

تأثير المستخلص الكحولي لقلف نبات الصفصاف على بعض المعايير
الدمية والكيموحيوية في أنثى الجرذان البيض
احسان ريسان ابراهيم* هاشم محمد العلق** ايناس محمد مجهول*
*قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة القادسية
** قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة القادسية

Effect of alcoholic extract of *Salix acmophylla* bark on some hematological and biochemical parameters in female rats

Ihsan.R.Ibrahim* Hashem.M.AL-alak** Ennas .M. Majhwol *

* University of AL-qadisiya / College of Education /
Dpartment of Biology

** University of AL-qadisiya / College of Science / Dpartment
of Biology

الخلاصة

استهدفت الدراسة الحالية تحديد بعض المعايير الدمية والكيموحيوية لأنثى الجرذان
البيض جرّاء المعاملة بتركيزات مختلفة من المستخلص الكحولي لقلف الصفصاف
تمت دراسة تأثير تراكيز تصاعديّة من المستخلص الكحولي لقلف الصفصاف لمدة
أربع دورات شبق متتالية ، إذ تم تقسيم 30 من أنثى الجرذان البيض البالغة (3.5-4)
أشهر إلى 6 مجاميع متساوية العدد بعد أن تم التأكد من انتظام دوراتها الشبقية ،
تمثلت بمجموعة السيطرة (C) التي حقنت داخل البريتون بالمحلول الملحي
الفسولوجي (0.9 NaCl %) ، ومثلت المجموعة الأولى (G1) التي حقنت داخل
البريتون بالمستخلص الكحولي لقلف الصفصاف بتركيز 0.85 ملغم / كغم من
وزن الجسم والمجموعة الثانية (G2) التي حقنت داخل البريتون بالمستخلص
الكحولي بتركيز 1.7 ملغم / كغم من وزن الجسم ، والمجموعة الثالثة (G3) التي
حقنت بتركيز 3.4 ملغم / كغم من وزن الجسم ، أما المجموعة الرابعة (G4)
فحقنت بتركيز 6.8 ملغم / كغم من وزن الجسم ، والمجموعة الخامسة بتركيز
13.6 ملغم / كغم من وزن الجسم .

وبعد انتهاء مدة التجربة الأولى (16 يوم) تم قياس معايير الدم التي تضمنت تركيز
خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص والعدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض ،
وتمت دراسة بعض المكونات الكيموحيوية في مصل الدم التي اشتملت على قياس
تركيز البروتين الكلي وتركيز الكولسترول الكلي (TC) والكليسيريدات الثلاثية
، البروتين الدهني واطى الكثافة (LDL-C) وقد أدت التراكيز المتصاعدة من
المستخلص الكحولي لقلف الصفصاف إلى النتائج الآتية :

- 1- انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تراكيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص .
- 2- انخفاض معنوي ($P<0.05$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض ونسبة الخلايا العدلة
والوحيدة ، قابلها ارتفاع معنوي ($P<0.5$) في نسبة الخلايا اللمفية والحمضه ، لا
سيما في التراكيز العالية من المستخلص .
- 3 - انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي ($P<0.05$) قابلها ارتفاع معنوي
($P<0.05$) مستوى الكولسترول الكلي (TC) ، والكليسيريدات الثلاثية (TG) ،
وكولسترول البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL-C) وكولسترول واطى الكثافة
(LDL-C) في مصل الدم في المجاميع المعاملة بالتراكيز العالية من المستخلص
(6.8 و 13.6 ملغم/كغم من وزن الجسم).

Summary :

The present study aimed to some of hematological and biochemical parameters in the female albino rats of exposing to different concentration of ethanolic extract of *Salix acmophylla*.

Thus (30) animals of mature female rats were divided into six groups, the rats were proven fertile after checking their estrus cycle through daily vaginal smearing for two cycles, the represented control group which intraperitoneal injection with physiological solution (0.9 %/ NaCl), the first represented (G1) which injected with ethanolic extract concentration (0.85 mg/ kg) of the body weight, the second represented (G2) which injected with ethanolic extract concentration (1.7 mg/ kg) of the body weight , The third represented (G3) which injected with ethanolic extract concentration (3.4 mg/ kg), the four represented (G4) which injected with concentration (6.8 mg / kg) of the body weight, and the five concentration (13.6 mg / kg) of the body weight.

After finishing the period of the experiment. Samples of blood were collected to determine some hematological and biochemical parameters ,hematological parameters which included the haemoglobin concentration (Hb), packed cells volume (P. C. V.), total and differential white blood cells (W.B.C.) w biochemical parameters included measurement of the total protein concentration, triglyceride (TG), concentration of the high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and concentration of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C)

,The increasing concentration of alcoholic extract resulted to :

- 1- Significant decrease ($p<0.05$) of Hb concentration and packed cells volume (PCV).
- 2- Significant decrease ($p<0.05$) of total WBC count, neutrophils and monocytes count, besides significant increase ($p<0.05$) of Lymphocytes, and eosinophil count.
- 3- Significant decrease ($p<0.05$) of serum total protein, significant increase ($p<0.05$) of cholesterol concentration , Triglyceride, and HDL-C, LDL-C in serum of the high concentration of alcoholic extract.

المقدمة Introduction

يُعد الصفصاف من النباتات ذات الأهمية الطبية لاحتوائه على مركبات فعالة كثيرة أهمها الفينولات والفلافونويدات والكلايكوسيدات ، وكذلك يعد المصدر الرئيس لمادة الساليسين. (Krivoy *et al.* , 2001) . الجزء النباتي المستخدم هو قلف الصفصاف cortex salicis وذلك لأهميته الطبية (سعدو جماعته، 1988) حيث يحتوي القلف على تانين Tanin و (9.5 – 11 %) سالييسين salicin . (Schmid , 1998) يستعمل الصفصاف في تخفيف الآلام المصاحبة لالتهاب المفاصل العظمي وتليف العضلات. (Chrubasik&Kunzel,2001) إن قلف الصفصاف يستعمل

