Iraqi Journal of Science
ISSN: 0067-2904
GIF: 0.851

تأثير المستخلص المائي للشاي الأحمر (*Hibiscus sabdariffa L*) على المعايير الدموية والكرب التأكسدي في ذكور الأرانب البيض (*Oryctolagus cuniculus*).

سؤدُد أسامة الخطيب*

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة الانبار ، الأنبار ، العراق

الخلاصة

صُمِمت هذه الدراسة لمعرفة تأثير مستخلص الشاي الاحمر كمضاد أكسدة في ذكور الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب. وقد استعملت في هذه الدراسة 24 حيواناً من ذكور الارانب البيض Albino rabbits male ، قسمت عشوائياً إلى 4 مجموعات تضمنت كل مجموعة 6 حيوانات وتراوحت أوزانها ما بين 1.5−1 كيلو، وبأوزان متقاربة ، إذ تم معاملاتها بالمعاملات المختلفة طيلة مدة التجربة البالغة 30 يوماً. فقد أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ($P\leq0.05$) في حجم خلايا الدم المرصوصة وقيمة الهيموكلوبين و الصفيحات الدموية مع وجود انخفاض معنوي في عدد كريات الدم الحمر، مع وجود ارتفاع معنوي في العدد الكلي لخلايا الدم البيض و ارتفاعاً معنوياً في النسبة المئوية في عدد خلايا الدم البيض الحبيبية مع وجود ارتفاع في النسبة المئوية لعدد الخلايا اللمفاوية وانخفاضا في النسبة المئوية في عدد الخلايا وحيدة النواة و انخفاضاً معنوياً ($P\leq0.05$) في قيمة الصفائح الدمية في دم الارانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين بـ H_2O_2 عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة. ولوحظ ايضاً بأنّ هناك زيادة معنوية في معاملة الشاي الاحمر بتركيز 125 مع بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في حجم خلايا الدم المرصوصة وقيمة الهيموكلوبين مع وجود ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم الحمر والصفيحات الدموية و النسبة المئوية في العدد الكلي لخلايا الدم البيض الحبيبية ولوحظ كذلك انخفاضاً معنوية ($P\leq0.05$) في النسبة المئوية للخلايا اللمفية ووحيدة الخلية مقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 لوحده . ولم تؤدِّ المعاملة بالمستخلص المائي لوحده ، مستخلص الشاي الاحمر بتركيز 125 ملغم/كغم من وزن الجسم إلى فروق معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة . ولوحظ كذلك إنّ إعطاء المستخلص المائي للشاي الاحمر سبب تحسناً في كمية الهيموكلوبين والمعايير الفسلجية الاخرى من خلال منع تراكم الجذور الحرة للأوكسجين والمحافظة عليها من الأذى الناتج عن بيروكسيد الهيدروجين في جميع المعاملات التي عوملت فيها الارانب بالشاي الاحمر.

Effect of Aqueous Extract of Red Tea (*Hibiscus sabdariffa L*) on Blood Parameters and Oxidative Stress in white rabbits Male (*Oryctolagus cuniculus*)

Su'adod Osama Al-Khateeb*

Department of Biology, College of Education Pure Sciences, Anbar University, Al-Anbar, Iraq

Abstract

This study was designed to investigate the effect of red tea extract antioxidant in male albino rabbits exposed to oxidative stress-induced by hydrogen peroxide with drinking water. Was used in this study, 24 animals from male albino rabbits were randomly divided into four groups, each group included 6 animals ranged between

*Email: soudad_2005o@yahoo.com

1-1.5 kilo weights, weights and close, as were the various transactions to transactions for the duration of the 30-day experiment. The results showed a significant decrease ($P\leq0.05$) in the packed cell volume and the value of hemoglobin and platelets with a significant decrease in the number of red blood cells, with a significant increase in the total number of blood cells eggs and morally rise in the percentage in the number of blood cells white granular with a rise in the percentage of lymphocytes and a decrease in the percentage in the number of single cell nucleus and a significant decrease ($P\leq0.05$) in platelet value in the blood of rabbits treated with hydrogen peroxide to H_2O_2 when compared with a healthy control. Also, it was noted that there was a significant increase in the treatment of red tea a concentration of 125 with hydrogen peroxide H_2O_2 in the size of the packed cell volume and the value of hemoglobin with no significant rise in the number of red blood cells and platelets, and the percentage in the total number of white blood cells granular It was also observed a decrease significantly ($P\leq0.05$) in the percentage of lymphocytes and single cell compared with hydrogen peroxide H_2O_2 group alone. Treatment did not lead to aqueous extract alone, aqueous extract of red tea a concentration of 125 mg / kg of body weight to significant differences compared with the control group. It was also noted that aqueous extract of red tea cause an improvement in the value of hemoglobin and other physiological parameter by preventing the accumulation of free radicals of oxygen and maintain them from harmful effect of hydrogen peroxide in all treatment with red tea.

Keywords: Aqueous extract, Oxidative Stress, Blood Parameters, Rabbits

المقدمة

تعد النباتات الطبية من أهم النباتات التي تستعمل في علاج العديد من الامراض الخطيرة ، و التي تحتوي أجزاؤها كلّها أو بعضها على مركبات فعالة [1]. وقد كانت ومازالت تلك النباتات تؤدي دوراً مهماً في حماية صحة الإنسان [2]. يعد الشاي الاحمر من النباتات العشبية الحولية إذ يتميز بقلة تفرعه ونموه الرأسي [3] ، الجزء المستعمل من النبات هو الأزهار والأوراق وهو معروف بعدة أسماء مثل والغجر والكركدي والحماض الأحمر وهو من الفصيلة الخبازية [4] فله أهمية كبيرة في تحسين الصحة العامة للإنسان إذ يخفض ضغط الدم المرتفع ويزيد من سرعة دوران الدم ويقوى ضربات القلب ويقتل الميكروبات مما يجعله مفيدا في علاج الحميات وعدوى الميكروبات وأوبئة الكوليرا [5] إذ أنه حامضي بطبيعته ومن خواصه أنه مرطب ومنشط للهضم [6].

فضلا عن ذلك فقد بينت الدراسات الحديثة كذلك بان شاي الاحمر يحد من نمو الأورام السرطانية اذ يحتوي على نسبة عالية من فيتامين C و الجوهر الفعال يكمن في وجود أحماض عضويه مثل الماليك و الترتاريك، و جليكوسيد hydrochloride Hibicin وتانين واكسلات الكلسيوم ومواد ملونه [7]. كما انه يحتوي على مواد مطهرة وقاتلة للبكتيريا التي تصيب كثيرا من الأشخاص وقد اوضحت البحوث التي أجريت على أزهاره ان خلاصة هذه الازهار لها تأثيرات فعالة في ابادة ميكروب السل ولديها القدرة على قتل الميكروبات وخاصة لكثير من السلالات البكترية بالإضافة الى بعض الطفيليات [8]. وقد وجد بأنّ أزهار واوراق الكوجرات تهدي من تقلصات الرحم والمعدة والامعاء وتزيل الآمها فهو مفيد بوجه عام لأنه طارد للسموم وبذوره تحوي زيوت دهنيه [9]. تعدُّ الجذور الأوكسجينية والنتروجينية الحرة ذرات لها القابلية على التهيج والفعالية وعدم الاستقرار إذ تكون ذات طاقة عالية شديدة الألفة للتفاعل مع الجزيئات الحيوية في الجسم وتعد المركبات البيولوجية الحية الأهداف الرئيسة لها ولعل أهم هذه الأهداف هي الدهون والبروتينات والأحماض النووية [10] ، إذ انَّ المايتوكوندريا هي المصدر الرئيسي لهذه الجذور الحرة لاسيما أصناف الأوكسجينية الفعالة [11].

تهدف الدراسة إلى البحث في دور المستخلص المائي الشاي الاحمر كمواد وقائية أو مضادة للأكسدة في ذكور الارانب البيض، و قد تمَّ إجراء الاختبارات و المعايير الآتية :

1. اختبار فعالية المستخلص المائي الشاي الاحمر كمضاد للأكسدة في ذكور الارانب البيض المصابة بالإجهاد التأكسدي المستحدث بوساطة بيرو كسيد الهيدروجين 2 % وذلك من خلال قياس فعالية انزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز وتركيز البيروكسي نتريت في مصل الدم .

2. دراسة تأثير الإجهاد التأكسدي المستحدث آنفاً في المعايير الدموية (Haematological test) تقدير خضاب الدم (Hb) و حجم خلايا المرصوصة (PCV) ، العَد الكلي لكريات الدم الحمر (Total count of red blood corpuscles)، العَد الكلي لخلايا الدم البيض (Total count of white blood cells) وعد الصفيحات الدموية (Blood Platelets count) .

المواد وطرق العمل :

جمع النبات وتشخيصه :

تم الحصول على نبات الشاي الاحمر من الأسواق المحلية .

