

بررسی اثر حفاظتی آنتی ونوم پلی والان و کوارستین بر تغییرات هموگرام و شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز در پی تزریق سم کژدم و شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز در پی تزریق سم کژدم *Mesobuthus eupeus* در موش صحرائی

محمد راضی جلالی^۱، سیده میثاق جلالی^{۲*}، حسین نجف‌زاده‌ورزی^۳ و امیرعباس شکرانیان^۴

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۳۰

چکیده

عقرب گزیدگی یکی از خطرهای کلان بهداشت و سلامت انسان و حیوانات به ویژه در مناطق گرمسیری است. کژدم مزوبوتوس یوپتوس یکی از شش کژدم مهم و خطرناک در منطقه‌ی خوزستان و ایران است. در این پژوهش، اثرات سم این کژدم بر تابلوی خونی و شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز (OF) و همچنین مقایسه‌ی کارایی آنتی‌ونوم پلی‌الان و ماده‌ی آنتی‌اکسیدان کوارستین در حفاظت از گلبول‌های قرمز در موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. تعداد ۹۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۵ گروه دسته‌بندی شدند. گروه ۱ (کنترل) سرم فیزیولوژی، گروه ۲ سم کژدم، گروه ۳ سم و آنتی‌ونوم، گروه ۴ سم و کوارستین و گروه ۵ سم و آنتی‌ونوم و کوارستین را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. خون‌گیری از درون قلب در زمان‌های ۱، ۳ و ۲۴ ساعت پس از تزریق سم و در هر بار از ۶ سر موش صحرائی انجام گرفت. یافته‌های به دست آمده از هموگرام نشان‌دهنده‌ی کاهش غیرمعنی‌دار شاخص‌های اریتروسیته‌ی شامل PCV و Hb، ۲۴ ساعت پس از تزریق سم در گروه‌های ۲ و ۴ بود. ولی در گروه‌های ۳ و ۵ با تجویز پادزهر چنین کاهشی دیده نشد. همچنین در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی سم (۲، ۳، ۴ و ۵) افزایش معنی‌دار در شمار پلاکت‌ها، یک ساعت پس از تزریق و افزایش معنی‌دار شمار نوتروفیل‌ها و کاهش لنفوسیت‌ها، ۳ ساعت پس از تزریق مشاهده گردید. میزان شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز در کلیه‌ی گروه‌های دریافت‌کننده‌ی سم، افزایش یافت و این افزایش در رقت‌های ۰/۴۵، ۰/۴۰ و ۰/۳۵ درصد بافر نمکی، نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < 0.05$). بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که سم کژدم مزوبوتوس یوپتوس سبب افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز و نیز نوتروفیلی می‌گردد. همچنین تجویز آنتی‌ونوم و یا کوارستین به طور جداگانه یا همزمان در دوز و زمان به کار رفته در این مطالعه، اگر چه در بهبود شاخص‌های اریتروسیته‌ی مؤثر است، اما نمی‌تواند از افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز و تغییرات لکوگرام در پی تزریق سم جلوگیری نماید.

کلمات کلیدی: آنتی‌ونوم، سم کژدم، شکنندگی اسمزی، کوارستین، مزوبوتوس یوپتوس

مقدمه

سراسر جهان شناسایی شده است. خانواده‌ی بوتیده^۱ مهم‌ترین خانواده‌ی کژدم‌ها از دیدگاه پزشکی است که در خاورمیانه و آسیای میانه به میزان بسیار فراوانی یافت

عقرب گزیدگی یکی از چالش‌های کلان بهداشتی انسان‌ها و حیوان‌ها به ویژه در مناطق رو به توسعه و گرمسیری است. تاکنون بیش از ۱۵۰۰ گونه کژدم در

^۱ استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^{۲*} استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۳ استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۴ دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

(نویسنده‌ی مسئول)

E-mail: mi.jalali@scu.ac.ir

جمع‌آوری^۲ رادیکال‌های آزاد به واسطه‌ی ترکیبات فنولیک آن و محافظت از لیپوپروتئین‌ها در برابر اکسیداسیون، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهم محسوب می‌گردد (Boots et al. 2008, Formica and Regelson. 1995).