لتقليل الآلام الناجمة عن المغص الكلوي والمجاري البولية كما يستعمل كمقوي ومعرق وخافض للحرارة ومسكن للألام. (Singh *et al.*, 2008) كما يعد الصفصاف أفضل العلاجات للروماتيزم والتهاب المفاصل الحاد ، فضلاً عن أنه يمنع الانتكاسه وعودة المرض لاسيما مع نوبة الملاريا Malariabuts. (Mitton & Mitton, 1976) أشارت دراسة سابقة قام بها Saleem و Sultana (2004) أن استعمال الصفصاف بجرعة 0.5 و 1.5 ملغم/كغم من وزن الجسم له أهمية كبيرة في تقليل الاجهاد التأكسدي Oxidative stress وذلك لاحتواءه على المواد الفينولية والفلافونديه بوصفها مواد مضادة للأكسدة و في دراسة قام بها Han (2003) ذكر إن لمستخلص أوراق الصفصاف فعل مضاد للسمنة Anti-obesity في القوارض المعاملة بغذاء عالي الدهون وأن المستخلص قلل معنوياً من محتوى كولسترول الكبد الكلي. يعمل مستخلص القلف كمضاد للورم anti tumor في الخلايا من خلال تدمير DNA أو تأثيره على غشاء الخلية أو دنتر البروتينات Protein denaturation (El-Shemy *et al.*, 2007) ذكرت الجلبي (2004) إن حامض الساليسيك سبب انخفاض معنوي لكلوكوز الدم في الجرذان المعاملة به أشار Vlachojannis وجماعته إن المستخلص المائي للقلف يستعمل كقابض ومُدرّر ويسكن ألم القلب في الذبحة الصدرية وألم التهاب الحنجرة واللوزتي يفضل استعمال الصفصاف على الأسبرين لقلة التأثيرات الجانبية واحتوائه على مواد فعالة أخرى مثل التانينات والفلافونويدات والفينولات والكلايكوسيدات . (Asano *et al.*, 1986) كما وجد الطائي وجماعته (1983) إن الاستعمال طويل المدى للأسبرين له تأثيرات جانبية منها طنين الأذن والدوار والغثيان وتلف في الغشاء المخاطي المعدي واسوداد الغائط. أشار Laurance وجماعته (1997) إن استعمال جرعات عالية لفترة طويلة من الاسبيرين يسبب فقدان الدم ولو بكميات قليلة وربما يسبب القرحة المعدية. إلا أن الجرعة العالية من قلف الصفصاف ولمدة طويلة تسبب نزيفاً في القناة الهضمية واضطرابات في وظائف الكبد أو تليف الكلية (Claudia, 2003)، وينصح بعدم اعطائه للمرأة الحامل والمرضع ولمن يعانون من التحسس للأسبرين ومن لديهم قرحة معدية أو للمصابين بأمراض القلب المختلفة (Fetrow & Avila, 2000) .

المواد وطرائق العمل : Materials and Methods

تم الحصول على نبات الصفصاف المستخدم في الدراسة من بساتين قضاء الشامية ، إذ تم جمع الأغصان الصغيرة والفنية من الأشجار وذلك لوفرة المادة الفعالة في تلك الأجزاء من النبات وكان ذلك في بداية شهر نيسان. فُصل القلف عن أجزاء النبات ، إذ يعتبر الجزء الطبي المستعمل من النبات ، ثم جفف في الظل وكان ذلك في غرفة فيها تهوية. (Al-Rawi & Chakravarty, 1964) وطحنت الأجزاء الجافة من القلف بإستعمال مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق القلف .تم تحضير مستخلص المذيب العضوي (الكحول الأيثلي تركيز 95% لقلف نبات الصفصاف وفقاً لـ Ladd (1978) و Nassem وجماعته (1998) . أخذ 20 غم من المادة المجففة لقلف الصفصاف وتم استخلاص المواد منها بالتتابع بجهاز الاستخلاص المتتابع Soxhlet extractor في 200 مل من المذيب الأيثانول 95% لمدة 24 ساعة . بعد ذلك تم تركيز المادة المستخلصة بالمixer الدوار بدرجة حرارة 40-45 م° ، بعدها أذيب 2غم من المادة المستخلصة الجافة في 10 مل بالماء المقطر للحصول على محلول أصلي Stock solution تركيزه 0.2 غم/مل وكررت هذه العملية مرات متعددة حقنت إناث الحيوانات بمستخلص قلف الصفصاف وبالتركيزات المختلفة وهي في طور ما قبل الشيق ، وكان الحقن داخل البريتون intrapretonial injection مرة واحدة يومياً ولأربع دورات شيق متتالية للتعرف على انتظام الدورة الشبقية في إناث الجرذان البيض المستعملة في تجارب هذه

الدراسة ، أخذت مسحات مهبلية يومياً من جدار المهبل بوساطة ناقل معدني Loop معقم

تصميم التجارب:

- قسمت إناث الجرذان عشوائياً إلى المجاميع الآتية

1 - **مجموعة السيطرة C:** حُقنت الحيوانات بـ 0.1 مل من المحلول الملحي الفسيولوجي مرة واحدة يومياً

2- **مجموعة المعاملة الأولى G 1:** حُقنت الحيوانات بـ 0.1 مل من المستخلص الايثانولي 95% لقلف الصفصاف بتركيز 0.85 ملغم/كغم من وزن الجسم مرة واحدة يومياً .

3- **مجموعة المعاملة الثانية G 2:** حُقنت الحيوانات بـ 0.1 مل من المستخلص الايثانولي للقلف بتركيز 1.7 ملغم/كغم من وزن الجسم مرة واحدة يومياً.

4- **مجموعة المعاملة الثالثة G 3 :** حُقنت الحيوانات بـ 0.1 مل من المستخلص الايثانولي للقلف بتركيز 3.4 ملغم/كغم من وزن الجسم مرة واحدة يومياً.

5- **مجموعة المعاملة الرابعة G 4:** حُقنت الحيوانات بـ 0.1 مل من المستخلص الايثانولي للقلف بتركيز 6.8 ملغم/كغم من وزن الجسم مرة واحدة يومياً.

6- **مجموعة المعاملة الخامسة G 5:** حُقنت الحيوانات بـ 0.1 مل من المستخلص الايثانولي بتركيز 13.6 ملغم/كغم من وزن الجسم مرة واحدة يومياً.

بدأت عملية التضحية بالإناث بعد انتهاء أربع دورات شيق متتالية تم فيها حقن إناث الجرذان بالتراكيز المختلفة لمستخلص قلف الصفصاف. إذ تم في البداية قياس أوزان الحيوانات ثم حُدرت بتعريضها لاستنشاق مادة الكلوروفورم سُحب الدم من القلب مباشرة بوساطة طعنة القلب Heart puncture ، بعد سحب الدم وضعت كمية منه ومقدارها 2 مل في أنابيب لاحتوي على مادة مانعة للتخثر في وضع مائل لمدة 30 دقيقة بعدها وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة بسرعة 3000دورة/دقيقة. لغرض الحصول على مصل الدم الذي تم حفظه في أنابيب معلمة بدرجة حرارة -20م إلى حين إجراء الفحوص المختبرية ، بينما وضعت كمية أخرى من الدم حوالي 1 مل في أنابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر (Potassium EDTA) لغرض إجراء الفحوص الخاصة بالمعايير الدمية

المعايير الدمية

1- تقدير مستوى خُصاب الدم (غم/ 100مل)

تم حساب تركيز خُصاب الدم بإستخدام طريقة Cyanomethemoglobin الموصوفة من قبل Coles (1980) والتي يؤكسد فيها الهيموكلوبين Hemoglobin إلى ميثهيموكلوبين Methhemoglobin بوجود سيانيد البوتاسيوم الحديدي القاعدي ثم يتفاعل الميثهيموكلوبين الناتج ، بعد ذلك مع سيانيد البوتاسيوم ليكون سيانميثموكلوبين الذي يمتص عند الطول الموج 450 نانوميتر ، إذ تتناسب شدة الإمتصاصية مع تركيز الهيموكلوبين الكلي

2- حجم الخلايا المرصوص (% (PCV)

تم قياس حجم الخلايا المرصوص بإستعمال طريقة الأنابيب الشعرية Capillary method، فقد تم سحب نماذج الدم في أنابيب شعرية حاوية على مادة مانعة للتخثر EDTA وبعد ملئ ثلثي الأنبوبة أغلقت إحدى نهايتها بوساطة الطين الاصطناعي ووضعت في جهاز الطرد المركزي الدقيق Microhematocrite بحيث يكون الطرف المفتوح إلى الخارج لمدة 15 دقيقة بسرعة 5000 دورة/دقيقة، وبعد ذلك تم قياس حجم الكريات المرصوص (% بوساطة المسطرة الخاصة بهذا الغرض Heamatocrite reader (Hillman & Ault,2002)