تحضير المستخلص المائي للنبات :

بعد شراء النباتات الخاصة بالدراسة من الأسواق المحلية تم تحويلها إلى مسحوق ناعم باستخدام طاحونة كهربائية ، و من ثم تم وزن 50 غم من المسحوق الجاف ووضعه في اسطوانة مدرجه زجاجية 1000 مل وأضيف إليه الماء المقطر وأكمل الحجم النهائي إلى 1 لتر وترك لمدة نصف ساعة في جهاز الهزاز الأفقي وعلى سرعة متوسطة وبدرجة 35 درجة مئوية وتركت العينات لتستقر، بعدها جرى ترشيحها بثلاث طبقات من الشاش لفصل العوالق الكبيرة ثم باستخدام جهاز الطرد المركزي وعلى سرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة خمس عشرة دقيقة لفصل العوالق الصغيرة، ثم رشح الرائق بورق ترشيح Whatman N. 0.1 بعدها تم تبخير الماء من المستخلصات تحت ضغط واطئ وبدرجة حرارة 40 م مئوية باستخدام جهاز التبخير الدوار Vacuum Evaporatory ثم حفظ المستخلصات بعد تجفيفها في قناني زجاجية معتمة ذات أغطية محكمة وفي ظروف خالية من الرطوبة ، وبهذه الطريقة تم الحصول على مساحيق المستخلص الكلي و حفظها تحت درجة حرارة 8 مْ.

الحيوانات المستعملة في الدراسة:

استعملت ذكور الارانب البيض والتي تم جمع مجموعة من الاناث والذكور من الأسواق المحلية والاهالي و قد تمّ تربيتها وتكاثرها وقد استعملت الارانب التي تمَّ الحصول عليها من عملية التكاثر بعد التأكد من خلوها وسلامتها من الامراض وعدم تعرضها لأي تجريع سابق يضر بنتائج التجربة فضلاً عن عزل جنس الذكور عن جنس الاناث وذلك بملاحظة وجود الاعضاء الذكرية وخاصة (الخصى) للتميز بين الجنسين. بعدها اجريت التجارب عليها فقد تمّ وضعها في أقفاص ذات أغطية بلاستيكية ، واستمرت العناية بنظافة الأقفاص وتعقيمها بمطهر الإيثانول 70 % لمرتين في الأسبوع . تحت ظروف التربية المناسبة من درجة حرارة مقدارها (22±2) مْ ومدة إضاءة كانت (10 ساعات ضوء و 14 ساعة ظلام) طوال مدة التربية والدراسة ، مع تزويدها بالماء و بالعليقة الخاصة بها .

تحديد الجرعة الفعالة :

تم تقسيم الحيوانات المستعملة في هذه التجربة عددها 15 إلى خمسة مجاميع تضم كل مجموعة 3 ارانب وبأوزان تتراوح ما بين (2 –1.5) كيلو غرام ، وقد عوملت كما يأتي:-

المجموعة الأولى عدت مجموعة السيطرة Control group جرعت بالماء المقطر فقط. أما المجاميع (5،4،3،2) فأعطيت المستخلص المائي لنبات الشاي الاحمر عن طريق الفم بوساطة التغذية الأنبوبية بجرعة مفردة مقدارها (75 ، 100 ، 125 ، 150 ملغم / كغم) من وزن الجسم على التوالي. وبعد مرور ثلاث ساعات من التجريع أخذت عينات الدم من المجاميع كافة وذلك عن طريق طعنة القلب، ومن ثم فصل المصل Serum بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة خمس دقائق ، تم بعد ذلك قياس مستوى الكوليسترول في المصل والسكر. وقد وجد ان التركيز 125 هو التركيز الفعال والمناسب لإجراء التجربة. إذ اظهرت الجرعة الفعالة تأثيراً معنوياً في خفض نسبة السكر والكوليسترول على التوالي .

تجربة الدراسة :

استعملت في هذه الدراسة 24 حيواناً من ذكور الارانب البيض(*Oryctolagus cuniculus*) ، قسمت عشوائياً إلى 4 مجموعات تضمنت كل مجموعة 6 حيوانات وتراوحت أوزانها ما بين 1.5–1 كيلو، وبأوزان متقاربة ، إذ تم معاملاتها بالمعاملات المختلفة طيلة مدة التجربة البالغة 30 يوماً وعلى النحو الآتي :

المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة) عوملت هذه المجموعة بـ1مل من الماء المقطر وأعطيت هذه المجموعة ماء الشرب الاعتيادي.

المجموعة الثانية: أعطيت هذه المجموعة ماء الشرب الاعتيادي الحاوي على بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (2 %) مع تجريعها بـ1مل من الماء المقطر.

المجموعة الثالثة: جرعت يوميا بالمستخلص المائي للشاي الاحمر فقط بتركيز 125 ملغم / كغم من وزن الجسم بوساطة التغذية الأنبوبية.

المجموعة الرابعة: أعطيت ماء الشرب الاعتيادي الحاوي على بيروكسيد الهيدروجين مع تجريعها يوميا من المستخلص المائي الشاي الاحمر بتركيز 125 ملغم / كغم من وزن الجسم بوساطة التغذية الأنبوبية. مع تبديل (2 %) بيروكسيد الهيدروجين كل 48 ساعة لكي يكون فعالا

الفحوصات الدموية :-

1. **قياس حجم الخلايا المرصوصة (PCV):** قياس حجم الخلايا المرصوصة باستخدام الانابيب الشعرية وجهاز الطرد المركزي الدموي بسرعة (12000 دورة/ دقيقة) لمدة خمس دقائق وحددت النتائج من خلال المسطرة الخاصة بالجهاز [12].
2. **تقدير كمية الهيموكلوبين:** وذلك بقسمة حجم خلايا الدم المضغوطة على 3.3 بوصف إن الهيموكلوبين يمثل 1/3 حجم كرية الدم الحمراء[13] . وحسب القانون التالي :
3. $\text{Hb} = \frac{\text{PCV (value)}}{3.3} = \text{g/l}$. هذا بالنسبة لمجموعة السيطرة السليمة أما في المجاميع الاخرى المعرضة للإجهاد التأكسدي وللمستخلص المائي فقد استعملت طريقة ساهلي لأنها تعرضت للإجهاد التأكسدي فمن الافضل عدم الحساب بالمعادلة السابقة الذكر زيادة في الدقة.
4. **حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض:** حسب العدد الكلي لخلايا الدم البيض/ المليميتر المكعب الواحد من الدم باستعمال شريحة عد خلايا الدم Haemocytometer وخفف الدم بمحلول تُرك .Turk's solution [14]
5. **التعداد الكلي لكريات الدم الحمر:** تمَّ حساب عدد خلايا الدم (كريات الدم الحمر)، في الحيوانات السليمة والمصابة باستخدام شريحة العد أو ما يسمى بالهيموسايتوميتر Hemacytometer ، لاستنتاج عدد خلايا الدم تعتمد على عامل التخفيف والمساحة وحجم الحجرة التي جرى داخلها عد الخلايا.[15]
6. **قياس معدل الصفيحات الدموية:** تمَّ قياس معدل الصفيحات الدموية باستعمال محلول الصفيحات الدموية واستعملت شريحة العد المناسبة حسب طريقة [16] .
7. **تقدير تركيز البيروكسي نتريت في مصل الدم:** تم تقدير تركيز جذر بيروكسي نتريت Peroxy nitrite radical باستخدام الطريقة المحورة [17]. يتم قياس شدة الامتصاص عند 412 نانوميتر .
8. **تقدير فعالية الكلوتاثايون بيروكسيديز في مصل الدم:** تمَّ التقدير حسب طريقة[18].

الحصول على المصل:

وبعد استمرار التجربة لمدة 30 يوماً ، جوعت الحيوانات لمدة 24 ساعة ثم خدرت بوساطة الكلوروفورم و وضعت في أطباق التشريح ، بعدها تم سحب الدم من القلب وتم جمع الدم في أنابيب اختبار حاوية على مانع التخثر وأخرى خالية من مانع التخثر ومن ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة وتم حفظ المصل بدرجة $^{-}$ 20 مْ لغرض إجراء التحليلات الكيمياوية الخاصة تقدير تركيز البيروكسي نتريت و الكلوتاثايون بيروكسيديز في مصل الدم .

