید کربن بر روی تمام ارگان‌های هوایی می‌باشد (۱۰) مواجه مزمن با  $CCl_4$  سبب تولید رادیکال آزاد در بسیاری از بافت‌ها مانند کبد (اولین مقصد تاثیر تتراکلرید کربن) کلیه، قلب، شش، بیضه، مغز و خون می‌شود (۱۱، ۱۲). تتراکلرید کربن در ارگان‌های ذکر شده نگه داشته شده و ذخیره می‌شود (۱۲). تتراکلرید کربن، بعد از تزریق شدن و گردش یافتن در خون، تغییرات غشا ایتروسیست و سایر سلول‌های خونی را سبب شده (پراکسیداسیون لیپیدهای غشا) و از دست رفتن تمامیت عرضی غشا حتی جلوتر از سیروز کبدی حادث می‌شود، در نهایت شکستگی غشا سلول‌ها و لیز شدن آنها را در پی دارد (۱۳). پروتئین‌های پلاسما (آلبومین فراوان‌ترین پروتئین سرم خون) در کبد، سلول‌های پلاسمایی و گره‌های لنفوی، طحال و مغز استخوان ساخته می‌شوند. در طی بیماری‌های مختلف مقدار پروتئین کل کاهش یافته و غلظت توتال پروتئین سرم خون از حد نرمال بیش‌تر می‌شود. از اندازه‌گیری توتال پروتئین در تشخیص بیماری‌های مختلف کبدی کلیوی و مغز استخوان استفاده می‌گردد. از شمارش گلبول‌های سفید هم به تشخیص بیماری‌های مغز استخوان می‌رسند (۱۴). داروهای با منشأ گیاهی از جمله داروهای هستند که کم‌ترین عوارض جانبی را دارا هستند. گیاهان دارویی از قدیم‌الایام در طب سنتی، جهت درمان و یا کنترل اغلب بیماری‌ها مورد استفاده بشر بوده است. گیاهان

مانگرو (اصطلاح بین المللی گیاه حرا) مجموعه‌ای از گیاهان شور پسند هستند (تاج بخش و همکاران ۱۳۸۴). گیاه حرا در سخت‌ترین شرایط آب و هوایی توانایی رشد دارد (۱۵). حرا تحمل بالایی در مقابل حمله آفات و بیماری‌ها به نمایش می‌گذارد (۱۶). داشتن حدود ۳۴۹ متابولیت و ترکیبات گیاه حرا را به یک منبع غنی تبدیل کرده است (۱۵). برخی ترکیبات بیولوژیک فعال از جمله فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، پلی فنول‌ها، پروتئین‌ها، آمینو اسیدها، الکل‌ها، اسیدهای چرب، هیدرو کربن‌ها، نمک‌های معدنی، مواد معدنی، فیتو الکسین‌ها، اسیدهای کربوکسیلیک، لیپیدها، استروئیدها، ویتامین‌ها، گلیکوزیدها، نفتو کینون‌ها و ایریدوئیدها است که در برگ گیاه حرا شناسایی شده است (۱۷). این گیاهان غنی از متابولیت‌های با ارزش دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچ و آنتی اکسیدانی است (۱۸). گیاه حرا دارای خواص متعددی می‌باشد. از آنجائی که تا کنون از اثرات این گیاه در حفاظت از بافت مغز استخوان و محافظت آن در پروتئین سازی گزارشی منتشر نشده است این پژوهش جهت بررسی اثرات محافظتی بر بافت مغز استخوان در برابر آسیب‌های بافتی تراکلرید کربن به انجام رسیده است.

## مواد و روش ها

**انتخاب و گروه بندی حیوانات:** در این بررسی تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۳۰-۲۵۰ از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. رت‌های نر به مدت یک هفته در مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه در شرایط دمایی  $25 \pm 2$  درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. به شش گروه کنترل، شش، شامه، تیمار ۱، ۲ و ۳ به طور تصادفی تقسیم شدند (هر گروه ۷ سر). گروه‌های تیمار توسط تراکلرید کربن مقدار  $ml/Kg$  ۲ تراکلرید کربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون القاء شدند و دو

ساعت بعد به ترتیب با عصاره هیدروالکلی گیاه حرا با دوز  $200 mg/kg$  و  $400 mg/Kg$  و  $800 mg/kg$  (۱۹) 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 (۲۰) 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 به طور داخل صفاقی دریافت 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 پیت جدا گردید و سرم آن جهت اندازه‌گیری گلبول‌های سفید، آلبومین و پروتئین توتال سرم جدا شد. هم‌چنین نمونه‌های بافت مغز استخوان جناغ جهت تهیه مقاطع بافت شناسی جدا و پس از فیکس شدن در فرمالین و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین - اتوزین (H&E) تهیه گردید.