3 - العدد الكلي لخلايا الدم البيض ($\times 10^9$ /لتر)

تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض بحسب طريقة Lewis وDacie (1984) ، فقد تم سحب الدم إلى العلامة 0.5 باستعمال الماصة الخاصة لخلايا الدم البيض وأكمل الحجم بحسب المحلول المخفف Thoma's solution. وبعد المزج الجيد تم وضع قطره من الدم المخفف على الشريحة الخاصة لحساب خلايا الدم البيض Hemocytometer، إذ تم حساب الخلايا البيض في المربعات الـ 16 الأربعة من الشريحة

4- العد التفريقي لخلايا الدم البيض

تم وضع قطرة الدم المسحوبة باستعمال ماصة خاصة لهذا الغرض على بعد 1 سم من حافة شريحة زجاجية نظيفة وسحبت القطرة بحافة شريحة زجاجية أخرى موضوعة بزاوية مقدارها 45 باتجاه حافة الشريحة الأخرى حتى تتكون مسحة دموية متجانسة السمك ، وبعدها تركت الشريحة الزجاجية حتى جفت وصُيغت باستعمال صبغة لشممان Leishman's stain لمدة 1-2 دقيقة ثم خففت بالماء المقطر وتركت لمدة 8-10 دقيقة ، بعدها غسلت بالماء الجاري وجففت في الهواء لتكون جاهزة للفحص. تم فحص الشرائح باستعمال العدسة الزيتية Oil Immersion، وتم حساب النسبة المئوية لكل نوع من أنواع الخلايا البيض. (Dacie & Lewis, 1984)

المعايير الكيموحيوية

1- تقدير البروتين الكلي في مصل الدم

لتقدير البروتين الكلي في مصل الدم استعملت عدة التحاليل المحضرة من شركة Biomerieux الفرنسية ، وتعتمد طريقة الفحص على تفاعل البروتين الموجود في عينة المصل مع محلول تترترات البوتاسيوم النحاسية القاعدية أو ما يسمى بكاشف بايوريث Biuret Reagent ، ونتيجة لهذا التفاعل يتكون معقد بنفسجي اللون تعتمد شدته اللونية على أواصر البيتين الموجودة في بروتين العينة، ويمكن قياس هذه الشدة اللونية باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 530 نانوميتر . (Titez, 1982)

2- تقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم:

أستخدمت الطريقة اللونية للعالم Richmond (1973) لتقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم وأستعملت عدة التحاليل Kits المجهزة من شركة Biomerieux الفرنسية. تعتمد هذه الطريقة على تحليل أستر الكوليسترول Cholesterol Ester بفعل أنزيم الكوليسترول أستيراز Cholesterol Esterase إلى أحماض دهنية Fatty acids والكوليسترول الذي يتأكسد بفعل أنزيم كوليسترول أوكسيداز Cholesterol oxidase بوجود الأوكسجين إلى أن يتكون مركب Quinonemine بمساعدة أنزيم Peroxidase ويكون هذا المركب ذو لون أحمر تقاس شدته اللونية باستخدام جهاز المطياف الضوئي على طول موجي 500 نانوميتر وبالاعتماد على شدة إمتصاصية المحلول القياسي يتم حساب تركيز الكوليسترول الكلي في العينة

3- قياس تركيز الكليسيريدات الثلاثية :

تم قياس تركيز الكليسيريدات الثلاثية T.G. في مصل الدم باستعمال عدة الفحص الجاهزة والمنتجة من شركة Randox الأنكليزية وبحسب الطريقة المعتمدة (Allain et al., 1974) يعتمد مبدأ قياس تركيز T.G. في مصل الدم على أساس التحلل المائي لها بواسطة الأنزيمات Lipase إلى كليسيرول وأحماض دهنية ثم يتأكسد الكليسيرول الناتج بوجود أنزيم Glycerol Kinase إلى أن يتكون مركب Quinonemine وهو مركب ذو لون أحمر تقاس شدته اللونية باستعمال جهاز

المطياف الضوئي عند طول موجي 520 نانومتر وبالإعتماد على شدة امتصاصية المحلول القياسي يتم حساب تركيز الكليسيريدات الثلاثية في العينة

4- قياس تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة في مصل الدم :

تم قياس تركيز كولسترول البروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL-C) بإتباع خطوات التعليمات المرافقة لعدة الفحص المحضرة من قبل شركة SYRBIO ويعتمد مبدأ القياس على ترسيب كولسترول البروتينات الدهنية واطئة الكثافة Low density lipoprotein (LDH-C) وكولسترول البروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً Very low density lipoprotein (VLDL-C) نتيجة لإضافة Phosphotungestic acid بوجود أيونات المغنسيوم ، وبعد عملية الطرد المركزي يبقى فقط الكولسترول المرتبط بالبروتينات الدهنية عالية الكثافة ثم يؤخذ 100 مايكروليتر من الرائق بإتباع الخطوات نفسها عند قياس تركيز الكولسترول الكلي.

5 قياس تركيز البروتينات الدهنية واطئة الكثافة في مصل الدم:

تم قياس تركيز LDL-C في مصل دم مجاميع الإناث بإستخدام المعادلة الآتية والمتبعة من قبل Simon، (2006) :

$$LDL-C = TC - (HDL-C + VLDL-C)$$

$$VLDL-C = Triglyceride/5$$

النتائج Results

المعايير الدمية

تشير النتائج في الجدول (1) إلى حصول إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى خضاب الدم للمجاميع المعاملة بمستخلص القلف الإيثانولي مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما أشارت النتائج إلى حصول إنخفاض معنوي في خضاب الدم في المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة مع المجموعة الأولى ، إضافة الى ظهور إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في المجموعتين الرابعة والخامسة مقارنة بالمجموعتين الثانية والثالثة . أظهرت النتائج الى حصول إنخفاضاً معنوياً ($P < 0.05$) في معدل حجم الخلايا المرصوص في جميع المعاملات عند مقارنة معدلاتها مع مجموعة السيطرة ، بينما لم يصل الإنخفاض لمستوى المعنوية عند مقارنة معدل المجموعة الأولى مع مجموعة السيطرة ، وعند مقارنة المجاميع المعاملة مع بعضها كان هناك إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) تدريجي يزداد مع زيادة تركيز المستخلص . أظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) في معدل العدد الكلي لخلايا البيض ، إذ بين الجدول (1) حصول إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل خلايا الدم البيض للمجاميع الثانية والثالثة والرابعة والخامسة مقارنة مع مجموعة السيطرة ، بينما لم يصل الإنخفاض إلى مستوى المعنوية في معدل المجموعة الأولى عند مقارنتها مع معدل مجموعة السيطرة ، من جانب آخر سجلت النتائج إنخفاضاً معنوياً تدريجياً ($P < 0.05$) في المجاميع المعاملة

الجدول (1) تأثير التراكيز المتصاعدة للمستخلص الإيثانولي لقلف الصفصاف في بعض المعايير الدموية لإناث الجرذان

المعايير المجاميع	تركيز خضاب الدم Hb (غرام/100مل)	حجم الكريات المرصوص P.C.V. (%)	العدد الكلي لخلايا الدم البيض ($10^9 \times$ لتر)
C	d 0.37 ± 12.8	e 0.80 ± 41.8	e 0.26 ± 7.12
G ₁	c 0.19 ± 11.32	e 0.50 ± 40.4	de 0.12 ± 6.92
G ₂	b 0.30 ± 10.34	d 0.50 ± 39.6	d 0.09 ± 6.68
G ₃	b 0.11 ± 10.06	c 0.50 ± 37.6	b 0.07 ± 4.7
G ₄	a 0.21 ± 8.72	b 0.37 ± 34.8	c 0.05 ± 5.76
G ₅	a 0.20 ± 8.42	a 0.37 ± 32.8	a 0.09 ± 4.06

* الأرقام تمثل المعدلات $\pm$ الخطأ القياسي

- الحروف المختلفة عمودياً تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) بين المجاميع .

