ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۱۰، دی ۱۳۹٤(شماره پی در پی۱۰۵)

اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina* (L. بر کبد موش صحرایی نر القاء شده با تتراکلرید کربن

مریم غلامی، ناصر میرازی*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۴/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۱۸

چکیده :

مقدمه و هدف: التهاب و نکروز هپاتوسیت‌ها در اثر سموم شیمیایی موجب اختلال عملکرد بافت کبد می‌شود. گیاهان داروی می‌توانند از بروز وپیشرفت این اختلالات جلوگیری نمایند. هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا بر روی کبد موش‌های صحرایی القاء شده با تتراکلریدکربن بود.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی می‌باشد که بر روی ٤۲ سر موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۵۰ـ۲۲۰ گرم به گروه‌های کنترل، شم، شاهد، تیمار ۱ ، ۲ و ۳ به طور تصادفی تقسیم شدند. گروه شم روغن زیتون (به صورت تک دوز) به میزان۲میلی لیتر بر کیلوگرم و به طور داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد مقدار ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن تتراکلرید کربن به نسبت ۱:۱ مخلوط با روغن زیتون به صورت تک دوز منفرد دریافت نمودند. گروه های تیمارتتراکلرید کربن(مقدار ۲میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن تتراکلرید کربن به نسبت ۱:۱ مخلوط با روغن زیتون) به صورت تک دوز (تزریق فقط در روز اول) دریافت کردند و دو ساعت بعد به ترتیب تیمارهای ۱، ۲ و۳ با عصاره‌های هیدروالکلی برگ گیاه حرا با دوز ۲۰۰، ٤۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ٤ روز(یک بار تزریق در هر روز) به روش تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه کنترل روزانه نرمال سالین به میزان ۰/۵ میلی لیتر داخل صفاق دریافت نمود. در پایان آزمایش‌ها از تمامی‌حیوانات خونگیری مستقیم از داخل قلب تهیه و سرم آن جهت اندازه‌گیری آلبومین، توتال پروتئین و بیلی‌روبین و آنزیم‌های کبدی جدا شد.

یافته‌ها: تتراکلریدکربن موجب کاهش آلبومین و پروتئین توتال شد. این پارامترها در سه گروه تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد($p<۰/۰۰۱$). سطح بیلی‌روبین توتال سرم در اثر تزریق تتراکلریدکربن افزایش پیدا کرد و در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت($p<۰/۰۵$). دریافت تتراکلریدکربن منجر به افزایش معنی‌دار آنزیم AST،ALT و ALP نسبت به گروه کنترل شد و دریافت عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا منجر به کاهش معنی‌دارای‌ن آنزیم ها نسبت به گروه القاء شده بود($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: برگ گیاه حرا دارای ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی زیادی است. احتمالا این مواد قادر هستند که از اثرات توکسیک موادی نظیر تتراکلرید کربن در بافت های بدن از جمله بافت کبدی به طور معنی‌داری محافظت نمایند.

واژه‌های کلیدی: گیاه حرا، آلبومین، پروتئین توتال، بی‌لی روبی‌ن توتال، تتراکلریدکربن، موش صحرایی نر

***نویسنده مسئول: ناصر میرازی، همدان**، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی
Email: mirazi205@gmail.com

مقدمه

کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن است که در تنظیم بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک دخیل است. هرگونه اختلال در عملکرد کبد باعث ایجاد مجموعه‌ای از اختلالات می‌شود که می‌تواند صدمات جبران ناپذیری را به این عضو وارد نماید. عواملی مثل استرس اکسیداتیو، رادیکال‌های آزاد، الکل سفید، مواد شیمیایی، ویروس‌ها و داروها می‌توانند باعث تخریب بافت کبدی شوند(۱). عوامل شیمیایی مختلفی می‌تواند باعث ایجاد آسیب کبدی، نظیر؛ التهاب، نکروز و نتیجه سیروز شوند. پاراستامول از موادی است که آسیب‌های پارانشیمال کبدی را در پی دارد(۲). کلرید کادمیوم و تتراکلریدکربن(CCl_4)[۱] به طور حاد موجب نکروز گسترده کبدی می‌شود(٤ و۳). پاراکورات و پاراکسون از مواد شیمیایی است که سطح سرمی‌آنزیم‌های کبدی را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد(٦و ٥). فیبروز و سیروز القاء شده به وسیله تتراکلرید کربن، یکی از قدیمی‌ترین و گسترده‌ترین مدل‌های تجربی ایجاد شده براساس سم است. هم‌چنین با استفاده از این مدل تجربیات جامعی درباره تغییرات بیوشیمیایی و هیستولوژیکی و تغییرات همراه با آسیب، التهاب و فیبروز به دست آمده است(۷). تجویز CCl_4 در رت‌ها باعث افزایش گاماگلوتامیل ترانسفراز[۲]، آلانین آمینو ترانسفراز[۳] و آلکالین فسفاتاز[٤] می‌شود. هم‌چنین میزان کلاژن و پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش و مقدار گلوتاتیون را کاهش می‌دهد(۸). رادیکال‌های آزاد مشتق از CCl_4 باعث تجمع مالون‌دی‌آلدهید[٥] که یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدهاست می‌شود و این امر در نهایت باعث غیر فعال شدن آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز[٦]، کاتالاز[۷] و گلوتاتیون پراکسیداز[۸] می‌گردد(۹). تحقیقات گسترده انجام شده نشان می‌دهد که گیاهان مختلف با دارا بودن ترکیب‌های شیمیایی گوناگون می‌توانند اثرات تخریبی و آسیب کبدی ناشی از سموم از جمله CCl_4 را بهبود دهند و از پیشرفت آسیب جلوگیری کنند. گیاهانی مانند کلاله زعفران(۱۰) برگ ویتکس(۱۱)،سیلیبینین(۱۲)، برگ پونه(۱۳)، ریشه گیاه فیزالیس (١٤) اثرات محافظت کنندگی بر بافت کبد متعاقب در معرض مسمومیت کبدی، ایجاد می‌کنند. گیاه حرا[۹] از تیره شاه پسند و یکی از اعضا خانواده شاه پسندیان[۱۰] می‌باشد. این گیاه با عنوان مانگرو[۱۱] هم شناخته شده است. حرا در امتداد سواحل شرقی آفریقا، جنوب، جنوب شرقی وجنوب غربی آسیا و استرالیا پراکندگی دارد، در جنوب ایران در امتداد ساحل خلیج فارس در جنگل‌های مانگرو ایران دیده