## روش آماری: جهت مقایسه سطوح سرمی

پروتئین‌های خونی در گروه‌های مورد آزمون از نرم افزار SPSS و آزمون ANOVA استفاده شد و معیار اختلاف معنی‌دار 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 این آزمون تأیید گردید. در نهایت جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه بین آزمودنی و برای مقایسات دو به دو از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد.

## عصاره گیری گیاه حرا

برگ گیاه بعد از جمع‌آوری شدن جهت شناسایی علمی به وسیله متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان ارسال گردید. فرآیند عصاره‌گیری در این مطالعه بر اساس منابع قبلی انجام شد (۲۱) 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 تندالیزاسیون 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-نماینده رسمی IKA-آلمان) تحت فشار پائین با سرعت ۶۰ دور در دقیقه و دمای ۵۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد. عصاره به دست 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 بین‌المللی 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 خون‌ساز و هم‌چنین برخی از پارامترهای خونی به خصوص گلبول‌های سفید که مورد نظر ما می‌باشند، در گروه شاهد (دریافت‌کننده  $CCl_4$  به نسبت ۱:۱ با روغن زیتون) می‌باشد. در این بررسی دریافت تراکلرید کربن کاهش گلبول‌های سفید نسبت به گروه کنترل را در پی دارد، از طرفی مقایسه بین گروه شم (دریافت‌کننده روغن زیتون) با گروه شاهد بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها بوده و

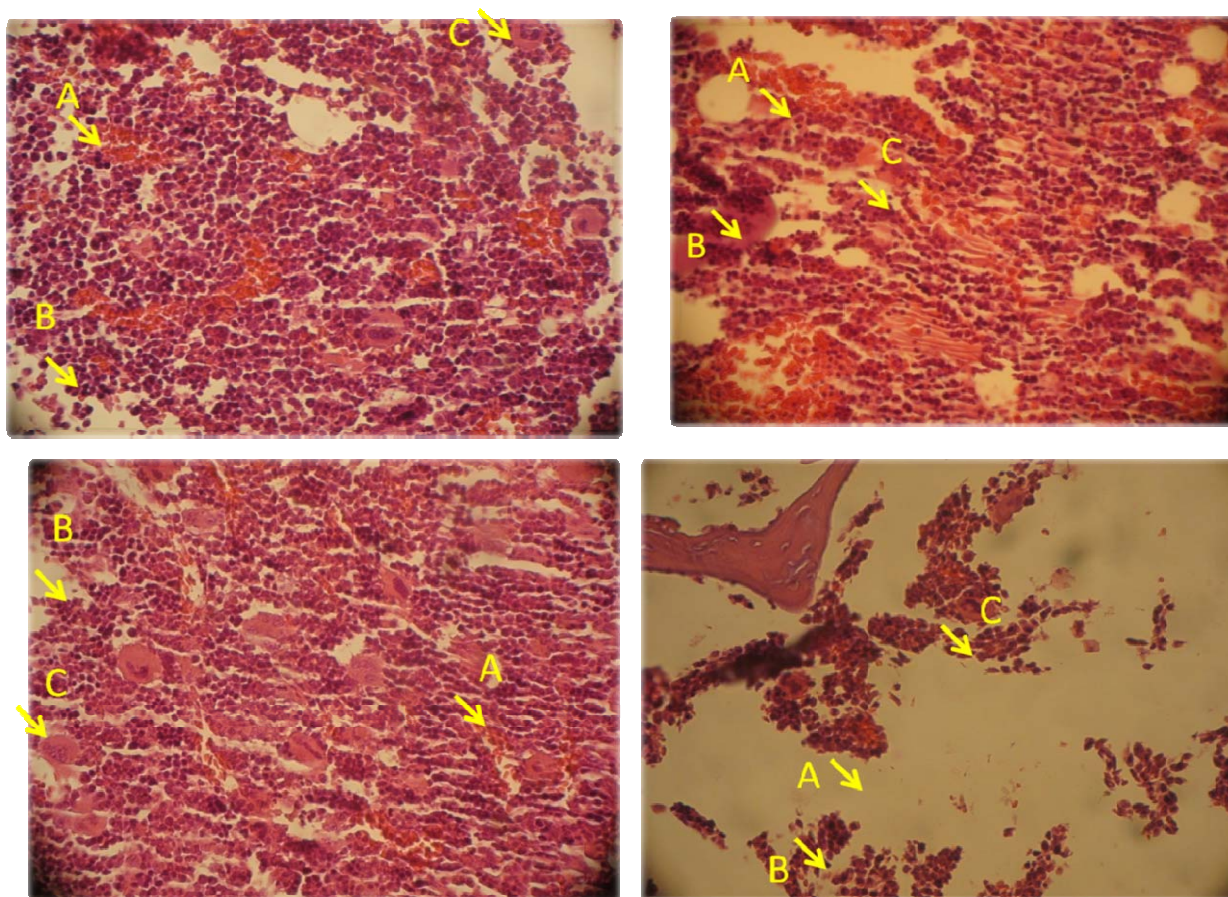
$CCl_4$  منجر به کاهش تعداد گلبول سفید نسبت به گروه شم شده است. مطالعات نشان داد عصاره هیدروآتanolی برگ گیاه حرا قادر است بر تعداد WBC اثر گذاشته و افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد ایجاد نماید ( $p < 0/001$ ). هم‌چنین مقایسه بین گروه‌های تیمار شده (به تناسب دوز تزریقی) با گروه‌های کنترل و شم اثبات کرده است که عصاره منجر به تغییرات افزایشی گلبول سفید نسبت به گروه‌های مذکور شده است (نمودار ۱). آلبومین سرم خون پس از تزریق تراکلرید کربن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی‌دار به نمایش گذاشته است و در گروه‌های تیمار شده با عصاره به تناسب دوز دریافتی افزایش معنی‌دار ( $p < 0/001$ ) پیدا کرده است (نمودار ۲). پروتئین کلی خون در گروه دریافت‌کننده  $CCl_4$  نسبت به گروه کنترل و شم کاهش نمایش داد که پس از دریافت عصاره هیدروآلکلی برگ گیاه حرا به ویژه در دوزهای بالاتر افزایش معنی‌دار ( $p < 0/001$ ) نسبت به گروه‌های ذکر شده پیدا کرده است (نمودار ۳). تراکم بافت مغز استخوانی و سلول‌های خون‌ساز در گروه شاهد در اثر تزریق تراکلرید کربن نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی‌داری پیدا کرده است. تراکم بافت مغز استخوانی و سلول‌های خون‌ساز در گروه‌های تیمار شده به تناسب دوز عصاره هیدروآتanolی دریافت شده نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار پیدا کرده است (شکل ۱).