• العدد التفريقي لخلايا الدم البيض

تبين نتائج التحليل الإحصائي الموضحة في الجدول (2) أن المجموعة الخامسة سجلت إنخفاضاً معنوياً واضحاً في الخلايا العذلة ($P < 0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع المعاملة ، و لم تظهر فروق معنوية واضحة في معدلات المجاميع المعاملة الأخرى مقارنة مع مجموعة السيطرة . كذلك ظهر إرتفاع معنوي واضح ($P < 0.05$) في معدلات الخلايا الحمضة في المجموعتين الرابعة والخامسة مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع المعاملة بالمستخلص الإيثانولي .توضح نتائج التحليل الإحصائي إن المجموعتين الأولى والخامسة سجلت إرتفاعاً معنوياً واضحاً ($P < 0.05$) في الخلايا اللمفية مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية مجاميع المعاملة ، بينما لم يظهر فرق معنوي في معدلات المجاميع الثانية والثالثة والرابعة مقارنة مع مجموعة السيطرة . اما الخلايا الوحيدة فإن المجاميع الأولى والرابعة والخامسة سجلت إنخفاضاً معنوياً ($P < 0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة وبقية المجاميع المعاملة بالتراكيز المتصاعدة للمستخلص الكحولي ، بينما لم تظهر فروق معنوية واضحة في معدلات المجاميع الثانية والثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة

الجدول (2) تأثير التراكيز المتصاعدة من المستخلص الإيثانولي لقلف الصفصاف في العدد التفريقي لخلايا الدم البيض في إناث الجرذان البيض

المعايير المجاميع	العدله (%)	الحمضه (%)	اللمفيه (%)	الوحيد (%)
C	a 0.20 ± 32	c 0.31 ± 2.20	b 0.28 ± 61.40	± 4.40 a 0.80
G ₁	a 0.20 ± 32	c 0.18 ± 2.30	a 0.22 ± 62.30	± 3.40 b 0.18
G ₂	a 0.26 ± 31.90	c 0.24 ± 2.20	b 0.32 ± 61.40	± 4.50 a 0.14
G ₃	a 0.31 ± 31.90	c 0.13 ± 2.18	b 0.20 ± 61.32	± 4.60 a 0.24
G ₄	a 0.40 ± 31.80	a 0.12 ± 3.90	b 0.24 ± 61.10	± 3.20 b 0.12
G ₅	b 0.50 ± 31.03	b 0.44 ± 2.61	a 0.40 ± 62.24	± 4.12 b 0.09

* الأرقام تمثل المعدلات ± الخطأ القياسي

- الحروف المختلفة عمودياً تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) بين المجاميع.

المعايير الكيموحيوية

• تركيز البروتين الكلي (غم / 100 مل)

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي المبينة في الجدول (3) حصول إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز البروتين الكلي في مصل دم الحيوانات التي حقنت بالتراكيز المتصاعدة للمستخلص الكحولي لقلف الصفصاف مقارنة مع مجموعة السيطرة ، إلا أن المجموعة الأولى لم تظهر فرقاً معنوياً ($P < 0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة ، أما عند مقارنة المجاميع فيما بينها نلاحظ عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) بين المجاميع الثانية والثالثة والرابعة ، بينما شهدت المجموعتين الأولى والخامسة فرقاً معنوياً ($P < 0.05$) مقارنة مع المجاميع الأخرى.

• تركيز الكولسترول (ملغم / 100 مل)

أدى الحقن بالتراكيز المتصاعدة مع المستخلص الكحولي لقلف الصفصاف إلى ارتفاع تدريجي في معدل تركيز الكولسترول الكلي في مصل دم حيوانات التجربة ، إذ بين الجدول (3) حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في تركيز الكولسترول للمجاميع الخمسة مقارنة مع مجموعة السيطرة من جانب ، ومن جانب آخر عند مقارنة المجاميع فيما بينها نلاحظ وجود فروق معنوية واضحة ($P < 0.05$) بين معدلات تركيز الكولسترول للمجاميع التي حقنت بتراكيز متصاعدة من المستخلص الكحولي ، إذ كان هناك ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) يتناسب طردياً مع زيادة تركيز المستخلص في المجاميع المعاملة

• تركيز الكليسيريدات الثلاثية (ملغم / 100 مل)

فيما يتعلق بمستوى الكليسيريدات الثلاثية أظهرت النتائج حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكليسيريدات الثلاثية لكافة المجاميع التي حقنت بتراكيز متصاعدة من المستخلص الكحولي مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية ($P < 0.05$) عند مقارنة المجاميع فيما بينها ، إذ أدى حقنها بالمستخلص إلى ارتفاع تدريجي في معدل الكليسيرادات الثلاثية في مصل دم الحيوانات .

• تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL-C) (ملغم / 100مل)

بيّن الجدول (3) حصول ارتفاع غير معنوي ($P>0.05$) في تركيز HDL-C في معدلات المجاميع الأولى والثانية والثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة ، بينما أظهرت المجموعتين الرابعة والخامسة إرتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في معدلات HDL-C مقارنة مع مجموعة السيطرة من جانب ، ومن جانب آخر عند مقارنة معدلات المجاميع التي حققت بالتراكيز المتصاعدة للمستخلص الكحولي فيما بينها نلاحظ عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجاميع الأولى والثانية والثالثة ، بينما أظهرت النتائج فرقاً معنوياً ($P<0.05$) في معدلات المجموعتين الرابعة والخامسة مقارنة مع المجاميع الأولى والثانية والثالثة ، إلا أن الانخفاض في مستوى HDL-C لم يظهر فرقاً معنوياً ($P>0.05$) بين معدلات المجموعتين الرابعة والخامسة .

• تركيز البروتينات الدهنية واطئة الكثافة LDL-C (ملغم / 100مل)

سجّل معدل تركيز LDL-C إرتفاعاً تدريجياً مع زيادة تركيز المستخلص إلا أنه لم يصل إلى مستوى المعنوية ($P>0.05$) في المجموعتين الأولى والثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة ، بينما أظهرت المجاميع الثالثة والرابعة والخامسة إرتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في معدلات LDL-C مقارنة مع مجموعة السيطرة ، أما عند مقارنة المجاميع فيما بينها نلاحظ عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجموعتين الأولى والثانية إلا أنها أظهرت فرقاً معنوياً ($P<0.05$) عند مقارنتها مع المجاميع الأخرى ، كما لم يظهر فرق معنوي ($P>0.05$) بين المجموعتين الثالثة والرابعة ، بينما أظهرت المجموعة الخامسة فرقاً معنوياً ($P<0.05$) عند مقارنتها مع المجاميع المعاملة في التجربة .