1-Carbone Tetrachloride (CCL_4)
2-Gama GlutamilTransfrase (GGT)
3-Alanin Amino Transfrase (ALT)
4-Alkaline Phosphatase (ALP)
5-Malondealdehyde (MDA)
6-Super oxide Dismutase (SOD)
7-Catalase (CAT)
8-Glutatiun Peroxidase (GPX)
9-Avicennia marina L.
10-Acanthaceae
11-Mangrove

می‌شود(۱۵). این گونه دارای ترکیبات زیستی فعالی بوده ودارای فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی می‌باشد و به طور سنتی برای درمان بیماری های پوستی به کار می‌رود. این گونه غنی از انواع فیتوالکسین‌ها، استروئیدها، اسیدهای کربوکسیلیک، تانین‌ها، فلاونوئیدها، ایریدوئیدها و تری‌ترپن‌ها است که خاصیت ضد ویروسی، سرطانی و باکتریایی دارد(۱۶). خاصیت ضد سرطانی آن به خاطر غنی بودن این گونه از آنتی‌اکسیدان‌هاست(۱۷). علاوه بر ترکیب‌های نام برده برخی ترکیب‌های ضد میکروبی دیگر هم در گیاهان مانگرو یافت می‌شود که شامل: بروژیرول، فاگارونین، لینالول و اسید الاژیک می‌باشد(۱۸). گیاه حرا در طب سنتی جهت درمان دردهای روماتیسمی، پیشگیری از بارداری، آبله و زخم ها کاربرد وسیعی دارد(۱۶). اثر ضد قارچی از دیگر تأثیرات گیاه حرا می‌باشد(۱۷). با توجه به استفاده روزافزون از ترکیبات شیمیایی نظیر تتراکلریدکربن در صنایع به خصوص مواد شوینده‌ها و هم‌چنین نظر به وجود ترکیب‌های زیستی فعال در گیاه حرا و از آنجایی که تا کنون اثرات محافظت کننده‌گی کبدی این گیاه در حیوانات آزمایشگاهی القا شده باتتراکلرید کربن مطالعه‌هایی صورت نپذیرفته است، هدف از این مطالعه بررسی اثرات محافظتی کبدی گیاه حرا در موش‌های صحرایی نر القاء شده به وسیله CCl_4 بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ،۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰ـ۲۳۰ از انستیتوپاستور تهران خریداری شدند. موش‌ها به مدت یک هفته در محل اتاق حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی‌سینا در شرایط دمایی ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد وسیکل روشنایی ـ تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. موش ها به شش گروه کنترل، شم، شاهد، تیمار ۱ ، ۲ و ۳ به طور تصادفی تقسیم شدند (هر گروه ۷ سر). گروه شم روغن زیتون (به صورت تک دوز) به میزان ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم و به طور داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد مقدار ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن تتراکلرید کربن به نسبت ۱:۱ مخلوط با روغن زیتون به صورت تک دوز منفرد دریافت کردند. گروه‌های تیمار تتراکلرید کربن(مقدار ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن تتراکلرید کربن به نسبت ۱:۱ مخلوط با روغن زیتون) به صورت تک دوز(تزریق فقط در روز اول) دریافت کردند و دو ساعت بعد به ترتیب تیمارهای ۱، ۲ و۳ با عصاره‌های هیدروالکلی برگ گیاه حرا با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ٤ روز(یک بار تزریق در هر روز) به روش تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه کنترل روزانه نرمال سالین به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر داخل صفاق دریافت نمودند. بعد از پایان آزمایش‌ها، حیوانات به وسیله اتر بیهوش شدند و سپس

خون‌گیری مستقیم از داخل قلب آنها انجام شد. خون تهیه شده با دور ٤٠٠٠ دور در دقیقه و با مدت زمان ١٠ دقیقه سانتریفیوژ شد و سرم آنها به وسیله پیپت جدا شد. سرم ها به منظور اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی (با استفاده از روش فتومتریک)،آلبومین (از طریق روش الکتروفورز موئینه‌ای)، توتال پروتئین(با استفاده از روش کالوریمتریک) و بیلی‌روبین توتال(با استفاده از روش فتومتریک) به آزمایشگاه ارسال شدند.

جهت آماده‌سازی عصاره، ابتدا برگ‌های گیاه حرا از جزیره قشم جمع‌آوری شد و به وسیله متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان شناسایی شد. جهت تهیه عصاره از منابع قبلی بهره گرفته شد(٢٠ و ١٩).برگ‌ها بعد از شست و شو در سایه خشک شده و با استفاده از میکسر پودر شد. به منظور تهیه عصاره هیدراتانولی برگ گیاه حرا، مقدار ١٨٠ گرم از پودر به دست آمده را در٥٦٠ سی سی اتانول ٨٠ درصد ریخته به طوری که کاملاً پودر در آن غوطه ور شود و یک سانتی‌متر نیز روی آن را الکل بپوشاند. به مدت یک هفته ظرف حاوی پودر الکل در یخچال قرار داده شد، سپس مایع داخل ظرف به وسیله کاغذ صافی گذرانده شد تا کاملاً صاف شود. محلول صاف شده به وسیله دستگاه روتاری با دمای ٥٥ درجه سانتی‌گراد و دور ٦٠ دور در دقیقه تغلیظ شد. عصاره به دست آمده به مدت ٤٨ ساعت در زیر هود قرار داده شد تا کاملاً خشک گردد. .عصاره حاصل تا زمان استفاده در فریزر و با دمای٢٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد

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 صورت پذیرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس، کلموگروف ـ اسمیرونوف، آنالیز واریانس یک‌طرفه توکی تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

سطح سرمی آلبومین خون موش های مورد آزمایش در گروه شاهد متعاقب تزریق تتراکلریدکربن نسبت به گروه کنترل و شم، کاهش معنی‌داری نشان داد($p<0/001$). مقدار آلبومین سرم در گروه شم نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری بود. سطح سرمی آلبومین خون در گروه‌های تیمار شده با عصاره، به تناسب دوز دریافتی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند، به طوری که این میزان در گروه تیمار٣ دریافت کننده دوز ٨٠٠ میلی‌گرم بازاء هر کیلوگرم وزن بدن عصاره، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نسبت به بقیه گروه‌های تیمار شده از خود نشان داد($p<0/001$). سطح سرمی‌آلبومین خون در گروه‌های تیمار شده با ٢٠٠ و ٤٠٠ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن با

یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بود. در حالی که این اختلاف بین گروه تیمار ۳ و تیمارهای ۱ و ۲ از افزایش معنی‌داری برخوردار شد(p<۰/۰۰۱)(نمودار۱).