از سویی دیگر، آسیب اکسیداتیو به ویژه پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان یکی از مکانیسم‌های عملکرد سم کژدم در ایجاد التهاب در غشای رگ‌های خونی است (Dousset et al. 2005, Sahnoun et al. 2007) که شاید بتوان این آسیب را با به کارگیری برخی مواد آنتی‌اکسیدان مهار کرد. به همین دلیل در این مطالعه اثرات کوارستین به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان در پیش‌گیری از عوارض خون-شناسی سم کژدم مورد بررسی قرار گرفت.

با نگرش به اهمیت کژدم مزوبوتوس یوپئوس در منطقه‌ی خوزستان و ایران به عنوان یکی از شش کژدم مهم و خطرناک و همچنین نبود بررسی‌های کافی درباره‌ی پیامدهای خون‌شناسی سم این کژدم، در این مطالعه پیامدهای سم بر تابلوی خونی و شکنندگی اسمزی گویچه‌های قرمز و همچنین کارایی آنتی‌ونوم پلی‌والان و کوارستین در برابر آسیب‌های ناشی از سم در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

تعداد ۹۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 200 گرم تهیه شد و در بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی اهواز نگهداری شدند. سپس موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۸ تایی به ترتیب زیر دسته‌بندی شدند. گروه ۱ (به عنوان گروه شاهد): سرم فیزیولوژی به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه ۲: سم کژدم مزوبوتوس یوپئوس (تهیه شده به شکل لیوفیلیزه از موسسه‌ی واکسن و سرم‌سازی رازی

می‌شوند (Ozkan and Carhan 2008, Dehghani and Fathi 2012). نشانه‌های کژدم گزیدگی مانند درد فراوان، افزایش ترشح بزاق، آشفستگی در بلع و بی‌تابی در چند دقیقه پس از گزش نمودار شده و پس از ۵ ساعت به اوج خود رسیده که تا ۲۴-۷۲ ساعت پایدار می‌ماند (Petricevich 2010). از جمله پیامدهای سم اعضای خانواده‌ی بوتیده به صورت دگرگونی در شمارش سلول‌های خونی (هموگرام)، همولیز و شکنندگی اسمزی گویچه‌های خونی است (Radha Krishna Murthy and Zolfagharian 1986).

تجویز آنتی‌ونوم تنها درمان اختصاصی کژدم گزیدگی محسوب می‌گردد. با این وجود، کارایی آن در از میان بردن یا پیش‌گیری از عوارض قلبی عروقی ناشی از سم، مورد سؤال است. همچنین خطر شوک ازدیاد حساسیت در افراد تحت درمان با آنتی‌ونوم وجود دارد (دهقانی و ولایی ۱۳۸۴).

لذا استفاده از داروهای گیاهی با توجه به منشأ طبیعی و عوارض جانبی کم‌تر، به منظور درمان عوارض کژدم گزیدگی توسط برخی از محققین مورد توجه قرار گرفته است. ضمن این که، بسیاری از مواد مؤثره‌ی داروهای مورد استفاده در درمان بیماری‌ها ریشه‌ی طبیعی داشته یا آنالوگ سنتتیک آن‌ها هستند (Nasim et al. 2013, Hutt and Houghton 1998).

کوارستین^۱ جزئی از دسته‌ی بزرگ ترکیب‌های فلاونوئیدی پلی‌فنولیک است که در گیاهان و غذاهای گیاهی وجود دارد ولی میزان آن در پیاز و چای سبز نسبت به دیگر مواد غذایی بیش‌تر است. این ترکیب دارای ویژگی‌های دارویی و درمانی فراوانی بوده و از جمله برای درمان و پیش‌گیری از التهاب، آترواسکلروزیس، آریتمی و اختلالات عروقی، ترومبوز و ازدیاد حساسیت به کار گرفته شده است. همچنین کوارستین با توانایی

1- Quercetin
2- Scavenges

آزمایش CBC^۲ به وسیله‌ی دستگاه شمارشگر خودکار سلولی شرکت Mindray مدل BC-2800VET (ساخت کشور چین) انجام گرفت. شمارش تفریقی گلبول‌های سفید با آماده‌سازی و رنگ‌آمیزی گسترش خونی از هر نمونه و مشاهده‌ی میکروسکوپی آن صورت گرفت.

آزمایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز (OF)^۳ بر روی نمونه‌های حاوی ماده‌ی ضدانعقادی به روش متداول انجام گرفت. به طور خلاصه، برای هر نمونه ۱۶ لوله حاوی رقت‌های سریال هایپوتونیک از بافر نمکی سدیم کلراید با غلظت‌های صفر تا ۰/۸۵ درصد نمک تهیه شد. پس از افزودن میزان مساوی (۲۰ میکرولیتر) خون به هر لوله و انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، لوله‌ها با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. نهایتاً میزان جذب نوری محلول رویی هر یک از لوله‌ها در برابر آب مقطر (به عنوان بلانک) در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید و درصد همولیز در هر لوله نسبت به لوله‌ی با غلظت نمک صفر (به عنوان ۱۰۰ درصد همولیز) محاسبه گردید و نمودار درصد همولیز در برابر غلظت نمک مربوط به هر نمونه ترسیم شد (Jain 2010).

نهایتاً نتایج حاصل از بررسی تابلوی خونی و نیز شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز در گروه‌های مختلف، با آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه^۴ و پس آزمون توکی^۵ مورد آنالیز قرار گرفت و $p < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

یافته‌های هموگرام

بررسی اندیس‌های گلبول‌های قرمز نشان می‌دهد که در زمان‌های مختلف خون‌گیری از گروه‌های مختلف تغییر

اهواز) را به میزان ۱/۵mg/kg به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. با توجه به عدم گزارش دوز LD₅₀ سم کژدم مزوبوتوس یوپتوس در موش صحرائی، جهت انتخاب دوز مناسب از سم کژدم مذکور از دوز LD₅₀ تعیین شده در موش سوری (۴/۵ mg/kg) توسط Zayerzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ الگوبرداری گردید. البته با هدف زنده ماندن بیش‌تر موش‌های صحرائی و ایجاد فرصت کافی جهت توسعه‌ی عوارض خون‌شناسی احتمالی، دوز استفاده شده به میزان کم‌تر از LD₅₀ (۱/۵ mg/kg) انتخاب گردید.

گروه ۳: سم کژدم مزوبوتوس یوپتوس به میزان ۱/۵mg/kg و ۲۰ دقیقه پس از تزریق سم، آنتی‌ونوم پلی-والان با غلظت ۵۰ درصد (ساخت مؤسسه‌ی واکسن و سرم‌سازی رازی حصارک، کرج) را به میزان ۲/۵ml/kg به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

گروه ۴: سم کژدم مزوبوتوس یوپتوس به میزان ۱/۵mg/kg و ۲۰ دقیقه پس از تزریق سم، کوارستین (شرکت سیگما-آلدریچ^۱، آلمان) را به میزان ۲۰۰mg/kg به صورت درون صفاقی دریافت کردند. دوز انتخابی کوارستین برای این مطالعه بر اساس تحقیقات انجام شده توسط Aravindakshan و همکاران در سال ۱۹۸۵ می‌باشد.

گروه ۵: سم کژدم مزوبوتوس یوپتوس به میزان ۱/۵mg/kg و ۲۰ دقیقه پس از تزریق سم، پادزهر را به میزان ۲/۵ml/kg و کوارستین را به میزان ۲۰۰mg/kg به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

خون‌گیری از قلب در زمان‌های ۱، ۳ و ۲۴ ساعت پس از تزریق سم همراه با ماده‌ی ضد انعقادی هپارین انجام گرفت و نمونه‌های خون برای آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

- 1- Sigma Aldrich
- 2- Complete Blood Count
- 3- Osmotic Fragility
- 4- One Way-ANOVA
- 5- Tukey's Post Hoc test

هیچ یک از تغییرهای یاد شده از نظر آماری معنی دار نبود ($p > 0.05$). ضمناً قابل ذکر است که در هیچ یک از نمونه‌های خون اخذ شده، همولیز در پلاسما قابل مشاهده نبود (جدول ۱).

معنی داری نسبت به گروه کنترل رخ نداده است (جدول ۱). میانگین شمار RBC، Hb و HCT در گروه ۲ و ۴ پس از ۲۴ ساعت از تزریق سم نسبت به گروه کنترل کاهش یافتند ولی این کاهش در گروه‌های ۳ و ۵ با دریافت آنتی ونوم کمتر مشاهده شد یا دیده نشد. اگر چه