الجدول (3) تأثير التراكيز المتصاعدة للمستخلص الإيثانولي لقلف الصفصاف في بعض المعايير الكيموحيوية لإناث الجرذان

المعايير المجاميع	البروتين الكلي (غم/100مل)	الكوليسترول (ملغم/100مل)	الكسيريدات الثلاثية (ملغم/100مل)	HDL-C (ملغم/100مل)	LDL-C (ملغم/100مل)
C	C 0.24±7.32	a 1.46±68.64	a 0.40±57.02	a 0.25±13.3	a 0.28±41.60
G ₁	c 0.33±7.12	b 3.24±69.34	b 0.36±60.28	a 0.44±13.5	0.21±42.44 a
G ₂	b 0.30±5.56	c 2.62±71.98	c 0.26±64.7	a 0.33±13.94	0.47±43.68 a
G ₃	b 0.31±5.68	d 2.32±77.58	d 0.23±72.14	a 0.40±14.1	0.36±52.20 b

0.14±52.86 b	0.44 ±14.84 b	e 0.28±84.4	e 2.83±79.18	b 0.27±5.56	G ₄
0.33±56.06 c	b 0.24±15.68	f 0.25±89.08	f 2.49 ±87.58	a 0.18±4.70	G ₅

* الأرقام تمثل المعدلات ± الخطأ القياسي
- الحروف المختلفة عمودياً تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) بين المجموع.

المناقشة المعايير الدمية

أدى استعمال المستخلص الكحولي لقلب الصفصاف وبكافة التراكيز المستعملة في التجربة إلى إنخفاض في المعايير الدمية سواء بحجم الخلايا المرصوص أو تركيز خضاب الدم في كرية الدم الحمراء ، إذ يُعد حجم الخلايا المرصوص عاملاً مساعداً يفضلهُ الأطباء والباحثين مقترناً مع خضاب الدم في تقييم حالة فقر الدم (Miale, 1982) ، وهذا يتفق مع ماتوصل اليه الهاشمي (2005) إذ وجد إنخفاضاً في تركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص عند حقن الفئران المستحدث فيها التهاب المفاصل بالمستخلص الكحولي لقلب الصفصاف . بينما أشارت دراسات أخرى إلى أن الجرعات العالية من حامض الساليسليك تسبب نقصاً في تركيز الحديد في الدم ، إذ يمكن أن يؤدي حامض الساليسليك إلى تحلل الدم بدرجة معتدلة عند الذين يعانون من نقص في أنزيم كلوكوز فوسفات ديهيدروجينيز (Ridker *et al.*, 1997) أو قد يكون السبب المحتمل لهذا الانخفاض ناجماً عن خلل في وظيفة الغدة الدرقية وهرموناتها ، إذ تلعب هرمونات الغدة الدرقية دوراً في توجيه العمليات الأيضية داخل الجسم فضلاً عن دورها غير المباشر في التأثير على إنتاج خلايا الدم الحمراء في نخاع العظم . (Safer *et al.*, 2005) كما لا يمكن أبعاد السبب المتعلق بتحلل خلايا الدم الحمراء Erythrolysis بسبب الانخفاض في فعالية الكبد ونخاع العظم (Karademir *et al.*, 2003) ، أو قد يعود السبب في انخفاض تركيز خضاب أ لدم إلى تأثير الستيرويدات القشرية في تقليل تركيز الحديد في بلازما الدم ، إذ أن هذا الانخفاض يؤدي إلى حدوث فقر الدم Yazdanparast (2004). ومن جانب آخر قد يعود إنخفاض نسبة حجم الخلايا المرصوص إلى انخفاض معدل عدد كريات الدم الحمراء ومعدل حجم الكرية الحمراء ، إذ أن حجم الخلايا المرصوص يعتمد على عدد كريات الدم الحمراء ومعدل حجم الكرية الحمراء . (Coles, 1986)

أما معايير خلايا الدم البيض فقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية إنخفاض في أعداد خلايا الدم البيض بأنواعها المختلفة ، وقد يعزى هذا الانخفاض إلى أن مستخلص قلب الصفصاف يعتبر مضاداً للالتهابات وبذلك ينخفض معدل أعداد خلايا الدم البيض (Henson & Murphy, 1989) ، وهذا يتفق مع ماتوصل اليه الهاشمي (2005) إذ لاحظ أنخفاضاً في أعداد خلايا الدم البيضاء عند حقن الفئران المستحدث فيها التهاب المفاصل بالمستخلص الكحولي لقلب الصفصاف .

أو قد يعزى السبب لإنخفاض معدل أعداد خلايا الدم البيض إلى كون مستخلص قلب الصفصاف خافض للحرارة ومسكن للألام (2003).
(Cragg & Newman) إذ أن ارتفاع درجة حرارة الجسم تترافق مع العوامل الالتهابية التي تنشط هذه الخلايا وتزيد أعدادها إلا أنها سرعان ما تنخفض لاحقاً نتيجة لإطلاق هرمونات الستيرويدات القشرية المضادة للالتهابات (Nockels *et al.*, 1973)

كما يمكن أن يعزى الانخفاض في معدل اعداد خلايا الدم البيض في الحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي إلى حدوث انخفاض في معدل نسبة الخلايا العدلة التي تمثل الخط الدفاعي الأول ، إذ أشار Diloranzo وجماعته (2006) أن ارتفاع العدد الكلي لخلايا الدم البيض يعود جزئياً إلى ارتفاع نسبة الخلايا العدلة ، إذ أن هذه الخلايا تكون ناضجة وظيفياً لذا تعد الأسرع استجابة من بقية الخلايا وبذلك فإن قياس فعاليتها قد يكون أحد مؤشرات هو زيادة عددها وزيادة قابليتها البلعية . من جانب آخر قد يعزى إنخفاض معدلات خلايا الدم البيض الحمضه والعدلة إلى فعالية مستخلص قلف الصفصاف كمضاد للحساسية ، إذ أشار Anne (2008) أن كثيراً من الأفراد الذين يعانون من التحسس لمادة الأسبرين يمكن أن يتناولوا مستخلص قلف أوراق الصفصاف لمعالجة الالتهابات وارتفاع درجة حرارة الجسم ، إذ تزداد أعداد الخلايا الحمضه في تفاعلات الحساسية Allergic reaction وحالات الالتهابات ، إذ نلاحظ زيادة مادة الهيستامين Histamine التي تُفرز من الخلايا القعدة يقابلها إفراز المضاد للهستامين Antihistamine من الخلايا الحمضه (Sharma et al., 2004) إذ يعد عاملاً كيميائياً للخلايا الحمضه والذي يعمل على جذب الخلايا الحمضه إلى المناطق الملتهبة لإزالة سمية المواد المحدثه للالتهابات (Zaidi, 2004) . وبما أن لمستخلص قلف الصفصاف دوراً في تخفيض حالات الالتهاب والتحسس في الجسم ، يمكن اعتباره دليلاً على قدرته في تقليل معدلات نسبة خلايا الدم القعدة والحمضه أو بقائها ضمن الحدود الطبيعية (Khan, 2007) . ويعزى سبب ارتفاع النسبة المئوية للخلايا اللمفية أو بقائها ضمن الحدود الطبيعية إلى الدور الايجابي للمستخلص الكحولي بسبب احتواءه على مواد مضادة للأكسدة وإن كانت بتركيز واطنة (Fetrow & Avila, 2000) ، والتي تعمل بدورها على حماية المادة الوراثية DNA للخلايا اللمفية من أضرار الجذور الحرة التي تهاجمها ، وربما يعود السبب في ارتفاع نسبة الخلايا اللمفية إلى زيادة إفراز هرمون التأثيروكسين T4 وهذا ينعكس ايجابياً على زيادة اعداد هذه الخلايا لأن لهذا الهرمون دوراً مهماً في زيادة أعداد الخلايا اللمفية (Jameson & Weetman, 2001) ، أما بالنسبة للخلايا الوحيدة ، فقد يعزى الانخفاض في النسبة المئوية للخلايا الوحيدة إلى اضطراب في وظيفة الكبد والكليتين والذي ينتج عن التلف الذي يسببه حامض الساليسليك في أنسجة تلك الأعضاء (Hirokazu & Toshiharu, 2009) ، إذ أن هذه الخلايا تغادر الدم وتدخل الأنسجة لتتطور إلى خلايا بلعية كبيرة Macrophages ، إذ تشارك في العمليات الالتهامية لذلك ينخفض عدد تلك الخلايا في الدم (Jain, 1993) .