سطح سرمی‌پروتئین توتال خون گروه شاهد دریافت کننده تتراکلریدکربن نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی داری را نشان داد(p<۰/۰۰۱). مقدار پروتئین توتال سرم در گروه در گروه شم نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری بود. سطح سرمی پروتئین توتال خون در گروه‌های تیمار شده با عصاره، به تناسب دوز دریافتی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند، به طوری که این میزان در گروه تیمار۳ دریافت کننده دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بازاء هر کیلوگرم وزن بدن عصاره نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نسبت به بقیه گروه‌های تیمار شده از خود نشان داد(p<۰/۰۰۱). سطح سرمی پروتئین توتال خون در گروه‌های تیمار شده با ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن با یکدیگر داری اختلاف معنی‌دار بودند، به طوری که گروه تیمار شده با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بازاء هر کیلوگروم وزن بدن نسبت به گروه در یافت کننده با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بازاء هر کیلوگروم وزن بدن افزایش معنی‌داری را نشان داد(p<۰/۰۵). از طرفی اختلاف بین گروه تیمار ۳ و گروه های تیمار ۱ و ۲ از افزایش معنی داری برخوردار شد(p<۰/۰۰۱). اختلاف سطح سرمی پروتئین توتال در سرم خون گروه دریافت کننده عصاره حرا در تیمار ۳ نسبت به گروه شم نیز از از افزایش معنی داری برخوردار بود(p<۰/۰۵)(نمودار ۲) .

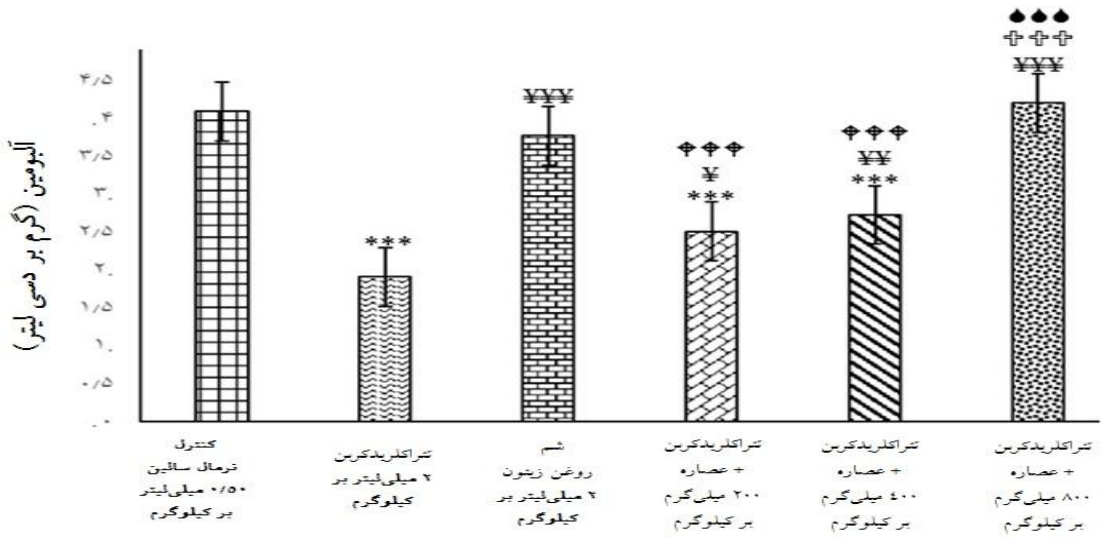
مقدار بیلی‌روبین توتال سرم در موش‌های گروه شاهد دریافت کننده تتراکلریدکربن نسبت به گروه کنترل و شم از افزایش افزایش معنی‌داری برخوردار بود(p<۰/۰۰۱). مقدار بیلی‌روبین توتال سرم در گروه شم نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری بود. این پارامتر در گروه‌های تیمار شده ۱، ۲ و ۳ با عصاره گیاه حرا، متناسب با دوز تزریق شده عصاره هیدرواتانولی برگ گیاه حرا نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کردند(p<۰/۰۰۱). سطح سرمی بیلی‌روبین توتال در گروه تیمار شده با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه تیمار ۱ کاهش معنی‌داری را نشان داد(p<۰/۰۱). این وضعیت بین گروه دریافت کننده عصاره در گروه تیمار ۳ نسبت به گروه تیمار ۲ نیز از کاهش معنی‌داری برخوردار بود(p<۰/۰۱). در حالی که اختلاف بین سطح سرمی بیلی روبین توتال سرم در گروه تیمار ۳ و تیمار ۱ کاهش چشم‌گیرتری را نشان داد(p<۰/۰۰۱). همچنین اختلاف بین سطح سرمی بیلی‌روبین توتال در گروه تیمار شده با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار بود(نمودار ۳) .

میزان آنزیم ALT در گروه دریافت کننده CCl_4 نسبت به گروه کنترل و شم از افزایش معنی‌داری