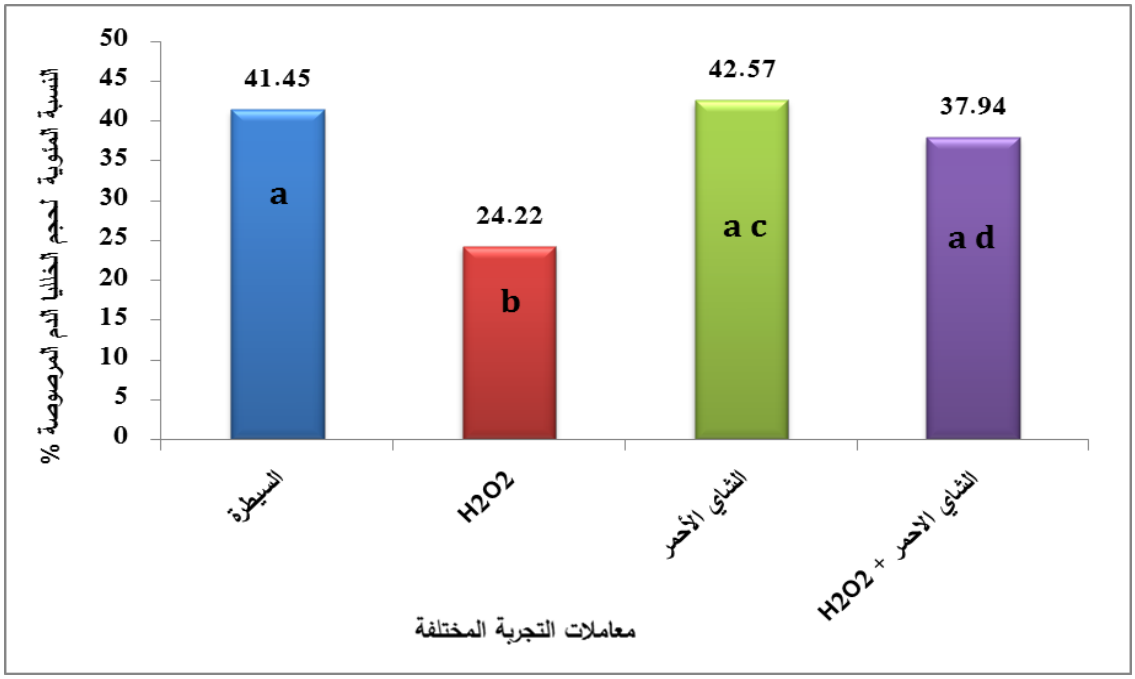
التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج إحصائيا بوساطة البرنامج الإحصائي SPSS حللت البيانات إحصائيا وفق اختبار تحليل التباين (ANOVA) باستخدام البرنامج الإحصائي وقورنت المتوسطات الحسابية باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan Multiple Range وتحت مستوى معنوية ($P\leq0.05$). [19].

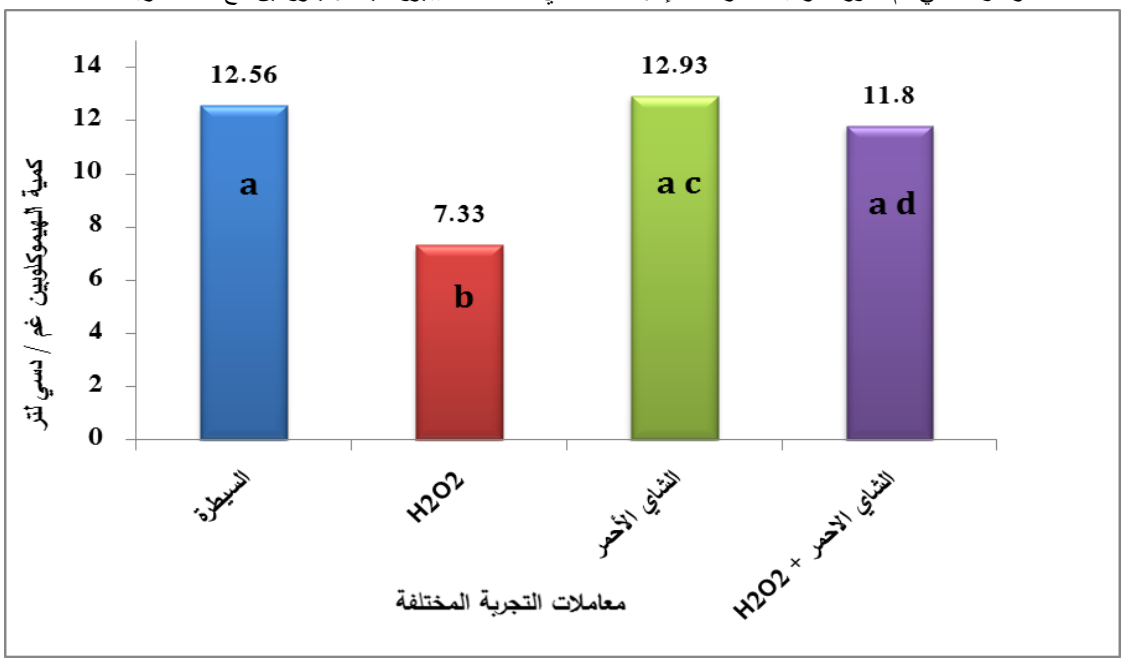
النتائج والمناقشة :

تأثير المعاملات المختلفة في النسبة المئوية لحجم خلايا الدم المرصوصة وتركيز الهيموكلوبين في دم ذكور الارانب البيض السليمة والمصابة بالإجهاد التأكسدي:

أظهرت النتائج في الشكل (1) و(2) انخفاضاً معنوياً ($P\leq0.05$) في حجم خلايا الدم المرصوصة و قيمة الهيموكلوبين في مصل دم الارانب البيض المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة . ولوحظ بأنّ هناك زيادة معنوية في معاملتي الشاي الاحمر مع البيروكسيد الهيدروجين مقارنة مع مجموعة H_2O_2. ولم تؤدِّ المعاملة بالمستخلص المائي لوحده ، مستخلص الشاي الاحمر بتركيز 125 ملغم/كغم من وزن الجسم إلى فروق معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة .



الشكل 1– تأثير المعاملة في المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم من وزن الجسم) لمدة (30 يوماً) في حجم الكريات الدم المرصوصة في دم ذكور الأرانب المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين مع ماء الشرب.



الشكل 2– تأثير المعاملة في المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم من وزن الجسم)، لمدة (30 يوماً) في كمية الهيموكلوبين في دم ذكور الارانب المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (2%) مع ماء الشرب.

- **عدد الحيوانات ستة لكل مجموعة.**
- **القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي.**
- **الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية ($P\leq0.05$)**

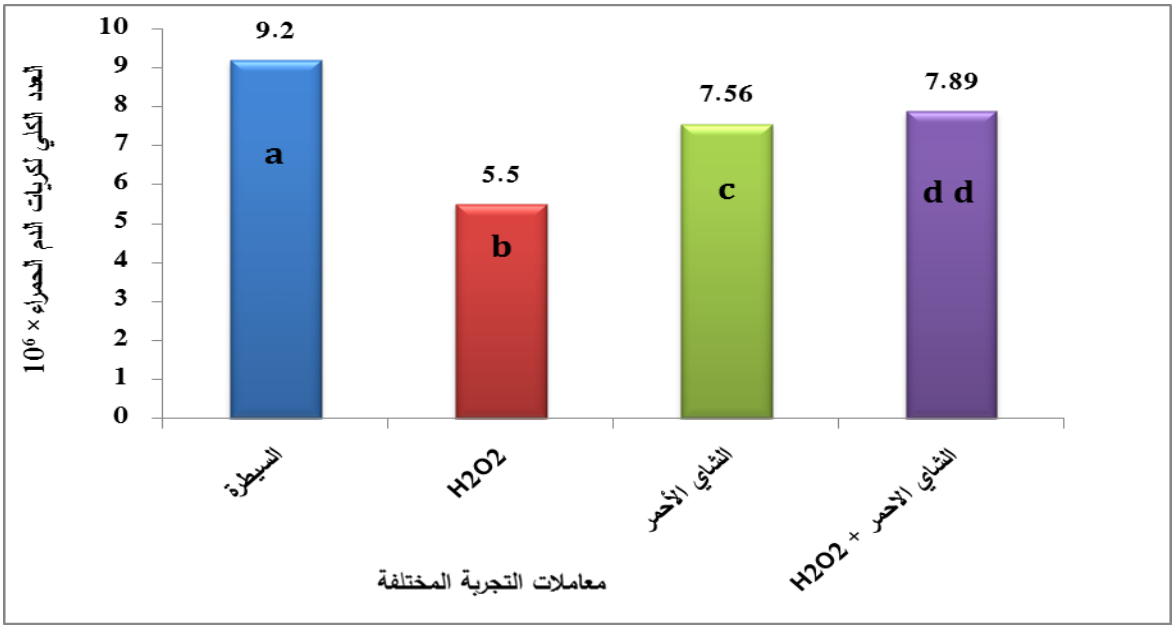
أوضحت نتائج الدراسة الحالية بأنّ الإجهاد التأكسدي الذي يسببه بيروكسيد الهيدروجين في ذكور الارانب البيض أدى إلى انخفاض في كمية الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوصة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . ويعزى هذا الانخفاض إلى تولد الجذور الحرة والتي تهاجم أغشية كريات الدم الحمر وتحطمها وتقوم بأكسدة الدهون المكونة لها [20]. وإنّ بيروكسدة الدهون في هذه الأغشية الخلوية لخلايا الدم الحمر ينجم عنها تحلل الأحماض الدهنية غير المشبعة بوساطة سلسلة من التفاعلات لتكوين المالونداياالدهايد

MDA الذي يعكس حالة زيادة توليد الجذور الحرة والكرب التأكسدي[21] ، وبالتالي تلف السلسلة الببتيدية لبروتين الهيموكلوبين وتوليد أواصر ثنائية الكبريت وتحلل خلايا الدم الحمر [22].