المعايير الكيموحيوية :

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي انخفاضاً في تركيز البروتين الكلي لمصل الدم في المجاميع المعاملة بالمستخلص الكحولي لقلف الصفصاف ، إذ أظهرت المجموعتان الرابعة والخامسة انخفاضاً معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة ، بينما لم تكن الفروق معنوية في المجاميع الثلاثة الأولى التي حققت بالتراكيز الواطنة مقارنة مع مجموعة السيطرة ، إن الفعل الذي يؤديه مستخلص قلف الصفصاف يعود إلى احتواءه على المادة الفعالة الأساسية وهي حامض الساليسليك والتي تسبب التعطيل الجزئي لعمليات تخليق الأحماض الأمينية وزيادة هدمها وخفض امتصاصها في الكليتين (آل مزيعل، 2001) أو قد يعزى الانخفاض في تكوين البروتينات إلى دور حامض الساليسليك في حدوث الاضطرابات في وظيفة الغدة الدرقية وإفراز هرموناتها ، إذ تُعد هرمونات الدرقية من العوامل الأساسية في عملية النمو الطبيعي (Kacsoh, 2000) وقد يعود الانخفاض في تركيز البروتينات إلى دور الساليسين وهو المادة الفعالة الرئيسة في مستخلص القلف في حدوث اضطرابات في وظيفة الكبد ، إذ أن التراكيز العالية من المستخلص تسبب التهاب وتخر في خلايا الكبد وتغيرات كبيرة في وظائف الخلايا الكبدية والتهاب الوريد البابي الكبدي (Chyka et al., 2007) ، إذ يُعد الكبد العضو المسؤول عن تصنيع وتكوين أغلب البروتينات في الجسم لا سيما الألبومين والكلوبولين اللذان يشكلان النوعين الرئيسين لبروتينات المصل ، فضلاً عن الفايبرينوجين من خلال تراكمه في أنسجة الكبد وهذا بدوره يؤدي إلى اضطرابات في العمليات الوظيفية (Ganong, 2005) ،

وهذا يتفق مع مذكره الهلالي (1997) من أن بعض الحالات المرضية وخصوصاً الأمراض الكبدية والكولية تؤدي إلى فقدان سريع في بروتينات البلازما . أو قد يعود سبب انخفاض تركيز البروتين في المعدل نتيجة تأثير حامض الساليسليك على ، الكبيبات Glomerular والنيبيبات الكولية Renal tubules وحصول قصور كلوي وهذا يؤدي إلى زيادة ترشيح البروتينات (Prescott *et al.*, 1982).

أما فيما يخص الدهون فقد أظهرت نتائج التجربة ارتفاع مستوى الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية عالية الكثافة والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة ، جراء حقن مجاميع الحيوانات بالتراكيز المختلفة للمستخلص وهذه النتيجة تتفق مع ماتوصل اليه Lipp (1996) ، وقد يعود السبب في هذا الارتفاع إلى تأثير حامض الساليسليك على هرمونات الدرقية وخاصة Thyroxine (T4) ، إذ أكد Dussault وجماعته (1966) إن الساليسليك يؤدي إلى زيادة مستوى هرمون الدرقين في مصل الدم وإنخفاض مستوى الهرمون المحفز للدرقية (TSH) Thyroid stimulating hormone وإن إعطاء الساليسليك قلل من إفراز الهرمون المحفز للدرقية خارج الجسم (Goodman, 1994) . وبما أن لهرمونات الدرقية دور كبير في عملية أيض الدهون لذا فإن حدوث أي اضطراب فيها يؤدي إلى ارتفاع مستوى الكوليسترول في المصل ، وهذا ما أكدته الباحثة Osborne & Shin (2003) من أن قصور الدرقية يؤدي إلى ارتفاع مستوى الكوليسترول في الدم ، إذ أن لهرمونات الدرقية أثراً في أيض الكوليسترول في الدم وإن نقص هرموناتها يؤدي إلى زيادة مستوى الكوليسترول في الدم Hyper cholesterolemia نتيجة لقلة طرح الكوليسترول في الصفراء بسبب اختزال كميته المتحولة إلى أملاح الصفراء Bile salts في الكبد (Ross, 1999) ، وهذا ما لاحظته Mochizuki وجماعته (1999) عند حقن الجرذان بالثايويوراسيل لاستحداث حالة نقص الدرقية Hypothyroidism وكذلك ما وجدته الباحثة Scheffler (1980) من أستحداث نقص الدرقية في خنازير غينيا باستعمال أحد العقاقير المضادة للدرقية يعمل على زيادة الكوليسترول في الدم .

أما فيما يتعلق بالكليسيريدات الثلاثية فهي تشكل نسبة عالية في معظم الدهون المخزونة في الأنسجة الدهنية (Rice & Pollard, 2002) ، وإن الارتفاع في مستوى الكليسيريدات الثلاثية يمكن أن يعود إلى تأثير مادة الساليسين في ارتفاع السكر في الدم (Wright & Hedge, 1981) وهو ما يعمل على زيادة بناء الكليسيريدات الثلاثية في خلايا الكبد ومن ثم يؤدي إلى زيادة تركيزها في مصل الدم، ومن جانب آخر فإن انخفاض تركيز هرمونات الدرقية يكون له تأثير سلبي على فعالية أنزيم لايباز البروتين الدهني Lipoprotein Lipase (LPL) فتتخفّف فعاليته ومن ثم يزداد مستوى الكليسيريدات الثلاثية (Weintraub *et al.*, 1999)، إذ يعمل هذا الأنزيم على تحلل الكليسيريدات الثلاثية إلى الكليسيرول Glycerol والأحماض الدهنية الحرة ، لذلك فإن عدم فعالية هذا الأنزيم يمنع إزالتها مما يؤدي إلى زيادة تركيزها في مصل الدم (Katzung, 2001) .