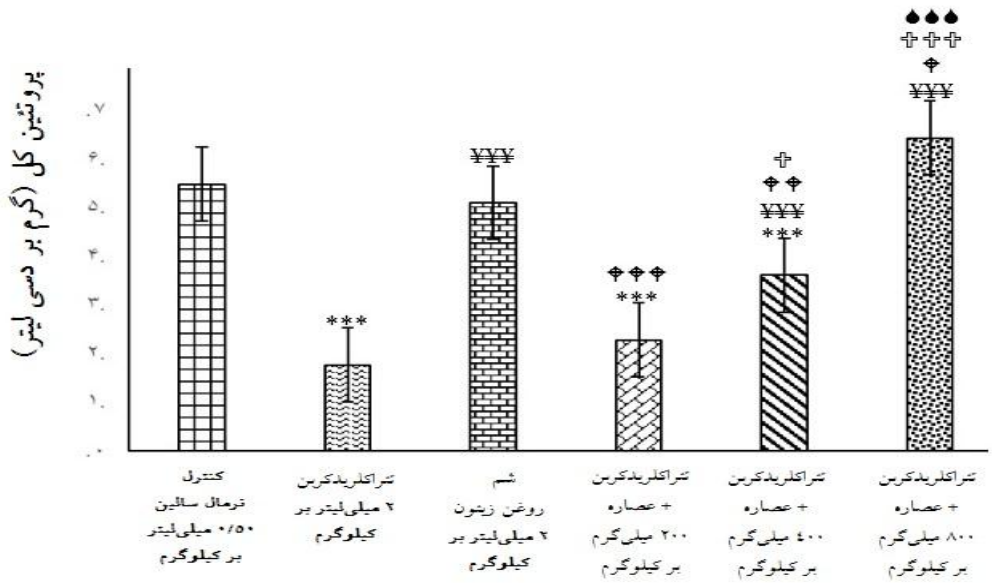
برخوردار بـود(p<۰/۰۰۱). آنـزیم ALT، در گـروه شـم نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری بود. این پارامتر در گروه‌های تیمار شـده۱، ۲ و ۳ بـا عصـاره گیـاه حـرا، متناسـب بـا دوز تزریـق شـده عصـاره هیدرواتانولی برگ گیاه حـرا، نسـبت بـه گـروه شـاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد(p<۰/۰۰۰۱). سطح سـرمی این آنزیم در گروه تیمار شده بـا دوز ۴۰۰ میلـی‌گـرم بازاء کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه تیمار ۱ کاهش معنی‌داری را نشان داد(p<۰/۰۱). ایـن وضـعیت بـین گروه دریافت کننده عصاره در گروه تیمار ۳ نسبت به گروه تیمار۱و۲ نیـز از کـاهش معنـی‌داری برخـوردار بود(p<۰/۰۰۱)(نمودار ٤).

میزان آنزیم AST در گروه دریافت کننده CCl_4 نسبت بـه گـروه کنتـرل و شـم از افـزایش معنـی‌داری برخوردار بود(p<۰/۰۰۱). آنـزیم AST، در گـروه شـم نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری بود. این پارامتر در گروه‌های تیمـار شـده۱، ۲ و ۳ بـا عصـاره گیـاه حـرا، متناسـب بـا دوز تزریـق شـده عصـاره هیدرواتانولی برگ گیاه حـرا نسـبت بـه گـروه شـاهد کاهش معنی‌داری پیدا کردند(p<۰/۰۰۱). سطح سـرمی این آنـزیم در گروه تیمار شده با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازاء کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه تیمـار ۱ کـاهش معنی‌داری را نشان داد(p<۰/۰۰۱). ایـن وضـعیت بـین گروه دریافت کننده عصاره در گروه تیمار ۳ نسبت به گـروه تیمـار۱ نیـز از کـاهش معنـی‌داری برخـوردار بود(p<۰/۰۰۱) و این وضعیت نسبت به گروه تیمـار ۲ نیـــــز از کـــــاهش معنـــــی دار برخـــــوردار بود(p<۰/۰۱)(نمودار ٥).

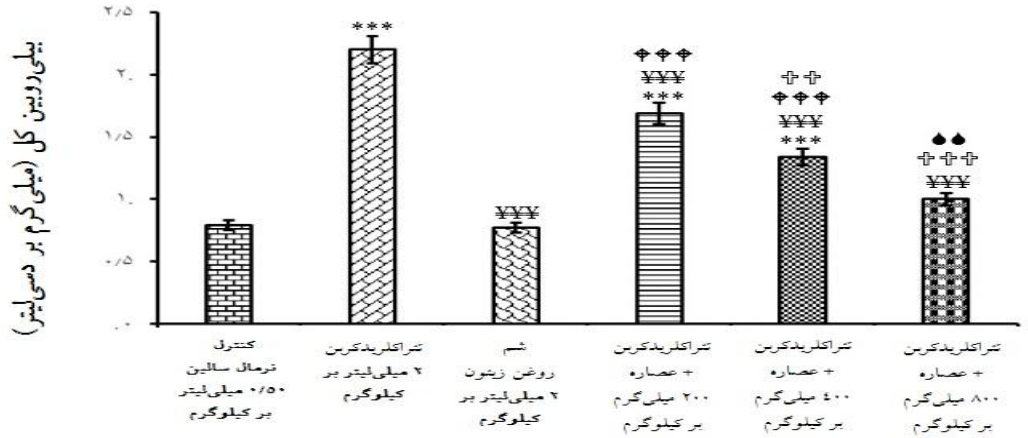
میزان آنزیم ALP در گروه دریافت کننده CCl_4 نسبت بـه گـروه کنتـرل و شـم از افـزایش معنـی‌داری برخوردار بـود(p<۰/۰۰۱). آنـزیم ALP، در گـروه شـم نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری بود. این پارامتر در گروه‌های تیمار شـده ۱، ۲ و۳ بـا عصـاره گیـاه حـرا، متناسـب بـا دوز تزریـق شـده عصـاره هیدرواتانولی برگ گیاه حـرا نسـبت بـه گـروه شـاهد کـاهش معنـی‌داری پیـدا کردنـد(p<۰/۰۰۰۱). سـطح سرمی ایـن آنـزیم در گـروه تیمـار شـده بـا دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازاء کیلـوگرم وزن بـدن نسـبت بـه گـروه تیمار ۱ کاهش معنی‌داری را نشـان داد(p<۰/۰۱). ایـن وضعیت بین گـروه دریافـت کننـده عصـاره در گـروه تیمـار ۳ نسـبت بـه گـروه تیمـار۱و۲ نیـز از کـاهش معنی‌داری برخوردار بود(p<۰/۰۰۱)(نمودار ٦).



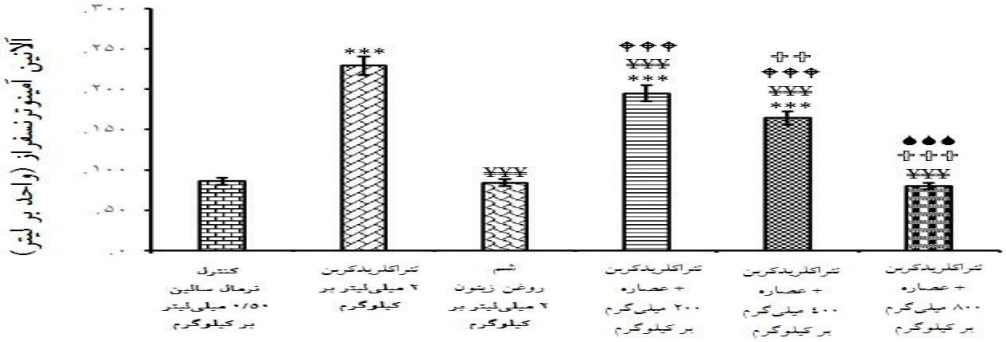
نمودار ۱: بررسی داده‌های حاصل از میزان آلبومین در گروه‌های کنترل، دریافت کننده *CCl_4* ، شم و گروه‌های دریافت کننده CCl_4+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. * بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کنندهCCl_4 ، ✞بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه شم، ✝بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم،♦ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر *کیلوگرم* (¥¥¥ :p<۰/۰۰۱) ،(¥; p<۰/۰۱) ،(¥: p<۰/۰۵) ،(✞✞✞, ✝✝ :p<۰/۰۰۱) ، (✝، p<۰/۰۰۱ ♦♦♦)