شکل ۱. میکروگراف تهیه شده از جناغ موش‌های صحرائی در گروه‌های کنترل، شم، القاء شده با *CCl4*، تیمار دو (به ترتیب از بالا سمت چپ). سلول میلوپلاکس (پیکان C) گلبول قرمز (پیکان A) و سلول‌های اجدادی میلوپیتها (پیکان B) بزرگنمایی (۴۰×) و رنگ آمیزیهما توکسیلین & انوزین.

## بحث

صورت وابسته به دوز بر بافت مغز استخوان مؤثر می‌باشد، در مطالعه حاضر در همراهی با گزارش ارائه شده به وسیله ابراهیمی و همکاران (۲۲) نشان داده شد، تراکلرید کربن، توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 تقلیل پیدا کرده و منجر به ایجاد رادیکال‌های بسیار فعالی می‌شود که القاء پراکسیداسیون لیپیدی (برقراری اتصال با پروتئین‌ها یا لیپیدهای غشا یا گرفتن هیدروژن از اسیدهای چرب غیر اشباع غشا) در بافت کبدی و بافت مغز استخوان و غشاء سلولی گلبول‌های سفید را رهبری کرده و تخریب غشا بافت‌های ذکر شده را در پی دارد. در نتیجه کاهش معنی‌دار پروتئین‌های پلاسمایی خون (افزایش غلظت پروتئین کل در سرم خون) توجیه پذیراست. سنجیدن میزان پروتئین کل سرم خون و تهیه برش بافتی از جناغ

این بررسی به منظور مطالعه اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا بر بافت مغز استخوان، گلبول‌های سفید (WBC) پروتئین آلبومین سرم خون (Albomin)، و پروتئین کل خون (Total protein) که متعاقب تزریق داخل صفاقی تراکلرید کربن در موش‌های صحرائی نژاد ویستار بالغ ایجاد می‌گردد، طراحی شده است. گروه شم هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداده و بیان کننده آن است که روغن زیتون فاقد اثر بر بافت مغز استخوان می‌باشد و هر گونه تغییر در بافت مغز استخوان در گروه شاهد که دریافت کننده  $CCl_4$  با روغن زیتون به نسبت ۱:۱ است تنها ناشی از تراکلرید کربن است. عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا به

فلاونوئید تام مشتق از گیاهان دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند که در قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (۲۵). گمان می‌رود ترکیبات فنلی جدا شده از برگ حرا، طی مقابله با پراکسیداسیون لیپیدی و حذف کردن رادیکال‌های آزاد، روند افزایشی پروتئین‌های سرم خون را به عمل می‌آورد.