وقد بينت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع في تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL-C والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة LDL-C في مصل الدم للمجاميع التي حقنت بالتراكيز المتصاعدة للمستخلص ، وقد يعزى هذا الارتفاع في تركيز HDL-C و LDL-C إلى الارتفاع في تركيز الكوليسترول وذلك لأن الكوليسترول يعتبر أحد المكونات الرئيسية التي تتكون منه HDL-C و LDL-C ، إذ يساهم بتصنيعها في الكبد وهذا بدوره يؤدي إلى ارتفاع تركيز HDL-C و LDL-C (Elder & Steng, 2000) ، أو قد يعزى ارتفاع تركيز HDL-C إلى تأثير مادة الساليسين في الكبد إذ تؤدي إلى حدوث اضطرابات في وظيفة الخلايا الكبدية المتعلقة بإيض الدهون (Imaeda *et al.*, 2009) ، وهو يؤدي إلى تثبيط عملية تحويل الكوليسترول إلى أحماض الصفراء ، إذ أن جزيئات HDL-C مسؤولة عن إعادة الكوليسترول من الأعضاء إلى الكبد (العلوجي، 2003) ، لغرض إفرازه على هيئة الصفراء (Scriver *et al.*, 1995) ، وهذا يؤدي إلى بقاء تركيز HDL-C مرتفعاً . وقد يعود السبب في ارتفاع تركيز LDL-C إلى زيادة مستوى الكوليسترول

وتراكمه داخل الخلية مما يؤدي إلى اختزال فعالية مستقبلات LDL-C وبالتالي نقص في أفضها وارافاع أركفها (Mayne, 1999) .

المصادر العربية

الجلبي ، بان غسان (2002) . أأأر الموأف F2d والاسبرفن وزفأ أبة السوداء فف بعض مكونات الدم والأركفب المسأأ للكلفة فف أأور الجرأان البفض . رسالة ماجسأفر . كلفة العلوم . جامعة بغداد .
الطائف ، سعاد فارس ;عبد الرحمن ، نأى على وصالح ، شاكراً شناف . (1983) . علم الأأوفة والسوم . مطبعة مؤسسه المعاهد الفنية .
العلوآف ، صباأ ناصر . (2003) . علم المصألأأ الطبية . أار الفكر للطباعة والنشر . الطبعة الأولى . الأردن .

آل مزفعل ، أنوار آاسب أعبان . (2001) . الأأأر الأوائ للأسبرفن على مأأف المأأفرأ الكفموأفوفة . رسالة ماجسأفر . كلفة العلوم . جامعة بابل .

الهأشمف ، عماد ناآف . (2005) . أراسه أأأأ نباتفة مأأأرة مضاءاً للرففة (الروماأفزم) والأأهاب المفاصل . أطروأه أأأورا . كلفة العلوم . جامعة بغداد .
الهالف ، صاأق (1997) . المرجع فف الففزفولوأف الطبية . الطبعة الأاسعة ، مأرأم . منظمة الصأه العالمة . المكأب الاألفمف - الشرق الأوسط . مصر .

References :

- Allain,C.C.;Poon,L.S.;Chan,C.S.andRichmond,W.F.C.(1974).The Merk manual of diagnostic and therapy,Merk Co. Clin .Chem.,20(4):470-475.
- Al-Rawi, A. and Chakravarty, H. L. (1964). Medicinal plants of Iraq. National herbarium of Iraq. Ministry of agriculture. Baghdad. Iraq.
- Anne A. J. Andermann. (2008) . Physician, Fads and pharmaceuticals: A history of Aspirin. McGill journal of medicine. 2 (2).
- Asano, K. ; Takahashi, T. and Miyashita, M. (1986). Effect of *eleutherococcus senticosus* extract on human working capacity. Planta medica, 37 : 7 - 175.
- Chrubasik, S. and Kunzel, O. (2001). Willow bark extract for low back pain. Rheumatology, 40 : 93 – 1388.
- Chyka, PA ; Erdman, AR. ; Christianson, G. ; Wax, PM. ; Booze, LL. ; Manoguerra, AS. ; Caravati, EM. ; Nelson, LS. ; Olson, KR. ; Cobaugh, DJ. ; Scharman, EJ. ; Woolf, AD. And Troutman,

- WG. (2007). Salicylate poisoning on evidence based consensus guideline for out of hospital management. Clin toxicol (Phila)., 45 (2) : 95 – 131.
- Claudia, O. (2003). Aspirin protects against cancer of the upper aerodigestive tract. Lancet Oncet Oncel., 4 : 200.
- Coles, E. H. (1980). Veterinary clinical pathology. 3th ed. W.B. Sanders. Co. Philadelphia, London, Pp190-192.
- Coles, E. H. (1986). Veterinary clinical pathology. 4th ed. W.B. Sanders. Co. Philadelphia, London, Pp. 15-20, 53-56, 68, 139.
- Cragg, GM. And Newman, DJ. (2003). Natural products in drug discovery and development. J. Nat-prod. 66 (7) : 37-1022.
- Dacie, J. V. and Lewis, S. M. (1984). Practical haematology. 6th ed. Edinburgh . Curchill. Livingstone. Pp: 40-55.
- Dilorenzo, L. ; Silvestroni, A. Matino, G. ; Gagliardi, T. ; Corfiati, M and Soleo, L. (2006). Evaluation of peripheral blood neutrophil leucocytes in lead exposed workers. Int. Arch. Occup. Environ. Health., 79 (6) : 491-498.
- Dussault, J. H. ; Turcott, R. and Guyda, H. (1976). The effect of acetylsalicylic acid on TSH and PRL secretion after TRH stimulation on the human. J. clin . Endocrinol. Metabol. 43 : 332 – 335.
- Elder, K. and Steng, G. (2000). Plasma thyroxin and cholesterol concentration of miniature pigs are influenced by thermally oxidized dietary lipids. J. Nutr., 130 : 116 – 121.
- El-Shemy, H. H. ; Aboul- Enein, A. M. ; Adoul- Enein, K. M. and Fujita, K. (2007). Willow leaves extract contain Anti-Tumor agents effective against three cell types. Plos one, 2(1).
- Fetrow, C. W. and Avila, J. R. (2000). The complete guide to Herbal medicines. Springhouse corporation, PA, USA..
- Ganong, E. EF. (2005). Review of Medical physiology. 22ed. Langg medical book. McGraw- Hill. University of California. Sanfrancisco.
- Goodman, H. M. (1994). Thyroid gland. In basic medical endocrinology. Raven press, New press, New York.
- Han, Li ; SumiYoshi,M. ; Zhang, J. and Kimara, Y. (2003). Anti-obesity action of *salix matsudana* leaves (part1). Anti – obesity action by polyphenols of *salix matsudana* in high fat- diet treated rodent animals- phytotherapy research., 17 (10) pp: 118 – 1194.
- Henson, P.M. and Murphy, RC. (1989). Mediators of the inflammation process Elsevier. Amsterdam. P: 404.
- Hillman, R.S. and Ault, K. A. (2002). Haematology in clinical practice. 3rd., McGraw-Hill co. New York.
- Hirokazu, Doi and Toshiharu, H. (2009). Salicylic acid- induced hepatotoxicity triggered by oxidative stress. Chem.. Biol. J. , 138 : (1872) . P. 8 – 463.
- Imaeda ,B; watanabe ,A ; Sohail ,M.A;Mahmood,S.H and Nehal ,W.(2009).Acetaminophen induced hepatotoxicity in mice . Journal of clinical investigation .,119(2):14-305