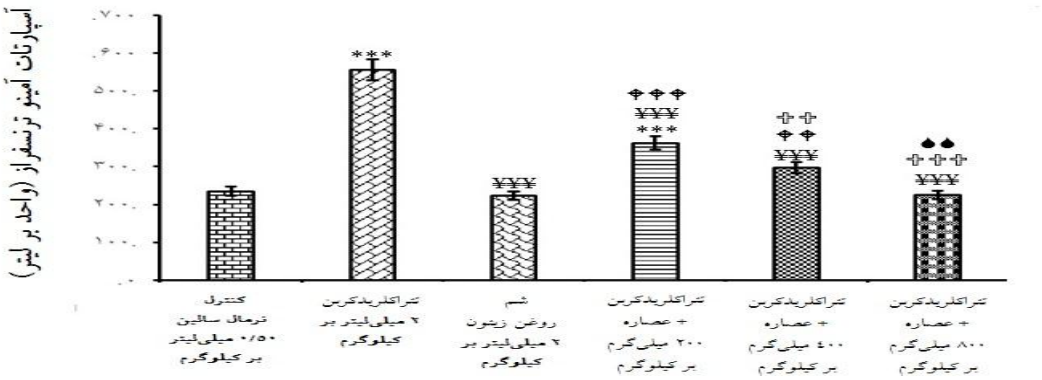
نمودار ۲ : بررسی داده‌های حاصل از میزان پروتئین کل در گروه‌های کنترل، دریافت کننده CCl_4 ، شم و گروه‌های دریافت کننده CCl_4+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار.(***:P<۰/۰۰۱) (¥¥¥:P<۰/۰۰۱) (¥:P<۰/۰۵) (✞✞✞:P<۰/۰۰۱) (✞✞:P<۰/۰۰۱) (✞✞✞:P<۰/۰۰۱) (✞:P< ۰/۰۵)،(♦♦♦:P<۰/۰۰۱) .



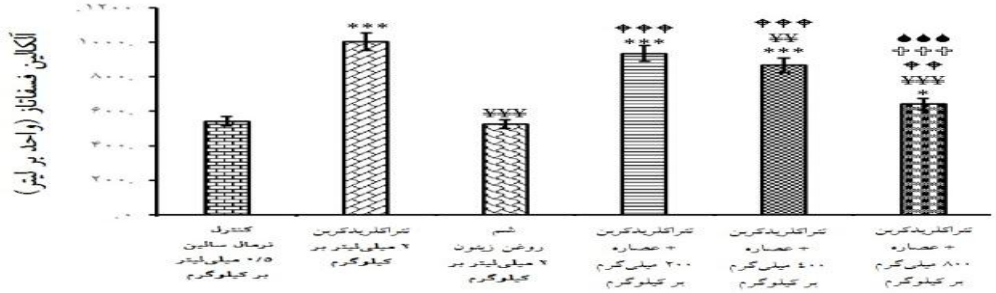
نمودار ۳ : بررسی داده‌های حاصل از میزان بیلی روبین کل در گروه‌های کنترل، دریافت کننده تتراکلریدکربن ، شم و گروه‌های دریافت کننده تتراکلریدکربن+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. (***:P<۰/۰۰۱) ، (¥¥¥:P<۰/۰۰۱) (♦:P<۰/۰۵) ، (♦♦:P<۰/۰۱) ، (♦♦♦:P<۰/۰۰۱) (✝:P< ۰/۰۵)، (✝✝✝:P< ۰/۰۰۱)، (♠♠♠:P<۰/۰۰۱) .



نمودار ۴: بررسی داده‌های حاصل از میزان آنزیم ALT در گروه‌های کنترل، دریافت کننده تتراکلریدکربن ، شم و گروه‌های دریافت کننده تتراکلریدکربن+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. (***:P<۰/۰۰۱)، (¥¥¥:P<۰/۰۰۱)، (♦:P<۰/۰۵)، (♦♦:P< ۰/۰۱)، (♦♦♦:P<۰/۰۰۱)، (✝:P< ۰/۰۵) ، (✝✝✝:P<۰/۰۰۱)، (♠♠♠:P<۰/۰۰۱) .



نمودار ۵ : بررسی داده‌های حاصل از میزان آنزیم AST در گروه‌های کنترل، دریافت کننده تتراکلریدکربن ، شم و گروه‌های دریافت کننده تتراکلریدکربن+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار.(***:P<۰/۰۰۱) ،(¥¥¥:P<۰/۰۰۱).(۵ ۰/۰ >P:✞) ،(۰/۰۱ >P:✞✞) ،(۰/۰۰۱ >P:✞✞✞) (۰/۰۰۱ >P:✝✝✝)، (۰/۰۵>P:✝) (۰/۰۰۱ >P:♦♦♦)



نمودار ۶ : بررسی داده‌های حاصل از میزان آنزیمALP در گروه‌های کنترل، دریافت کننده تتراکلریدکربن ، شم و گروه‌های دریافت کننده تتراکلریدکربن+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار(***:P<۰/۰۰۱) ،(¥¥¥:P<۰/۰۰۱).(۰/۰۵ >P:✞) ،(۰/۰۱ >P:✞✞) ،(۰/۰۰۱ >P:♦♦♦) (۰/۰۰۱ >P:✝✝✝)، (۰/۰۵>P:✝) (۰/۰۰۱ >P:♦♦♦) .