لقد أظهرت معاملة الشاي الاحمر مع بيروكسيد الهيدروجين زيادة معنوية في كمية الهيموكلوبين وحجم الكريات الدم المرصوصة وقد يكون السبب في ذلك أنّ الشاي الاحمر غني بعنصر الحديد [23] والذي يدخل في تركيب الهيموكلوبين مما أدى إلى حدوث تحسن في كمية الهيموكلوبين وفي حجم الكريات المرصوصة وهذا يعني التقليل من التأثير الضار لأصناف الأوكسجين الفعالة وحماية الكريات من الأذى ألتأكسدي فضلاً عن احتواء المستخلص المائي للشاي الأحمر على الفلافونويدات التي تعمل كمضادات للأكسدة وقد تعمل هذه المركبات الفعالة الموجودة في النبات إلى تنشيط إنزيمات أغشية كريات الدم الحمر وعدم اكسدتها في ذكور الارانب البيض المعاملة ببيروكسيد الهايدروجين مما يؤدي بدوره إلى المحافظة على حجم الكريات وضغطها الأزموزي ويقلل من تحلل كريات الدم أو يرجع السبب إلى دور المواد الفعّالة الموجودة فيها كموانع للتأكسد لاحتوائها على مواد منشطة تنشط الأنزيمات المهمة التي لها دور في تقليل الكرب التأكسدي داخل جسم الكائن الحي [24] .

العدد الكلي لكريات الدم الحُمر :

أظهرت النتائج في الشكل (3) وجود انخفاض معنوي في عدد كريات الدم الحمر في المجموعة المعاملة بـ H_2O_2 ، مقارنة مع مجموعة السيطرة. وزيادة معنوية في معاملة الشاي الاحمر 125 مع H_2O_2 مقارنة مع مجموعة البيروكسيد الهيدروجين. كذلك لوحظ وجود زيادة معنوية في مجموعة السيطرة السليمة مقارنة مع الشاي الاحمر.



الشكل 3– تأثير المعاملة لمدة في المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم من وزن الجسم) لمدة (30 يوماً)، في عدد كريات الدم الحمر في دم ذكور الارانب المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (2%) مع ماء الشرب.

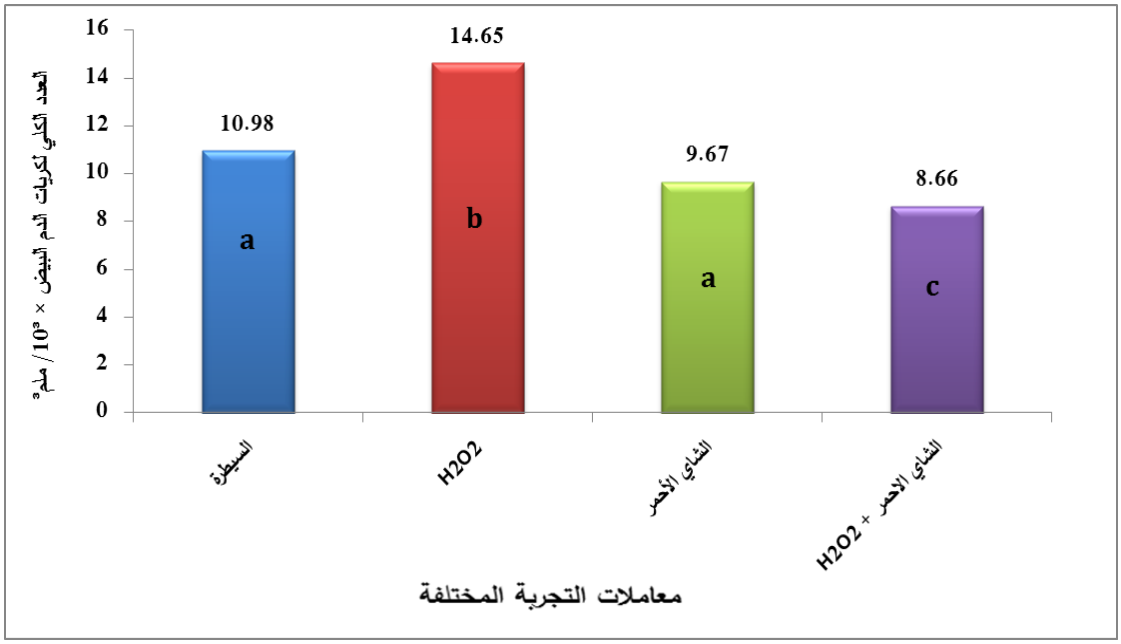
- **عدد الحيوانات ستة لكل مجموعة.**
- **القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي.**
- **الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية ($P\leq0.05$)**

إن تعرض كريات الدم الحمر إلى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 قد أدى إلى حدوث تأثيرات سلبية عليها كتكسرها بسبب الضرر التأكسدي ، والذي يكون عادة بتأثير الجذور الحرة التي تنتج بشكل كبير، والذي يصيب غشاء هذه الكريات وأكسدة الدهون المكونة لها، ومن ثم زيادة بيروكسدة الدهن واستنزاف كبير للمواد المؤكسدة محدثة نقصان في مرونة الغشاء مما يؤدي إلى قصر حياتها وهذا يؤدي إلى سهولة تكسرها عند مرورها خلال الشعيرات الدموية [25] . فلقد لوحظ أنّ هناك زيادة معنوية في معاملة المستخلص المائي للشاي الاحمر 125 مع H_2O_2 مقارنة مع مجموعة البيروكسيد و يرجع ذلك إلى أنّ المستخلص أظهر فعّالية مضادة للأكسدة من خلال عمل المواد الفعالة ومن ضمنها الفلافونات ومركبات أخرى والتي تعد كاسحة للجذور الحرة ومساعدة جميع الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم الكتاليز، والكلوتاثايون بيروكسيديز وزيادة الكلوتاثايون في الخلية وهذه الإنزيمات تعمل على منع الآثار الضارة

والسامة لبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 [26] . وهذا يؤكد الدور الإيجابي الذي يلعبه الفيتامين C في التقليل من التأثير التأكسدي الضار للجذور الحرة على أغشية كريات الدم الحمر[27] . كما يعود السبب إلى اهمية فيتامين C في عملية امتصاص الحديد داخل الجسم حيث يؤدي إلى اختزال الحديد الثلاثي التكافؤ (Fe^{+3}) إلى الحديد الثنائي التكافؤ (Fe^{+2}) إذ إنّ الأخير يعد أكثر امتصاصا[28] . كما يعمل فيتامين C على حماية أغشية كريات الدم الحمر وذلك بزيادة الأحماض الدهنية غير المشبعة Unsaturated fatty acid في الدهون الفوسفاتية المكونة لأغشية كريات الدم الحمر [29] . اذ يلعب فيتامين C دوراً في خفض تراكيز جذر (ONOO·) من خلال فعاليته كمضاد للأكسدة إذ يعمل على إزالة الجذور الحرة ($O_2^{-}\cdot$ ، $^1O_2$ ، OH·) وإعادة فعالية بعض مضادات الأكسدة كبعض الفيتامينات التي لها القابلية على منح الكترون لكي يرتبط مع جذر الاوكسجين المفرد واوكسيد النتريك ويحولها دون ارتباطهما معا وتكوين جذر البيروكسي نتريت $ONOO^-$ وان للخواص الكيميائية لفيتامين C تسمح له بالتفاعل مع جذر الاوكسجين والهيدروكسيل والذي له اهمية كبيرة في منع الضرر الحاصل في اغشية كريات الدم الحمر[31,30] . اما بالنسبة الى معاملة الشاي الأحمر لوحده فقد وجد عد وجود زيادة ملحوظة مقارنة بالسيطرة السليمة

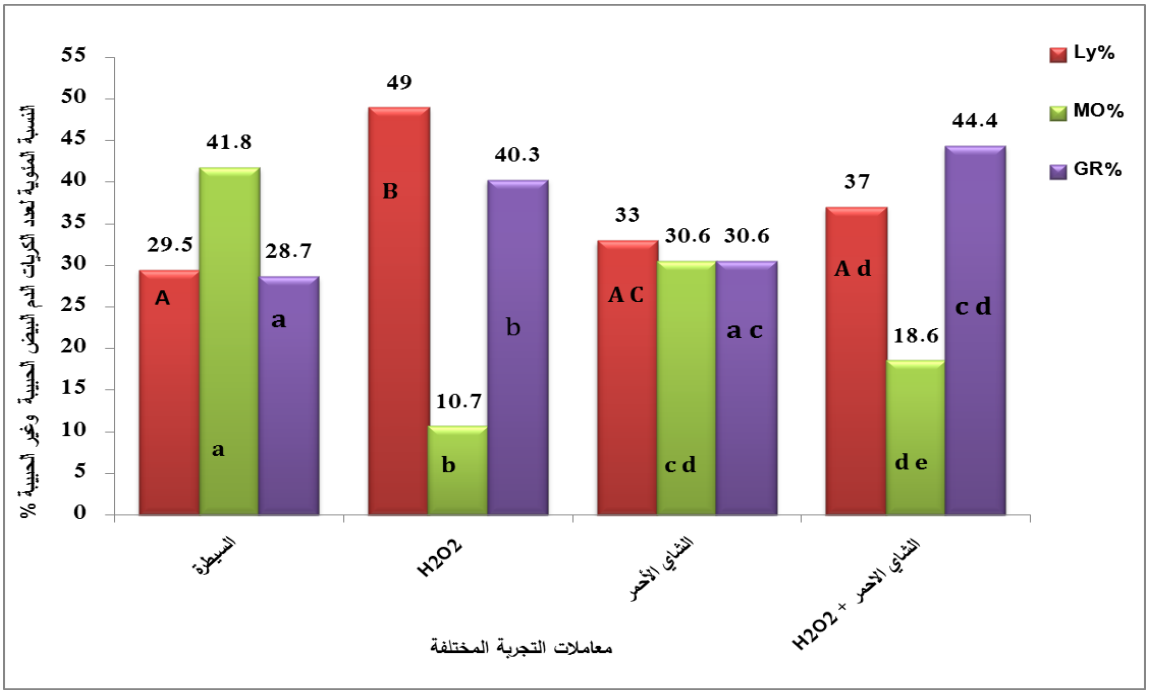
دراسة تأثير المعاملات المختلفة في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض :

تبين النتائج في الشكل (4) و(5) وجود ارتفاع معنوي في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في العدد الكلي لخلايا الدم البيض و ارتفاعاً معنوياً في النسبة المئوية عدد كريات الدم البيض الحبيبية مع وجود ارتفاع في النسبة المئوية لعدد الخلايا اللمفاوية وانخفاضا في النسبة المئوية في عدد الخلايا وحيدة النواة في دم ذكور الارانب المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين (2%) مع ماء الشرب لمدة 30 يوماً مقارنة بمجموعة السيطرة.



الشكل 4– تأثير المعاملة في المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم وزن الجسم) لمدة (30 يوماً) في العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء في دم ذكور الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (2%) مع ماء الشرب.

- **عدد الحيوانات ستة لكل مجموعة.**
- **القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي.**
- **الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية ($P\leq0.05$)**



الشكل 5– تأثير المعاملة في المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم وزن الجسم) لمدة (30 يوماً) في النسبة المئوية لخلايا الدم البيضاء الحبيبية العدلة وغير الحبيبية اللمفوسايت والمونوسايت في دم ذكور الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (2%) مع ماء الشرب.

- **عدد الحيوانات ستة لكل مجموعة.**
- **القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي.**
- **الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية ($P\leq0.05$)**

كذلك نلاحظ انخفاض معنوي في مجموعة الشاي الاحمر **125** ملغم / كغم مع البيروكسيد H_2O_2 في العدد الكلي لخلايا الدم البيض وانخفاضاً في النسبة المئوية لوحيدة النواة والخلايا اللمفية مع ارتفاع في النسبة المئوية للخلايا الحبيبية في مجموعة الشاي الاحمر مع H_2O_2 مقارنة مع مجموعة البيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 لوحده .

إن هذا الارتفاع في العدد الكلي لخلايا الدم البيض رافقه زيادة في العدد التفريقي لأنواع الكريات البيض بشكل عام في المجموعة المعاملة بـ (H_2O_2 فقط) مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة إذ هناك زيادة خاصة في أعداد الخلايا اللمفية مما يشير إلى إن التأثير الفعال لـH_2O_2 قد سبب في تحفيز الجهاز المناعي لتكوين الخلايا الدفاعية وهو ما تمثل في زيادة العدد الكلي لخلايا الدم البيض بشكل عام والزيادة الملحوظة في الخلايا اللمفية بشكل خاص [32]. وقد أشارت العديد من البحوث إلى إن انخفاض نسبة البروتين في الجسم في الحيوان المعرض للإجهاد التأكسدي قد يتسبب عن انخفاض كمية الأنسولين و زيادة السكر في سوائل الجسم قد يؤدي الى زيادة في نمو الأحياء المجهرية مما قد يسبب في ارتفاع أعداد الخلايا الدفاعية في الجسم المجهد [33].

الزيادة المعنوية الحاصلة في العدد الكلي لخلايا الدم البيض في الأرانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ربما تعزى إلى زيادة الخلايا اللمفاوية نتيجة لتحسس الجهاز المناعي بيروكسيد الهيدروجين بالدم [34] . فضلا عن دور H_2O_2 في المشاركة في تفاعل فنتون Fenton reaction بوجود العناصر الانتقالية وهذا يقود الى تكوين المزيد من الجذور الحرة وخاصة جذر $OH^{\cdot}$ وهذه الجذور تحفز الحالة الالتهابية وتحفز الجهاز المناعي بشكل كبير [35] . ويعتقد إن الارتفاع في العدد الكلي لخلايا الدم البيض يمكن أن يكون سبباً في زيادة سرعة انجذاب هذه الخلايا من نخاع العظم ومن ثمّ زيادة إنتاج هذه الخلايا فيه ، أو قد يحفز الغدد اللمفاوية المسؤولة عن نضج الخلايا اللمفاوية ، ومن ثمّ زيادة أعدادها في مجرى الدم [36] .

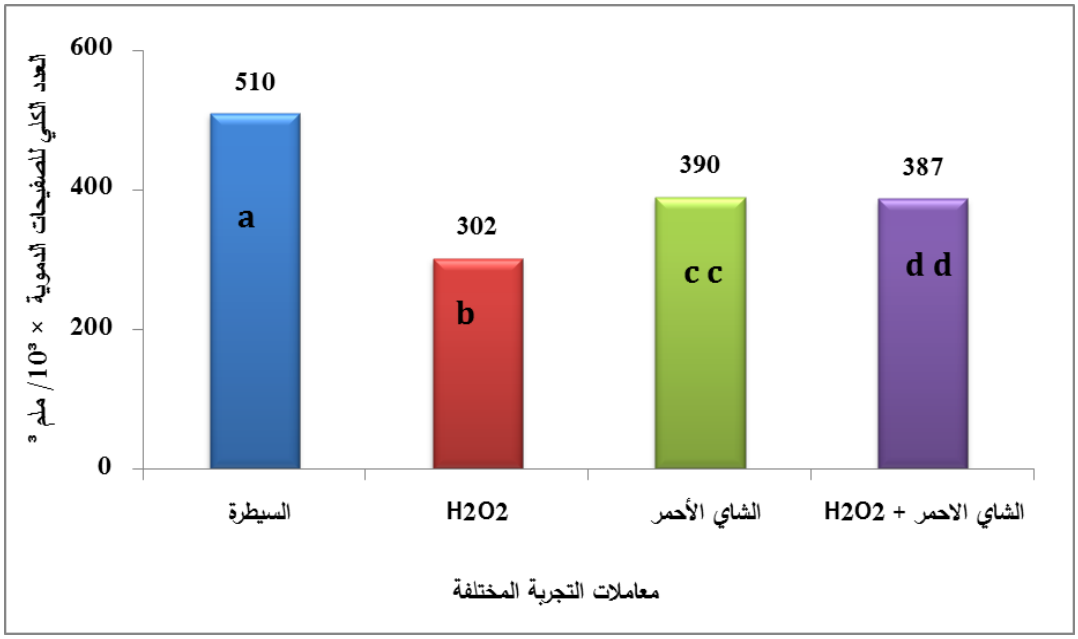
أما بالنسبة الى إعطاء المستخلص الشاي الاحمر للحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين فأظهرت النتائج إن إعطاء مستخلص الشاي الاحمر أدى إلى انخفاض معنوي في العدد الكلي لخلايا الدم البيض مقارنة بالمجموعة المعاملة بـ(H_2O_2 فقط) وهذا يعود إلى احتواء مستخلص الشاي الاحمر على مركبات الفلافونويدات و غيرها من المكونات المهمة التي تعمل كمضادات للأكسدة وتقلل من

التأثير الضار للجذور الحرة [37]. أما تأثير فيتامين C الموجود ضمن مكونات الشاي الاحمر فله دور حيوي في خفض العدد الكلي لخلايا الدم البيض وذلك قد يعود الى لدوره المضاد للأكسدة إذ يعمل على إزالة الجذور الحرة مثل (H_2O_2 ، $O_2^{-}\cdot$ ، $OH\cdot$) وبهذا يمنع تحطيم الاغشية الخلوية ويقلل من بيروكسيدة الدهون Lipid Peroxidation وبالتالي يخفض من الحالة الالتهابية وعدد (WBCs) الناتجة عنها[38] .

أشارت النتائج في هذه الدراسة إلى حصول انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في النسبة المئوية للخلايا الأحادية لمجموعة الحيوانات المعاملة الشاي الاحمر مقارنةً بمجموعة السيطرة ، وقد يعزى السبب إلى تأثير على عملية تكوين هذه الخلايا في نخاع العظم ، إذ تتأثر عملية انقسام هذه الخلايا ، أو قد تتوقف بنسبة معينة، وقد يعود السبب أيضاً إلى فعالية الكبد العالية في إزالة سمية البيروكسيد الهيدروجين بوساطة خلايا كوبر (Kupffer Cells) لتصبح خلايا بلعمية ، وإنَّ زيادة إزالة السمية لهذا البيروكسيد يعني زيادة موت هذه الخلايا نتيجة فعاليتها العالية وامتلاء فجواتها بالمركبات الناتجة من أيض البيروكسيد [39].