### نتیجه‌گیری

بررسی حاضر نشان داد که عصاره تهیه شده از برگ گیاه حرا به صورت وابسته به دوز اثر محافظت‌کنندگی بر روی بافت مغز استخوان موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار القاء شده با تراکلرید کربن پیاده می‌کند. برای دسترسی به نتیجه جامع‌تر، پیشنهاد می‌شود، اثر گیاه حرا در دامنه وسیع‌تری 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 چشم‌گیری دارد.

### تشکر و قدردانی

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

### منابع

- HajiGhasemKashani M, Tiraihi T, Ghorbanian M, Abrari K. [In Vitro Expression of BDNF, GDNF, NGF, NT3 and NT4/5 Genes in Selegiline Induced Bone Marrow Stromal Cells]. DUBS J2010;11(4):400-407.
- Tarfiei Gh, Mahmodiniamaimand M, Norozinia M. [The effect of factors inducing the differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts]. GTM J2010;7(4):1864-1870.

موش‌های مدل (القاء پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های بافت مغز استخوان، گسیختگی غشاء سلولی، لیز شدن و در نهایت مرگ سلول‌های بافت مغز استخوان) را نشان می‌دهد و مقایسه نسبت پروتئین آلبومین موش‌های سالم و القاء شده با تراکلرید کربن، آسیب وارد شده به بافت مغز استخوان را اثبات می‌کند. نتایج به دست آمده در این تحقیق، اثبات‌کننده تأثیر تخریبی  $CCl_4$  و هم‌چنین اثر ترمیمی عصاره بر تعداد گلبول‌های سفید خون (به طور معنی‌دار) است. تراکلرید کربن با اعمال اثر تخریبی خود گلبول‌های سفید را تخریب کرده و به طور معنی‌داری کاهش داده است و عصاره تجویز شده به ویژه در بالاترین دوز تزریقی گلبول‌های سفید را تا نزدیک حد طبیعی احیا کرده است. تقویت سیستم دفاعی بدن مربوط به ترکیبات پلی ساکاریدی گیاهان مانند اکیناسن و اکیناکوزید و ترکیبات آلکیل آمیدی آن می‌باشد (۲۳). برگ گیاه حرا حاوی انواع کربوهیدرات‌هاست، گمان می‌رود برگ این گیاه ارزشمند منبعی غنی و ارزشمند برای تقویت سیستم ایمنی بدن باشد. نتایج به دست آمده بیان‌کننده کاهش معنی‌دار آلبومین در اثر تراکلرید کربن 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 آن‌ها می‌شود. فلاونوئیدهای پلی فنلی، آنتی اکسیدان‌های قوی هستند که به آلبومین متصل شده در سرم خون حمل می‌گردند و با این پروتئین اثرات متقابل دارند و مانع از اتصال آلبومین با سموم و دفع آن از بدن می‌شود (۲۴). عصاره حرا غنی از ترکیبات پلی فنلی که بزرگ‌ترین گروه آن فلاونوئیدهاست، می‌باشد. احتمالاً این ترکیب ارزشمند گیاه حرا با متصل شدن به آلبومین، توانسته است اثرات منفی تخریبی تراکلرید کربن را مهار کند و مقدار این پروتئین را در سرم خون بالا ببرد. کاهش معنی‌دار مقدار پروتئین کل خون در اثر تزریق تراکلرید کربن و بازگشت مقدار آن تا حد طبیعی در اثر تزریق عصاره کاملاً مشهود است. متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و