بحث

مواد شیمیایی مانند آمونیاک، انواع داروها، الکل و ویروس‌ها می‌توانند باعث آسیب بافت کبد شده و موجب بروز بیماری‌های کبدی شوند. عوامل مختلفی می‌توانند باعث بروز نکروز و سیروز کبدی شوند. CCl_4 یکی از مواد شیمیایی بسیار سمی و خطرناک است که مواجهه با آن باعث نکروز، سیروز، سرطان کبد و حتی منجر به کما و مرگ می‌شود(۲۱). در آسیب کبدی ناشی از CCl_4 افزایش آنزیم های ALT، AST، ALP گزارش شده است(۲۴ـ۲۲). افزایش میزان آنزیم GGT(۲۵)، مالون‌دی‌آلدهید (۲۶)LDH(۲۷) TBAR(۲۸) و بیلی‌روبین(۲۹) در پی آسیب ناشی از

CCl_4 دیده شده است. CCl_4 با تولید رادیکال‌های آزاد، با مولکول‌های مختلف مانند اسیدآمینه، نوکلئوتیدها، اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپید واکنش داده و باعث تخریب شدید فرایندهای سلولی می‌شود(۳۰). استفاده از عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان می‌توانند اثرات تخریبی کبد ناشی از تزریق CCl_4 را کاهش داده و باعث بهبود بافت کبد شوند. گیاهان دارای ترکیباتی چون آلکالوییید، فلوباتانین، تانن، ترپنوئید، گلیکوزید و آنتراکوتینون و فلاونوییید هستند که می‌توانند از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث حفظ ثبات و پایداری غشاء سلول شوند و آسیب وارده به بافت را بهبود دهند(۲۲). فلاونوئیدها بزرگترین گروه پلی فنول هستند و اثر ضدالتهابی دارند. با توجه به مطالعه حاضر و در همراهی با گزارش ارایه شده به وسیله جین و همکاران، گمان می‌رود فلاونوئیدها در کنار اثر محافظتی سایر ترکیب‌های فعال برگ گیاه حرا، نقش اساسی محافظتی کبدی را ایفا نمایند (۱۸). استفاده از عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مختلف می‌تواند اثرات ناشی از تزریق تتراکلرید کربن را کاهش داده و باعث بهبود بافت کبد شوند. در آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن حل شده در روغن زیتون(با نسبت ۱:۱)، دیده شد که تزریق عصاره گیاه کهن دار از نکروز و فیبروز کبد در موش‌ها جلوگیری می‌کند. اثر محافظتی گیاه فوق از طریق کاهش آنزیم‌های مارکر کبدی و پراکسیداسیون لیپیدها انجام می‌شود(۲۷). در تحقیقی مشخص شد که عصاره آبی و الکلی ساقه‌های گیاه کلپر دارای فعالیت محافظت کنندگی کبدی در برابر هپاتوتوکسیسیته ناشی از تتراکلرید کربن حل شده در روغن پارافین در رت است که این گیاه در طب سنتی در درمان یرقان و زردی استفاده می‌شود. این تحقیق نشان داد که وجود ترکیب‌هایی چون آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، استرول‌ها، ساپونین‌ها، گلیکوزیدهای سیانوژنیک و کومارین‌ها اجزای اصلی عصاره هستند که می‌توانند از آسیب کبدی در برابر تتراکارید کربن جلوگیری کنند(۳۰). بررسی صورت گرفته روی عصاره آبی و اتانولی برگ گیاه ویتکس تریفولیا مشخص شد که این گیاه از آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن جلوگیری می‌کند. این محافظت با کاهش بیلی‌روبین توتال همراه است(۱۱). نتایج فوق با نتایج مطالعه حاضر هم سو می‌باشد. ابراهیمی و همکاران نشان دادند که بیلی‌روبین توتال در گروه شاهد که تنها تتراکلریدکربن دریافت کردند، نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است، که احتمال می‌رود ناشی از تخریب سلول‌های کبدی و عدم وجود ماده حفاظتی باشد(۱۷). هم‌چنین مشاهده شد توتال پروتئین و آلبومین سرم در بیماری‌های کبدی مزمن تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در این تحقیق سطح سرمی آلبومین و توتال پروتئین کل در اثر القاء تتراکلریدکربن کاهش معنی‌دار پیدا کرد. احتمال دارد که آسیب حاد کبدی در اثر تزریق CCl_4 حادث شده سبب چنین اختلالی در موش‌ها شود. آنالیز فیتوشیمیایی عصاره برگ گیاه کاریسا اوپاکا نشان داد که ترکیب‌هایی چون فلاونوئیدها، تانن، آلکالوئیدها، فلوباتانین و ترپنوئیدها در این عصاره

وجود دارد که می‌توانند از بافت کبد در برابر آسیب ایجاد شده به وسیله CCl_4 از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفظ و پایداری غشاء محافظت نمایند(۲۷). برگ و دمبرگ گیاه پنیرک دارای ترکیب‌هایی نظیر؛ تانن، فلاونوئید، موسیلاژ، لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید و اولئیک اسید می‌باشد. بنابراین گیاه پنیرک با دارا بودن بیش از ۸۰ درصد از ترکیب‌های فوق می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جذب رادیکال‌های آزاد ناشی از تزریق تتراکلریدکربن را صورت دهد(۲۹). فعالیت آنزیماتیک سرمی با آسیب‌های پارانشیمی کبد در ارتباط است. آسیب پارانشیمی بافت کبد موجب آزادسازی آنزیم‌های AST,ALT و ALP از مواضع آنها در میتوکندری و سیتوزول هپاتویست‌ها و راه یافتن این آنزیم ها از دلتا-گوانوزین تری فسفاتاز غشایی و گسیختگی‌های سلولی به خون شده و فعالیت سرمی آنها را افزایش می‌دهد. عصاره هیدروالکلی برگ گردو به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنلی می‌تواند از تخریب بافت کبد به وسیله CCl_4 جلوگیری کند، دارای اثرحفاظت کبدی است و باعث کاهش فعالیت سرمی آنزیم‌های AST، ALT و ALP می‌شود(۲۸).در مطالعه‌ای نشان داده شد که عصاره هیدروالکلی هسته انگور و جفت میوه بلوط با اعمال اثرات آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های AST، ALT و ALP شده بنابراین مخلوط عصاره‌ها دارای اثر حفاظت کبدی در برابر تتراکلریدکربن می‌باشد(۳۱). بررسی‌ها نشان دادند که القاء تتراکلرید کربن به موش‌های صحرایی موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و کاهش پروتئین توتال و آلبومین می‌شود(۱۶). در این تحقیق نیز تجویز تتراکلرید کربن چنین نتایجی را به همراه داشت. علت عمده بروز چنین حالتی به خاطر ایجاد روند التهاب و بروز نکروز در بافت کبدی عنوان شده است(۱۷). گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیب‌های محافظت کننده مانع بروز چنین آسیبی در بافت کبد می‌گردند. گیاه حرا دارای انواع فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، موسیلاژ و تانن‌ها می‌باشد. همان‌طور که قبلاً بیان شد ترکیب‌های فوق مانع تخریب بافت کبد در برابر سموم شیمیایی از جمله تتراکلرید کربن می‌شوند(۲۷). بنا براین تصور می‌شود که آثار محافظتی بافت کبد که در نتایج این تحقیق آمده است به دلیل ترکیبات موجود در عصاره برگ گیاه حرا باشد. لذا افزایش آلبومین و پروتئین توتال و کاهش بیلیروبین توتال سرم خون و همچنین کاهش فعالیت سرمی‌آنزیم‌های AST،ALT و ALP موش‌های تیمار شده با عصاره برگ گیاه حرا را در این تحقیق می‌توان به وجود ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز موجود در عصاره برگ گیاه حرا مرتبط دانست. عصاره برگ گیاه حرا در بالاترین دوز تزریق شده در روند محافظتی نسبت به دوز های پایین تر با شدت بسیار بیشتری معنی‌دار است. عصاره برگ حرا بعد از مدت چند روز قادر است تا اثرات مخرب تزریقی تتراکلریدکربن را جبران نماید و اثرات محافظت کنندگی خود را به نمایش بگذارد. وجود ترکیب های

آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی موجود در برگ گیاه حرا شاید علت افزایش آلبومین و پروتئین کل در موش‌های درمان شده با عصاره حرا باشد. از دیگر ترکیب‌های مهم در عصاره حرا پلی‌فنول هاست که کاهش اثرات مضر ترکیب‌های اکسیداتیو را رهبری می‌کند و افزایش دهنده آنتی‌اکسیدان‌ها درکبد و خون می‌باشد. از آنجایی که برای بررسی بیشتر علل و عوامل اثرات محافظت کنندگی عصاره برگ گیاه حرا نیاز به انجام آزمایش‌های مولکولی و جداسازی مواد و ترکیب‌های موجود در عصاره می‌باشد و نظر به این که انجام چنین آزمایش‌هایی مستلزم داشتن امکانات و تجهیزات پیشرفته‌ای می‌باشد، لذا محدودیت‌های تورش در این زمینه موجب بروز اشکالاتی خواهد بود که تفسیر نتایج را با مشکلاتی همراه خواهد کرد. بنابراین، پیگیری و تکمیل آزمایش‌ها با استفاده از روش‌های سنجش مولکولی و همچنین تنوع در بافت‌های مختلف بدن پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

بررسی حاضر نشان داد که عصاره تهیه شده از برگ گیاه حرا به دلیل دارا بودن آنتی‌اکسیدان‌ها، موجب تخفیف آسیب کبدی القاء شده به وسیله تتراکلرید کربن شده و به صورت معنی‌داری تمامی شاخص‌های آسیب بافتی را بهبود می‌بخشد. عصاره گیاه حرا احتمالاً با مهار برهم کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های آزاد ناشی از تتراکلرید کربن که آغاز کننده استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها و تغییرات مولکولی هستند و همچنین با سرکوب روند التهاب بافتی در کبد، اثرات حفاظت کنندگی خود در کبد را اعمال می‌کند.

تقدیر و تشکر

این پژوهش حاصل پایان نامه کارشناسی رشته زیست شناسی، گرایش فیزیولوژی جانوری می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد.

REFERENCES

1.Mokhtari M, Shariati M, Khodaparast L. Hepatoprotective effect of Menthapulegium aqua-ethanolic leaf extract in rats. Jurnal of Medical University of Sabzevar 2008;15(2(48)): 73-81.
2.Oyagbemi A, Odetola AA, Oyagbemi A, Odetola L. Hepatoprotective effects of ethanolic extract of Cnidoscolusaconitifolius on paracetamol-induced hepatic damage in rats. Pakistan Journal of Biological Science 2010; 13(4): 164-9.
3.Koriem KM, Farrag AR, Badawy MA, El-Toumy SA. Role of some Egyptian medicinal plants against liver and kidney toxicity induced by cadmium chloride. Toxicol Mech Methods 2009; 19(8): 524-34.
4.Rudnicki M, Silveira MM, Pereira TV, Oliveira MR, Reginatto FH, Dal-Pizzol F, et al. Protective effects of Passifloraalataextractpretreatmentoncarbontetrachlorideinducedoxidativedamage in rats. Food Chem Toxicol 2007; 45(4): 656-61.
5.Mohamadi Bordbari A, GhaziKhonsari M. The study of antioxidant effect of Captopril on liver mitochondr y induced with Parakurat in rat. Journal of Medical University of Kerman 2005; 13(3): 132-40.
6.Asgari A, Jafari M. Effect of Paraxon on antioxidant and Peroxidation lipid on liver of rat. Journal of Guilan University of Medical Sciences 2010;19(75): 77-83.
7.Ramachandran P, Iredale JP. Liver fibrosis a bidirectional model of fibrogensis and resolution. QJM 2012; 105(9): 813-81.
8.Marino GM. N-acetyl cysteine prevents carbontetrachloride-induced liver cirrhosis, role of liver transforming growth factor-beta and oxidative stress. EuropeanJournal of Gastroenterology & Hepatology 2008; 21: 908-14.
9.Ha BJ, Lee JY. TheEffect of Chonderitin Sulfate against CCL4-induced Hepatotoxidcity. Biol Pharm Bull 2003; 26: 622-6.
10.Mohajeri D, Dustar Y, Rezaei A, MesgariAbasi M. Hepatoprotective effect of Saffron ethanolic extract induced with Rifampin in comparision with silimarin in rat. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences 2010; 12(5): 53-9.
11.ManjunathaB K, Vidya SM. HepatoprotectiveActivity of Vitextrifolia against Carbon Tetrachloride-induced Hepatic Damage. Indian J PharmSci 2008; 70(2): 241–5.
12.Ezhilarasan D, Karthikeyan S, Vivekanandan P. Ameliorative effect of silibininagainst N-nitrosodimethylamine-inducedhepatic fibrosis in rats. Environ Toxicol Pharmacol 2012; (12): 106-8.
13.Mokhtari M, Shariati M, Khodaparast L, Hepatoprotective effect of Menthapulegium aqua-ethanolic leaf extract in rats. Jurnal of Medical University of Sabzevar 2008; 15(2(48)): 73-81.
14.Gengaihi SE, Hassan EE, Hamed MA, Zahran HG, Mohammed MA. Chemical composition and biological evaluation of Physalisperuviana root as hepato-renal protectiveagent. J Diet Suppl 2013; 10(1): 39-53.
15.VinodPrabhu V, Guruvayoorappan C. Phytochemical screening of methanolic extract of mangrove Avicennia marina (Forssk.) Vierh Pelagia Research Library Der Pharmacia Sinica 2012; 3 (1): 64-70.
16.Afzal M, Mehdi FS, AbbasiFida M, Ahmad H, Masood R. Efficacy of Avicennia marina (Forsk.) Vierh. leaves extracts against some atmospheric fungi. African Journal of Biotechnology 2011; 10(52): 10790-1094.
17.Taherzadeh M, Zandi K, Yaghobi R, Tajbakhsh S, Rastian Z. Antiviral activity of Avicennia marina (Forssk.) Vierh.on Poliovirus in cell culture. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2008 ; 24(1): 38-46.
18.Jain R, Monthkantirat O, Tengamnuay P, De-EknamkulW, Avicequinone C. Isolated from Avicennia marina exhibits 5a-reductase-type 1 inhibitory activity using an androgenic alopecia relevant cell-based assay system. Molecules 2014; 19: 6809-21.
19.PakiaLincy M, Paulpriya K, Mohan VR. In vitro antioxidant activity of Avicennia marina (Forssk) vierh pneumatophore (Avicenniaceae). Science Research Reproter 2013; 3(2): 106-14.
20.FathiMoghaddam H, Mokhtari M, Kamaei L, Ahangarpour A. Effects of Avicennia Marina leaves aqueous and hydro alcoholic extract on streptozotocin-induced diabetic male rats. Rafsanjan University of Medical Sciences 2011; 10(4): 245-54.
21.Rood AS, McGavran PD, Aanenson JW, Till JE. Stochastic estimates of exposure and cáncer risk from carbontetrachloride released to the air from the rockyflats plant. Risk Anal 2001; 21(4): 675–95.
22.Achudume AC, Ogunyemi KE. Effects of the extracts of Pycanthusangolensis against chemically induced acute hepatotoxicity. Pak J Biol Sci 2007; 10(18): 3231-333.
23.Mohan GK, Pallavi E, Ravi Kumar B, Ramesh M, Venkatesh S. Hepatoprotectiveactivity of Ficuscarica Linn leaf extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences 2007; 15(3): 162-6
24.Gaurav L, Hemant S, Kamlesh P, Zeashan H. Hepatoprotective effects of Calotropisgiganteaextract against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. ActaPharmaceutica. Acta Pharmaceutica 2009; 59: 89–96.
25.Sahreen S, Khan M, Khan R. Hepatoprotective effects of methanol extract of Carissa opaca leaves on CCL4-induced damagein rat. BMC Complement Altern Med 2011; 11: 48-53.
26.Bhandari U, Kanojjia, R, Pillai, KK. Effect of ethanolic extract of zingiberofficinale on dylipidaemia in diabetic rate, J Ethnopharmacol 2005; 97(2): 227-30.