العدد الكلي للصفيحات الدموية:

أظهرت النتائج في الشكل (6) انخفاضاً معنوياً ($P\leq0.05$) في قيمة الصفائح الدمية في دم الأرانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين المصابة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة . وكذلك لوحظ وجود زيادة معنوية ($P\leq0.05$) عند معاملة المجموعة المصابة بالإجهاد التأكسدي بالمستخلص المائي للشاي الاحمر بتركيز 125 ملغم ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بمجموعة البيروكسيد .



الشكل 6- تأثير المعاملة لمدة المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم وزن الجسم) لمدة (30 يوماً) في عدد الصفيحات الدموية في ذكور الارانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (2%) مع ماء الشرب.

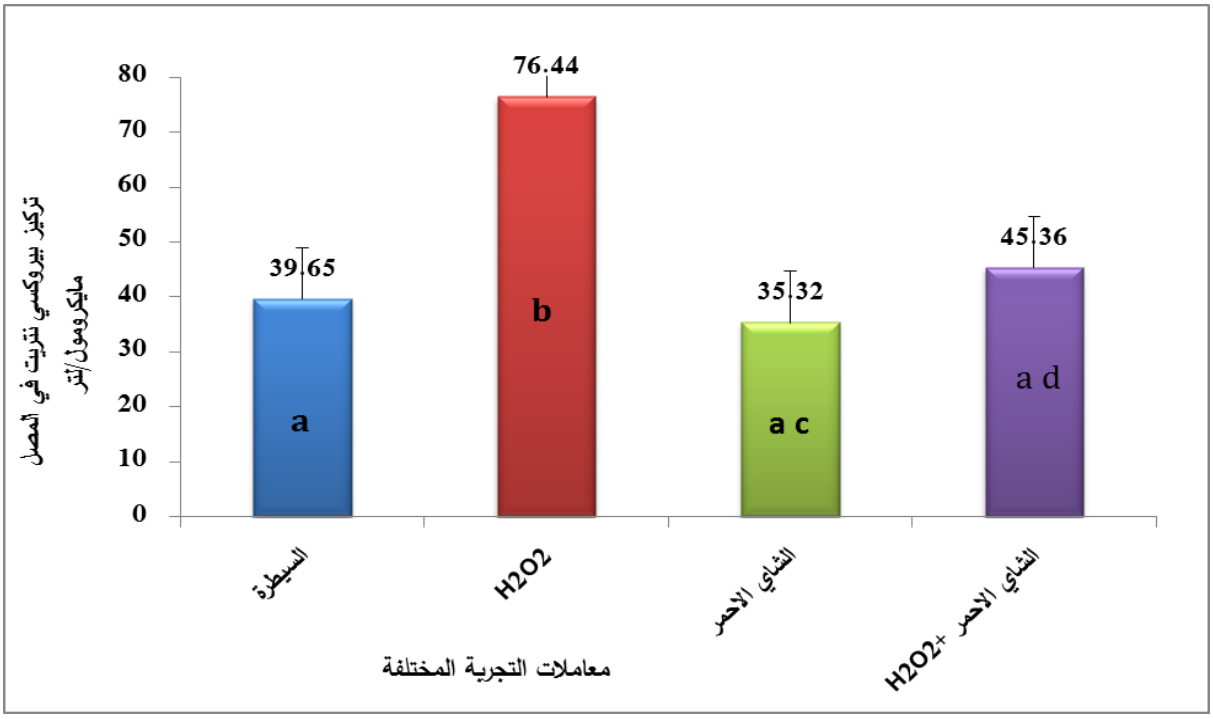
- **عدد الحيوانات ستة لكل مجموعة.**
- **القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي.**
- **الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية ($P\leq0.05$)**

تعد الصفيحات الدموية Blood platelets أقراص بروتوبلازمية صغيرة عديمة اللون ليس لها أنوية يبلغ حجمها ربع حجم خلية الدم الحمراء [40]. قد يعزى سبب انخفاض هذه الصفيحات في معاملة البيروكسيد الى نقصان العامل المسيطر على إنتاج الصفائح الدموية ، الذي يدعى الثرمبوبيوتين ، أو مولد الليفين (Thrombopoietin) ، والذي يعمل على زيادة الخلايا العملاقة في نخاع العظم [41]. وتنشا الصفيحات على شكل قطع بروتوبلازمية تنفصل عن خلايا عملاقة تدعى بالخلايا النّواء Megakaryocytes والتي توجد في نقي العظم الأحمر ، تنشأ ايضاً من ارومة الخلايا الدموية وذلك بازدياد حجمها وبالانقسامات الخيطية المتكررة للنواة بدون انقسام السايتوبلازم وان اي خلل يصيب الخلايا العملاقة او يصيب نفي العظم او الكبد او الطحال يؤدي الى اضطرابات في

عدد الصفيحات الدموية و على قابليتها في الالتصاق مع بعضها في ايقاف النزف [42]. اما في حالة المعاملة بالشاي الأحمر(125 ملغم/كغم وزن الجسم) مع البيروكسيد فقد ادى الى زيادة ملحوظة في عدد الفصيحات الدموية مقارنة بمعاملة البيروكسيد لوحده ، وهذا يؤكد الدور المهم الذي تلعبه المركبات ذات الفعلية البيولوجية كمضادة لأكسدة والجذور الحرة الضارة مما تسبب في زيادة الخلايا العملاقة وبالتالي زيادة إنتاج الصفائح الدموية السوية على حساب الصفائح الدموية غير السوية [43] .

تأثير المعاملات المختلفة في مستوى تركيز البيروكسي نتريت $ONOO^-$ في مصل دم الأرانب البيض السليمة والمصابة بالإجهاد التأكسدي :

يوضح الشكل (7) وجود زيادة معنوية ($P\leq0.05$) في مجموعة الارانب البيض المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في تركيز جذر البيروكسي نتريت عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة. ومن خلال الشكل نستطيع ملاحظة انخفاض معنوي عند مستوى معنوية ($P\leq0.05$) في مجموعة ببيروكسيد الهيدروجين المعاملة بالمستخلص المائي للشاي الاحمر(125 ملغم/كغم وزن الجسم) عند المقارنة مع مجموعة الارانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين اذ يتكون جذر البيروكسي نتريت $ONOO^-$ من اتحاد جذر الاوكسجين الذري مع اوكسيد النتريك ويعد هذا التفاعل هو السبب الرئيسي لتكون اصناف النتروجين الفعالة (RNS) [44] ، ويعزى سبب ارتفاع تركيز البيروكسي نتريت $ONOO^-$ ارتفاعا معنويا الى الاجهاد التأكسدي الناجم عنه تولد جذر الاوكسجين الحر الذي يبقى نشطا ويبحث عن الكترون مفرد لكي يرتبط معه ويستقر فيؤدي الى ارتباط جذر الاوكسجين المفرد مع اوكسيد النتريك مكونا جذر البيروكسي نتريت $ONOO^-$ في بلازما الدم ويزداد نسبته في العضلات الهيكلية المعرضة للتلف التأكسدي [45] وعند اعطاء المستخلص المائي للشاي الاحمر(125 ملغم/كغم وزن الجسم) في الذكور الارانب ادى الى احداث انخفاض معنوي في تركيز جذر البيروكسي نتريت $ONOO^-$ وهذا دلالة على ان المكونات الفعالة الموجودة في المستخلص المائي للشاي الاحمر(125 ملغم/كغم وزن الجسم) لها القابلية على منح الكترون لكي يرتبط مع جذر الاوكسجين المفرد واوكسيد النتريك ويحولها دون ارتباطهما معا وتكوين جذر البيروكسي نتريت $ONOO^-$ وله اهمية كبيرة ادت الى منع الضرر الحاصل في اغشية كريات الدم الحمر [46]. كما أن نقصان تراكيز مضادات الأكسدة الإنزيمية في بلازما الدم وخاصة إنزيمات الكتاليز وسوبرأوكساید دسميوتيز (SOD) في التعرض للإجهاد التأكسدي تؤدي إلى زيادة معدلات تكوين جذر($ONOO^\cdot$) [47]. إذ أن زيادة تركيز جذر($ONOO^\cdot$) وأنواع اخرى من الجذور الحرة في حالة التعرض لـ H_2O_2 تسبب حالات التهابية والتي تؤدي إلى زيادة تحرر السايتوكينات وهذه الاخيرة تعمل على تثبيط فعالية الإنسولين في الخلايا وقد تؤدي إلى تطور داء السكر[48]. وقد يعود سبب هذا الانخفاض في تركيز جذر البيروكسي نتريت ($ONOO^\cdot$) إلى الفينولات المتعددة ، والفلافونيدات وكذلك الكلايكوسيدات وفيتامين C التي تمتاز بفعاليتها في التحطيم المباشرة لجذر($ONOO^\cdot$) وجذر($O_2^{-\cdot}$) ، كما تقوم بإزاحة غير مباشرة لـ ($ONOO^\cdot$) من خلال تحفيز الإنزيمات المضادة للأكسدة ورفع تراكيزها في داخل الجسم وخاصة إنزيمي الكتاليز وسوبرأوكساید دسميوتيز(SOD) ، إذ يعمل إنزيم(SOD) بالتنافس مع أوكسيد النتريك(NO) على الارتباط بجذر السوبرأوكساید السالب ($O_2^{-\cdot}$) وينتج عن هذا التفاعل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 الذي يتم إزالته بوساطة إنزيم الكتاليز[49] .