جدول ۱: میانگین \pm خطای معیار اندیس‌های گلبول‌های قرمز در هر یک از گروه‌ها

گروه*	ساعت خونگیری	RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Hct (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	RDW (%)
۱	۱	۷/۷۹ \pm ۰/۱۲	۱۳/۰ \pm ۰/۱۸	۴۳/۰۱ \pm ۰/۷۱	۵۵/۳۱ \pm ۱/۰۶	۱۶/۶۶ \pm ۰/۳۷	۳۰/۱۶ \pm ۰/۲۵	۱۳/۹۵ \pm ۰/۲۰
	۳	۸/۰۴ \pm ۰/۶۸	۱۳/۴۰ \pm ۰/۴۷	۴۵/۱۰ \pm ۱/۳۷	۵۶/۱۶ \pm ۰/۷۶	۱۶/۶۱ \pm ۰/۲۲	۲۹/۶۳ \pm ۰/۲۴	۱۳/۵۳ \pm ۰/۲۵
	۲۴	۷/۹۱ \pm ۰/۲۲	۱۳/۴۵ \pm ۰/۳۵	۴۲/۸۵ \pm ۱/۰۴	۵۴/۲۶ \pm ۰/۵۴	۱۶/۶۱ \pm ۰/۴۷	۳۱/۳۳ \pm ۰/۱۰	۱۳/۳۳ \pm ۰/۲۷
۲	۱	۷/۱۵ \pm ۰/۱۵	۱۲/۳۳ \pm ۰/۱۶	۴۰/۱۳ \pm ۰/۵۲	۵۶/۲۶ \pm ۱/۳۶	۱۷/۲۳ \pm ۰/۴۱	۳۰/۷۰ \pm ۰/۱۳	۱۴/۴۱ \pm ۰/۳۰
	۳	۷/۸۶ \pm ۰/۱۵	۱۳/۴۱ \pm ۰/۱۶	۴۲/۳۵ \pm ۰/۳۶	۵۳/۹۸ \pm ۰/۹۴	۱۷/۰۱ \pm ۰/۳۳	۳۱/۶۳ \pm ۰/۲۹	۱۲/۸۵ \pm ۰/۶۴
	۲۴	۶/۹۶ \pm ۰/۱۸	۱۱/۸۳ \pm ۰/۲۵	۳۸/۲۳ \pm ۰/۸۲	۵۵/۰۶ \pm ۱/۱۸	۱۷/۰۰ \pm ۰/۳۲	۳۰/۹۰ \pm ۰/۱۷	۱۴/۰۸ \pm ۰/۶۴
۳	۱	۷/۲۹ \pm ۰/۳۲	۱۲/۵۶ \pm ۰/۲۲	۳۹/۲۸ \pm ۰/۶۳	۵۴/۳۵ \pm ۱/۹۰	۱۷/۳۰ \pm ۰/۵۹	۳۱/۹۳ \pm ۰/۱۵	۱۴/۲۰ \pm ۰/۳۲
	۳	۷/۸۱ \pm ۰/۳۰	۱۳/۳۵ \pm ۰/۴۷	۴۱/۶۶ \pm ۱/۴۶	۵۳/۴۳ \pm ۰/۵۸	۱۷/۰۳ \pm ۰/۱۶	۳۲/۰۰ \pm ۰/۲۴	۱۴/۴۱ \pm ۰/۹۱
	۲۴	۷/۸۲ \pm ۰/۱۷	۱۳/۵۱ \pm ۰/۲۱	۴۱/۸۵ \pm ۰/۵۴	۵۳/۶۳ \pm ۱/۱۳	۱۷/۲۵ \pm ۰/۴۴	۳۲/۲۵ \pm ۰/۳۲	۱۳/۵۳ \pm ۰/۵۵
۴	۱	۸/۱۹ \pm ۰/۱۹	۱۴/۸۱ \pm ۰/۳۴	۴۳/۶۰ \pm ۰/۹۶	۵۳/۳۵ \pm ۰/۸۶	۱۸/۰۶ \pm ۰/۲۵	۳۳/۹۱ \pm ۰/۲۱	۱۱/۴۳ \pm ۰/۱۹
	۳	۸/۰۲ \pm ۰/۳۰	۱۳/۹۰ \pm ۰/۴۱	۴۲/۲۶ \pm ۱/۰۱	۵۴/۱۳ \pm ۰/۱۹	۱۷/۷۱ \pm ۰/۲۶	۳۲/۹۱ \pm ۰/۶۷	۱۱/۸۳ \pm ۰/۳۰
	۲۴	۷/۵۲ \pm ۰/۲۲	۱۳/۲۶ \pm ۰/۴۶	۴۱/۲۶ \pm ۱/۰۳	۵۴/۹۳ \pm ۰/۵۷	۱۷/۵۳ \pm ۰/۲۱	۳۲/۰۵ \pm ۰/۴۰	۱۲/۲۸ \pm ۰/۲۸
۵	۱	۸/۰۰ \pm ۰/۲۱	۱۳/۶۳ \pm ۰/۶۳	۴۲/۵۸ \pm ۱/۰۶	۵۳/۳۵ \pm ۰/۶۲	۱۷/۰۰ \pm ۰/۲۱	۳۱/۹۶ \pm ۰/۱۴	۱۳/۴۰ \pm ۰/۴۶
	۳	۷/۱۹ \pm ۰/۴۱	۱۲/۰۸ \pm ۰/۷۱	۳۸/۳۰ \pm ۲/۲۹	۵۳/۳۱ \pm ۰/۶۰	۱۶/۷۵ \pm ۰/۱۴	۳۱/۵۳ \pm ۰/۳۶	۱۳/۴۶ \pm ۰/۷۳
	۲۴	۷/۷۷ \pm ۰/۱۴	۱۳/۳۵ \pm ۰/۳۱	۴۲/۰۶ \pm ۰/۹۳	۵۴/۱۶ \pm ۱/۳۸	۱۷/۰۱ \pm ۰/۱۲	۳۱/۶۸ \pm ۰/۹۴	۱۳/۷۶ \pm ۰/۴۲