3. Harison Radolph T. Blood System: Translated by Noshad S, Samdani H, Rezaii Z. Tehran, Iran, Raphii Andishe Publishing Institute; 2009.
4. Rajabii n, Karimii Jashnii H. [The effects of Tribulusterrestris extract on reproductive hormones in male rats after induced cyclophosphamide]. PMSJ 2015; 12(2): 1-8.
5. Stephen O, Abdulkadir A, Oladepo W, Doherty, Thajasvarie N. Effect of melatonin on CCl<sub>4</sub> induced kidney injury in wistar rats. JAB Rep 2007; 10: 153-164.
6. Ahmadizade M, Amir gholami F. [Effect of saymetadinon ccl<sub>4</sub> dystrophy in hephatocyte]. JSH J 2010; 2(2): 1-8.
7. Onuoha SC, chinaka NC. Carbondetrachloride Induced Renal Toxicity And The Effect Of Aqueous Extract Of Gongronemalatifolium In Wistar Albino Rats. JDD Rep 2013; 4(11): 15-18.
8. Venkatanarayana G, Sudhakara G, Rajeswaramma k, Indira P. Combined Effect Of Curcumin And Vitamin E Against CCl<sub>4</sub> Induced Liver Injury In Rats. JALS Rep 2013; 1(3): 117-124.
9. Moradi F, Eydi A, Mortazavy P, Haeryrohani A, Saphi Sh. [Antioxidant Effect Of Mg in oxidative stress in malerat induce with CCl<sub>4</sub>]. YJ 2014; 19(8): 675-684.
10. Kader M, Sayed E, Kassem S, El-Din M, MHggag M, El-Hawary Z. Protective and antioxidant effects of cynarascolymus leaves against carbon tetrachloride toxicity in rats. JRPBCS Rep 2014; 5(5): 1373-1380.
11. A. Saker S, A. Lamfon H. protective effect of rosemary (Rosmarinus of ficinalis) leaves extract on carbone tetrachloride induced nephrotoxicity in albino rats. JLS Rep 2012; 9(1): 779-785.
12. Sahar Abd El- mohsen A, Dalia Hussein Abdelhafiz A. The protective effect of date seeds on nephrotoxicity in rats. JIPS Rep 2014; 26(12): 62-68.
13. Tolooui M, Mirzaei A. Effects Of Pistacia Atlantica Extract On Erythrocyte Membrane Rigidity, Oxidative Stress, And Hepatotoxicity Induced by CCl<sub>4</sub> In Rats. JGHS Rep 2015; 7(7): 32-38.
14. Bablok W, Passing H, Bender R, Schneider B. A General Regression Procedure for Method Transformation. JCCCB Rep 1988; 26: 783-790.
15. Vinod Prabhu V, Guruvayoorappan C. Phytochemical screening of methanolic extract of mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. Pelagia Research Library, JDPS Rep 2012; 3 (1): 64-70.
16. Al Hosani M, Al Anouti F. A Preliminary Exploration of Heavy Metal Contamination within *Avicennia marina* in the United Arab Emirates. JEAT Rep 2014; 4(5) 232 doi: 10.4172/2161-0525.1000232.
17. Afzal M, Abbasi M. Efficacy of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. leaves extracts against some atmospheric fungi. JAB Rep 2010; 10(52): 10790-1094.
18. Margaret Beula j, Gnanadesigan M, Banerjee Rajkumar P, Ravikumar S, Anand M. Antiviral, antioxidant and toxicological evaluation of mangrove plant from South East coast of India. JAPT B Rep 2012; S352-S357.
19. 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. JSA Rep 2012; 38: 349-355.
20. Ahmed A, Maha Zaki R, Nabawia Ali I, Mohga Shafik A, Hayat Mohamed S, Magda Mohamed M. Protective role of *Juniperus phoenicea* and *Cupressus sempervirens* against CCl<sub>4</sub>. JWGPT Rep 2010; 1(6): 123-131.
21. Devi A, Rajkumar J. In vitro Antibacterial Activity And Stability Of *Avicennia marina* Against Urinary Tract Infection Pathogens at Different Parameters. JBS Rep 2013; 16(19): 1034-1039.
22. Ebrahimi S, Sadeghi H, Pourmahmoudi A, Askariyan SH, Askari S. [Protective Effect of *Zizphus Vulgaris* Extract, on Liver Toxicity in Laboratory Rats]. YUM SJ 2010; 16(2): 172-180.
23. Modaresii M, Asadii S. [The Study Of Effect Of Echinacea Extract On Blood Parameters In Mice]. LMSUJ 2012; 4(2): 43-55.
24. Babaii A, Arshamii J, Haghparast A, Danesh M. [The Effects Of Alcoholic Extract Of *Crocus satires* L. Petals On Blood Biochemical Parameters In Rats]. AMSU J 2013; 16(16): 14-21.
25. Mirzaii A, Mohamaadi j, Mirzaii n, Mirzaii M. [Evaluation Of Antioxidant Activity And Total PPhenolic Extract Of Soil, Grass, Weed, Coriander And Fenugreek]. FMSU J 2011; 1(3): 160-167.