الشكل 7– تأثير المعاملة لمدة المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم وزن الجسم) لمدة (30 يوماً) في مستوى تركيز البيروكسي نتريت $ONOO^-$ في مصل الدم الأرانب البيض السليمة والمصابة بالإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (2%) مع ماء الشرب.

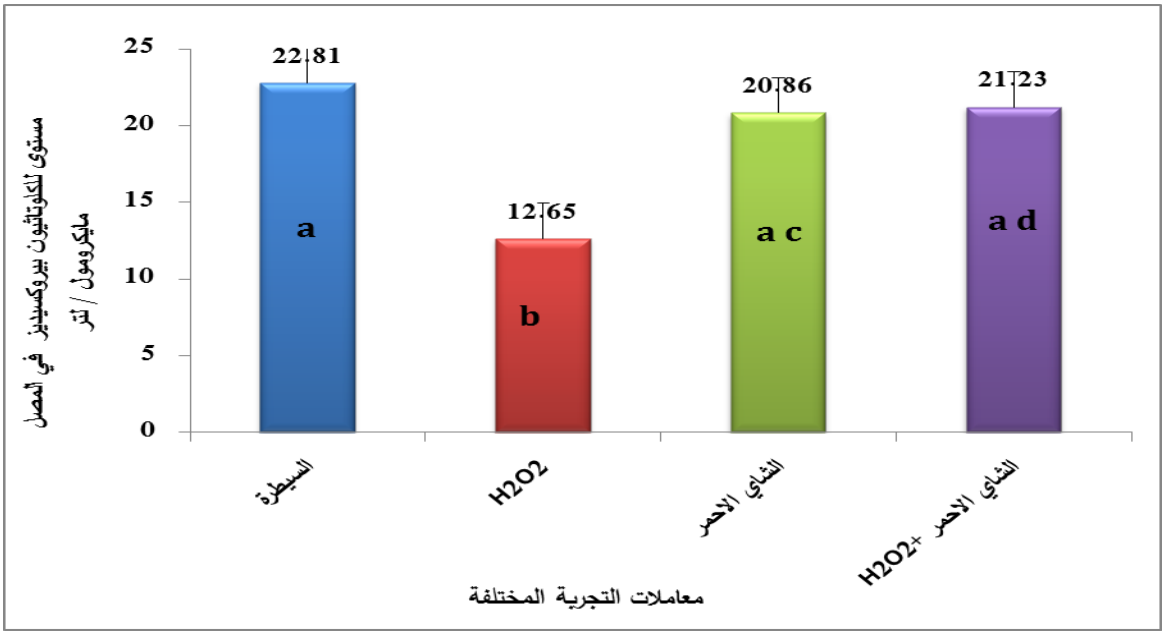
- **عدد الحيوانات ستة لكل مجموعة.**
- **القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي.**
- **الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية ($P\leq0.05$)**

تأثير المعاملات المختلفة في مستوى تركيز انزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز في مصل دم الأرانب البيض السليمة والمصابة بالإجهاد التأكسدي :

لقد وجد انخفاض معنوي في فعالية إنزيم كلوتاثايون بيروكسيديز في مصل دم مجموعة المعاملة ب H_2O_2 مقارنة بمجموعة السيطرة كما الشكل (8). وقد يعزى السبب إلى زيادة الكرب التأكسدي الذي يؤدي إلى خفض فعالية الإنزيمات المانعة للتأكسد أو قد يعود السبب إلى انخفاض مستوى الكلوتاثايون كما مبين أعلاه والتي تعد مادة الأساس للإنزيم كلوتاثايون بيروكسيديز [50] .

يعد انزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز من مضادات الاكسدة الانزيمية حيث يقوم بحماية الاغشية البايولوجية وبقية مكونات الخلية من ضرر الاكسدة ، حيث يقوم بدور اساسي في ازالة جذر البيروكسيل ($POO^{\cdot}$) من مختلف البيروكسيدات لاسيما بيروكسيد الهيدروجين H2O2 مكونا الكلوتاثايون ريدكتيز (Glutathion reductase) حيث يعمل الكلوتاثايون بيروكسيديز كواهب للإلكترون [51] وان الاجهاد التأكسدي يؤدي الى بيروكسدة الدهن وتولد الجذور الحرة وبما ان انزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز يقوم بالدفاع عن اغشية الخلايا ومكوناته من ضرر الاكسدة عن طريق وهب إلالكترون فانه يؤدي الى استنزافه وانخفاض نسبته [52].

وعند اعطاء المستخلص المائي للشاي الاحمر(125 ملغم/كغم وزن الجسم) أدى الى حدوث ارتفاع معنوي $P\leq0.05$ في مستوى الكلوتاثايون بيروكسيديز مقارنة بمجموعة البيروكسيد لوحده . ويعزى سبب ذلك الى انَّ الشاي الاحمر قد يحتوي على مركبات الفينولات المتعددة فضلا عن الايونات كالحديد والبوتاسيوم والزيوت العطرية المختلفة التي تعدُّ من المواد المعززة لتصنيع السيلينيوم المركب الاساسي والفعال في تركيب انزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز وبالتالي يزداد نسبة انتاجه وكذلك يعزى الى كون المركبات الفعالة المكونة للشاي الاحمر من المواد المضادة للأكسدة الواهبة للإلكترون والذي يتفاعل مع الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل والاوكسجين الذري وبالتالي تمنع اثره المضر للخلايا والانسجة المختلفة [53]



الشكل 8– تأثير المعاملة لمدة المستخلص المائي للشاي الاحمر (125 ملغم/كغم وزن الجسم) لمدة (30 يوماً) في فعالية انزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز في مصل دم ذكور الارانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (2 %) مع ماء الشرب

- **عدد الحيوانات ستة لكل مجموعة.**
- **القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي.**
- **الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية ($P\leq0.05$)**

المصادر

1. قدري، زهراء حسين محمد. **2002**. بعض التأثيرات المناعية للأوراق الكأسية لشاي كوجارات في الفئران البيض. رسالة ماجستير مقدمة إلى مجلس كلية التربية (ابن الهيثم ، جامعة بغداد).

2. جميل محمد سعيد، معد عبد الكريم البدي، أركان برع محمد .**2011**. *تأثير إضافة المستخلص المائي لأزهار الشاي الاحمر الكجرات (Roselle flower (Hibiscus sabdariffa L. الى ماء الشرب على الاداء الانتاجي و الفسلجي لفروج اللحم* مجلة *جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد* 11 العدد 1 .

3. Esa N. M., Hern F.S., Ismail A., and Yee C. L. **2010**. Antioxidant activity in different parts of roselle (Hibiscus sabdariffa L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry Volume*, 122: 1055-1060

4. Tsai, P.J. Pi-Jen, John M. J., Philip P. P., Blake C. B., Brian B.R., Jordan R. **2002** . Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) extract. *Food Research International*, 35: 351-356

5. Akindahunsi, A. A. and Olalye M.T. **2003**. Toxicological investigation of aqueous methanolic extract of the calyces of Hibscus sabdariffa L.*J.Ethnopharmacoli*, 89(1):161-164.

6. Ceriello,A., Mcrcuri,F., Quagliar,L., Assaloni,R., Motz,E., Tonutti, L. and Taboga,C. **2001**. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*, 44(7): 834-838.

7. Akindahunsi, A. A. and Olalye M.T. **2003**. Toxicological investigation of aqueous methanoli extract of the calyces of Hibscus sabdariffa L. *J.Ethnopharma coli*, 89(1):161-164.

8. Osuntogun, B. and O. O.Aboaba, **2004**. Microbiological and physico-chemica evaluation of some non-alcoholic beverages. *Pakistan J. Nutr*. 3(3):188-192.

9. Oboh, G. and C. A. Elusiyan. **2004**. Nutrient composition and antimicrobial activity of sorrel drinks 9soborodo. *J. Med. Food*, 793:340-342.

10. Aoshima, H., Hirata, S. and Ayahe, S. **2007.** An ntioxidative and anti-hydrogen peroxide activities of various herbal Teas. *Food Chem.*, 103:617-622.

11. Alhazza,I. M. **2007**. Antioxidant and hypolipidemic effects of olive oil in normal and diabetic male rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 14(1): 69-74.