27.Barros L, Carvalho A, Ferreira IC. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of Malvasyvesteris: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. Food Chem Toxicol 2012; 48(6):1466-1672.
28.Eidii A, Olamafar S, Zarin ghalam J. The Protective Effect of juglansregia leaves hydroalcoholic extract on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in adult male rats .Jornal of Beheshti University Medical Sciences 2011; 35(2): 87-92.
29.Tabaraki R, Yusefi Z, AsadiGharne H. Chemistry compounds and antioxidant effect of Malva neglecta. Research in Agricultural Scieneces 1391; 86(1): 58-9.
30. Wojdylo A, Oszmiansky J, Czemrys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chem 2007; 105: 940-9.
31.Mirzaii A, Mirzaii N, Miazaii M. The effect of grape seed and pair fruit of acorn extract on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in rats. Journal of Biomedical Medicine Persian Gulf 2011; 14(2): 230-9.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Study Of Hepato Protective Effects Of Avicenniamarina Hydro Ethanolic Leaves Extract In Male Rats Induced With Carbone Tetrachloride

Gholami M, Mirazi N*

Department of Biology, Faculty of basic sciences, BU-AliSinaUniversity, Hamedan, Iran.

Received: 6 Jul 2015 Accepted: 9 Nov 2015

Abstract:

Background & aim: The inflammation and necrosis in hepatocyte causes disorders in liver functions when induced with toxins. Medicinal plants have hepatoprotectivity effects and can inhibit the heptotoxicity progressing in the liver. In this study the hepatoprotectivity effect of *Avicenniamarina* hydro ethanolic leaves extract (AME) were investigated in malerats induced with carbone tetrachloride.

Methods: In this study, 42 male rats with 220-250 gr body weight were divided randomly in 6 groups (n=7): control, sham(taking olive oil, 2ml/kg/day, i.p),witness group(taking carbontetrachloride 1:1 with olive oil,2ml/kg, single dose, i.p) and treatedgroups: (1,2 and3inducedbycarbontetrachloride 1:1 with olive oil, 2ml/kg ,andafter2 hours 200, 400 and 800mg/kg AME /dayfor4 days,i.p).Thecontrolgroup (taking normal saline, 0.5ml/day,i.p). Aftertheexaminationthebloodsampleswerecollectedfromheartdirectly and albumin, total protein, totalbilirobin and liver enzymes wereanalyzed.

Results: Carbon tetrachloride reduced serum albumin and total protein and increased total bilirubin in groups induced with ccl_4 significantly ($P<0.001$). In treated groups serum albumin and total protein increased and total bilirubin decreased compared with witness groups significantly ($P<0.05$). CCl_4 increased ALT, AST and ALP significantly and in treated group reduced significantly($P<0.001$).

Conclusion: The Avicennia marina hydoethanolic extract has antioxidant and flavonoids compounds. These materials could be able to protect the tissues, such as liver tissue, from toxic agentssignificantly.

Key words: Avicennia marina, Albumin, Total protein,Total Bilirubin,carbon tetrachloride, rat

***Corresponding author: Mirazi N**, Department of Biology, Faculty of basic sciences, BU-AliSina University, Hamedan, Iran.
Email: mirazi205@gmail.com

Please cite this article as follows:
Gholami M, Mirazi N. Study Of Hepato Protective Effects Of Avicenniamarina Hydro Ethanolic Leaves Extract In Male Rats Induced With Carbone Tetrachloride. Armaghane-danesh 2016; 20 (10): 858-872.