- Jain, N. C. (1993). Essential of veterinary hematology. Lea & Febiger. Philadelphia , pp: 266 – 277.
- Jameson, A. and Weetman, A. P. (2001) Disorders of the thyroid gland in Braunwald, E. Fauci, A. S. ; Kasper, D. L. ; Hauser, S. L. ; Longo, D.L. and Jameson, J. L. (eds) . Harison's principles of internal medicine. 15th ed. McGraw-Hill. New York. Vol. 2 , Pp: 2060 – 2084.
- Kacsoh, B. (2000). Endocrine physiology. Mc-Graw- Hill companies. Inc. Health profession division. New York. ST. Louis Sanfransisco. PP: 190 – 231.
- Karademir, OD. ; Senocak, F. ; Ocal, B. ; Karakuet, C. ; Cabuk, F. (2003). " Tolmetin and Salicylate therapy in a cute rheumatic fever. Comparison of clinical efficacy and side effects " . Pediatrics international: official journal of the Japan pediatric society., 45 (6) : 9-676.
- Katzung, B. G. Furst, D. E. (2001). Basic and clinical pharmacology. 8th ed. Non steroidalanti- inflammatory drugs. A simon and Schuster company
- Khan, R. A. ; Sadruddin, S. and Mirza, T. (2007). Evaluation of safety profile of herbal tea. Journal of Basic and applied Sciences. 3(1).
- Krivoy, N. Parlotzky, E. Chrubasik, S. ; Eisenberg, E. ; Brook, G. (2001). Effect of Salicis cortex extract on human platelet aggregation. Plant Med. Apr., 67 (3) : 209 – 212.
- Ladd, J.L. ; Jacobson , M. and Buriffim, C. (1978). Beettes extracts promneem tree as feeding deternts J. Econ. Entomol., 71 : 803 – 810.
- Laurance, D. R. ; Bennet, P. N. and Brown, M. J. (1997). Clinical pharmacology. 8th ed., Churchill Livingston.
- Lipp, FJ. (1996). The efficacy, history and politics of medicinal plants . Altern therapy health Med., 2(4).
- Mayne, P. (1999). Clinical chemistry in diagnosis and treatment. 6th ed. Oxford university press, Inc., New York, pp: 225 – 241.
- Miale, J. (1982). Laboratory medicine Hematology. 6th ed., C.V. Mosby company, 354 – 356 – 360.
- Mitton, F. and Mitton, V. (1976). Mittons practical modern herbal. W. foulshman and Co. Ltd., London.
- Mochizuki, H. Takido, J. and Yokogoshi, J. (1999). Improved suppression by dietary taurine of the fecel excretion of bile acids from hypothyroid rats. Biosci-Biotechnol. Biochem, 63 (4) : 753 – 755.
- Naseem, M. and Patil, S. (1998). Antispermatic and androgenic activities of *momordica charantia* (kerela) in albino rats. J. Ethnophar- macol., 61 : 961.

- Nockels, C. ; Lopez, G. ; Philip, R. (1973). Influence of Vitamin A and C on corticosteroid and carbohydrate metabolism in chickens poult. Sci., 52 : 1261 – 12691.
- Prescott, L. ; Balai- mood, M. Critch JAJA ; Johnstone, A. and Proudfoot, A. (1982). Diuresis or urinary alkinisation for Sali cylate poisoning. Br Med. J. 285 : 6-1383.
- Rice, C. and Pollard, J. (2002). The important role cholesterol plays in your health. The health education rural out search. 6 : 2-16.
- Richmond, W. (1973). Preparation and properties of cholesterol oxidase from *Nocard sp.* and its application to the enzymatic assay of total cholesterol. Clin Chem., 19:1350-1356.
- Ridker, P.M ; Chushman, M. and Stamfer, M.J. (1997). Inflammation aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparatly healthy man. Engl. J. Med. 336 : 973 – 979.
- Ross, D. S. (1999). Lipid abnormalities in thyroid disease. J. Med.. 6 : 155.
- Safer, J. ; Crawford, T. and Holcki, (2005). Topical thyroid hormone, accelerates wound healing in mice. Endocrinology in press. 145 : 3257 – 2361.
- Scheffler, W.C. (1980). Statistics for Biological science .2nd ed .Addison Wesley ,pub.co.London.Amsterdam.Pp;121.
- Schmid, B. (1998). Behand lung Von coz-und Goner throsen miteinm trocken extract *salix purpurea* and daphnoids. pH.D. Thesos. University of Tübingen.
- Scriver, C. ; Boanelt, A. ; Sly, W. and Vsalle, D. (1995). The metabolic basis of inherited disease.vol. 1, 7th ed. McGraw- Hill. New York. Pp: 345- 347.
- Sengupta, M. and Bishayi, B. (2002). Effect of lead and arsenic on murine macrophage response. Drug- chem.. Toxicol. 25 (4) : 459- 472.
- Sharma, R. ; Subramanian, P. ; Kumara, S. ; Malkiat, S. ; Sharma, M. ; Agnihotri, S. and MARwaha, N. (2004). Evolution of storage conditions and transfusion. J. medicine. 20 : 57 – 68.
- Shin, D. and Osborne, T. (2003) thyroid hormone, regulation and cholesterol metabolism are connected through sterol regulatory element- binding protein- 2 (SREBP-2). J. Biol. Che. 278 : 34114 – 34118.
- Simon, H. (2006). Cholesterol, Other Lipids, and Lipoproteins. 6th Avenue-Des Moines, Mercy Medical Center, p:1-22.
- Singh, A. Malhotra, S. and Subban, R. (2008). Anti- inflammatory and analgesic agents from Inian medicinal plants. International journal of integrative biology. 3 : 57 – 72.
- Tietz, N. (1982). Fundametals of clinical chemistry. 2nd ed., W.B. Saunders company, Philadelphia. P: 70, 271, 294, 314, 335, 337, 510.

- Vlachojannis, J. ; Cameron, M. and Chrubasik, S. (2008). Systematic review on the effectiveness of Willow bark for musculoskeletal pain. *Phytotherapy research.*, 23 (7) : 897 – 900
- . Weintraub, M.; Grosskoff, I. and Trostanesky, Y. (1999). Thyroxin replacement therapy enhances clearance of chylomicron remnants in patients with hypothyroidism. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 84 : 3532.
- Wright, K. and Hedge, G. (1981). Pharmacological studies of the involvement of hypothalamic prostaglandins in the regulation of thyrotropin secretion. *Environ- Health- perspect.*, 38 : 8 – 83.
- Yazdanparast, P.; Carlsson, B. ; Oikarinen, A. ; Risteli, J. and Faergemann, J. (2004). A thyroid hormone analogue Triiodothyro acetic acid, corrects corticosteroid down- regulated collagen synthesis thyroid., 14 : 345 – 353.
- . Zaidi, Sh. (2004). Existing indigenous medical plant resources of Pakistan and their prospects for utilization medicinal plant botanis , Pakistan forest Institute, Peshawar