12. Lewis, S. Bain J. and Bates I. **2001**. *Practical hematology*. 9th Edn, Chapter 3, Elsevier, pp. 19 – 41 .
13. T. Baker, F. and E. Silverton, R. **1976**. *Introduction to medical laboratory technology*. 5th Edn., Elsevier London, ISBN, V: 407 pp: 519 – 532.
14. Brown, B. A**. 1976**. *Hematology: principle and proceds*.2nd Edn. Lea and Febiger. Philadelphia
15. Sood, R. **1985**. *Hematology for studen and practitioners*. India Jappe brothers , pp:243 – 320
16. (WHO)World Health Organization. **1989.** Preventing and controlling iron deficiency anemia through primary health care
17. Hillman, R. S. and Ault, K. A. **2002**. *Hematology in clinical practice*.3rd Edn. McGraw- Hill Company.
18. Vanuffelen B. E., Van D. J., Dekoster B.M. **1998**. *Biochem.J*.330-719.cited by Al-Zamely eta **2001**.
19. عبد الجبار ، قيس ناجي . **2002**. *أصول الإحصاء والطرق الإحصائية* . الطبعة الأولى. دار المناهج للنشر والتوزيع . الأردن
20. Ani, E. J., Nna V. U., Okon U. A., Ekpenyong C. E. **2014**. Effect of Aloe vera gel on thermoxidized palm oil-induced derangements in some haematological and biochemical parameters. *Der Pharmacia Lettre*, 6(6): 448-452.
21. Fucile C, Marini V, Zuccoli ML *et al*. **2013.** HPLC determination of malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: application in patients with alcohol dependence. *Clin Lab*, 59: 837-841
22. Paiva-Martins, F., Fernandes, J., Rocha, S., Nascimento,H., Vitorino, R., Amado,F., Borges,F., Belo,L. and Santos-Silva, A**. 2009 .** Effects of olive oil polyphenols on erythrocyte oxidative damage. Mol Nutr.*Food Res*, 53: 609-616.
23. Kwari, I.D., Igwebuike, J.U., Mohammed I.D. and Diarra, S. S. **2011**. Growth, haematology and serum chemistry of broiler chickens fed raw or differently processed sorrel (Hibiscus sabdariffa) seed meal in a semi-arid environment. *I.J.S.N.*, 2(1): 22-27.
24. F.O. Finkelstein, P. Juergensen, S. Wang, S. Santacroce, M. Levine, P. Kotanko, N.W. Levin, G. J. Handelman **2011**: Hemoglobin and plasma vitamin C levels in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 31, 74-79
25. Takac I, Schröder K, Zhang L, Lardy B, Anilkumar N, Lambeth JD, Shah AM, Morel F, Brandes RP. **2011**. The E-loop is involved in hydrogen peroxide formation by the NADPH oxidase Nox4. *J Biol Chem*. 286:13304–13313.
26. Arbos K. A., Claro L. M., Borges L., Santos C. A., Weffort-Santos A. M. **2008.** Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutr Res*, 28:457-63.
27. Thrall, M.A. and Weiser, M.G. **2002.** *Haematology*. In: Hendrix CM (Ed.) Laboratory Procedures for Veterinary Technicians. Fourth Edition. Mosby Inc. St. Louis, Missouri, pp: 29 – 74.
28. Adegoke, O. A., Bamigbowu, E. O., and Ayodele, M. B. O. **2011**. Effect of sugar on some heamatological parameters in albino rats fed with petroleum contaminated diet. *International Journal of Applied Biological Research*, 3(1), 90-99.
29. Paiva-Martins,F., Fernandes,J., Rocha, S., Nascimento,H., Vitorino, R., Amado,F., Borges,F., Belo,L. and Santos-Silva, A. **2009**. Effects of olive oil polyphenols on erythrocyte oxidative damage. Mol Nutr.*Food Res*, 53: 609-616.
30. Radi R, Cassina A, Hodara R, Quijano C, Castro L. **2002**. *Peroxynitrite reactions and formation in mitochondria*. Free Radic Biol Med 33: 1451-64.
31. Rizvi SI, Pandey KB, Jha R, Maurya PK, **2009.** Ascorbate recycling by erythrocytes during aging in humans. *Rejuvenation Res,*12:3-6
32. Bauters, A., Ennezat, P.V., Tricot, O., Lallemant, R., Aumegeat, V.,Segrestin, B., Quandalle, P., Lamblin, N., Bauters, C., **2007**. Relation of admission white blood cell count to left ventricular remodeling after anterior wall acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol*. 100, 182–184.
33. Lanig, S., Anna, R., Robert, W. and Enid, L. **2008.** Human blood neutrophil Response to prolonged exercise with or without a thermal clamp. *J. Applied Phys.*, 104 (7):20-26.

34. Di Tomo P, Canali R, Ciavardelli D, *et al*. **2012.** b-Carotene and lycopene affect endothelial response to TNF-a reducing nitro-oxidative stress and interaction with monocytes. *Mol Nutr Food Res*, 56, 217–227.

35. Hsu W. L., Tatukawa Y., Nerishi K., Michiko Y., Cologne J. and Fujiwara S. **2010**. Longitudinal trends of total white blood Cell and differential white blood cell counts of atomic bomb survivors. *J. Radiat. Res.*, 51: 431–439

36. Vazquz-Agell, M., Urpi-Sarda, M., Sacanella, E. and Camino, S. **2011.** Coco Consumption reduce NF-kB activation in peripheral blood Mononuclear cells in humans. Nutr. Metab. Cardio. *Dis. Sci. Direct*, 3(15): 1-7.

37. Sharma R, Panwar K, Mogra S. **2012**. Effects of prenatal and neonatal exposure to lead on white blood cells in Swiss mice .*Journal of Cell and Molecular Biology*., 10(1), , 33-40.

38. Tariq SA. **2007**. Role of Ascorbic Acid in Scavenging Free Radicals and Lead Toxicity from Bio Systems. *Molecular Biotechnology*, 37 (1): 62-65

39. Chlopicki S, Olszanecki R, Janiszewski M, Laurindo FR, Panz T, MiedzobrodzkiJ. **2004.** Functional role of NADPH oxidase in activation of platelets. *Antioxid Redox Signal*. 6:691–698.

40. Bakdash N., Williams M. S. **2008**. Spatially distinct production of reactive oxygen species regulates platelet activation. *Free Radic Biol Med.*, 45:158–166.

41. Jin RC, Mahoney CE, Coleman Anderson L, Ottaviano F, Croce K, Leopold JA, Zhang YY, Tang SS, Handy DE, Loscalzo J. **2011**. Glutathione peroxidase- deficiency promotes platelet-dependent thrombosis in vivo.*Circulation*., 123:1963–1973.

42. Ferroni P, Vazzana N, Riondino S, Cuccurullo C, Guadagni F, Davı, G. **2012.** Platelet function in health and disease: from molecular mechanisms, redox considerations to novel therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*, 17(10):1447–1485.

43. Anjana, G., Krishna, K., Joginder, D. and Karan, P. **2010.** Inhibitory effect of seabuckthorn on platelet Aggregation an oxidative stress. *J. Complement. Integr, med*., 7 (1): 144-149 .

44. Hermsdorff HH, Barbosa KB, Volp AC, *et al*. **2012.** Vitamin C and fiber consumption from fruits and vegetables improves oxidative stress markers in healthy young adults. *Br J Nutr*, 107, 1119–1127.

45. Aoshima, H., S. Hirata and S. Ayahe. **2007**. An ntioxidative and anti-hydrogen peroxide activities of various herbal Teas. *Food Chem*., 103-:617-622 .

46. Pacher,P., Obrosova,I. J., Mabley,J. G. and Szabo,C. **2005**. Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications,Emerging new therapeutical strategies. *Curr Med Chem*, 12: 267-275.

47. Virag, L.E., Szabo,E., Bakondi ,P., Bai , P., Gergely , J ., Hunyadi, and Szabo, C. **2002**. Nitric oxide peroxinitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in the skin. *Exp Dermatol*. 11:189-202

48. Ferdinandy,P. **2006**. Peroxynitrite: Just an oxidative/nitrosative stressor or a physiological regulator as well. *Br J Pharmacol*, 148: 1-3.

49. Leyva, J.F; Acosta, L.A. Muraira, I.G Espino, H. Cervantes, F. and Gonzalez, I. **2008**. Multiple shoot regeneration of Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) from a shoot apex culture system. *International J. of Botany*, 4(3):326-330.

50. Cerriello , A. Mcrcuri , F. Quagliar,L. Assaloni ,R.Motz,E. Tonutti ,L. and Taboge, C. **2001** *Diabetologia*.44(7):834-838.

51. Blankenberg, S. Rupprecht, J. Bickel, C. Torzewski, M. Gerd Hafner, G. Tiret, L. Smieja, M. Cambien, F. Meyer, J. Lackner, K. **2003**. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl. J. Med*., 349:1605-1613.

52. Pasupathi, H. Rao, Y. Farook, J. **2009**. Oxidative stress and cardiac biomarkers in patients with acute myocardial infarction. *Eur. J. Sci. Res*., 27 (2), 275-285.

53. Wang, C. J., Wang, J. M., Lin, W. L., Chu, C.Y, Chau, F. P. and Tseng, T. H. **2000**. Protective Effect of Hibiscus and Thocyanins, *Food Chem. Toxicol.*, 38, p:411