* تفاوت معنی دار بین گروه‌ها در مورد هیچ یک از اندیس‌های گلبول‌های قرمز مشاهده نشد.

(حجم متوسط پلاکتی) در گروه‌های مختلف، متناسب با شمار پلاکت‌ها بوده و یک ساعت پس از تزریق سم در گروه‌های یاد شده به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. در ارتباط با سایر اندیس‌های پلاکتی تغییر قابل توجهی نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردید (جدول ۲).

با توجه به جدول ۲، افزایش در شمار پلاکت‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده سم (۲، ۳، ۴ و ۵) یک ساعت پس از تزریق سم دیده شد که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی دار بوده است ($p < 0.05$). نهایتاً ۲۴ ساعت پس از تزریق سم، میزان پلاکت‌ها در کلیه گروه‌های نامبرده کاهش یافت. همچنین تغییرات میانگین PCT (حجم فشرده پلاکتی) با توجه به ثابت بودن نسبی MPV

جدول ۲: میانگین \pm خطای معیار اندیس‌های پلاکتی در هر یک از گروه‌ها

گروه	ساعت خونگیری	PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	MPV (fl)	PDW (%)	PCT (%)
۱	۱	۲۶۳/۰ \pm ۱۷/۷۹a*	۵/۷۵ \pm ۰/۰۶	۱۴/۷۸ \pm ۰/۴۷	۰/۱۵ \pm ۰/۰۰ a
	۳	۳۰۳/۰ \pm ۱۵/۴۶	۵/۷۳ \pm ۰/۰۷	۱۴/۶۶ \pm ۰/۰۹	۰/۱۷ \pm ۰/۰۱
	۲۴	۳۳۴/۵۰ \pm ۲۲/۵۴	۶/۰۵ \pm ۰/۰۹	۱۵/۰۳ \pm ۰/۱۰	۰/۲۰ \pm ۰/۰۱
۲	۱	۴۵۵/۵۰ \pm ۱۸/۲۳b	۵/۹۵ \pm ۰/۰۷	۱۴/۶۸ \pm ۰/۰۸	۰/۲۷ \pm ۰/۰۱ b
	۳	۴۴۴/۶۶ \pm ۲۸/۰۰	۵/۹۸ \pm ۰/۰۸	۱۴/۷۱ \pm ۰/۱۱	۰/۲۶ \pm ۰/۰۱
	۲۴	۳۵۲/۶۶ \pm ۳۳/۵۶	۶/۰۰ \pm ۰/۰۶	۱۴/۷۳ \pm ۰/۱۲	۰/۲۱ \pm ۰/۰۱
۳	۱	۴۶۹/۰ \pm ۲۷/۸۹b	۶/۰۰ \pm ۰/۱۰	۱۴/۷۵ \pm ۰/۱۲	۰/۲۸ \pm ۰/۰۲ b
	۳	۴۱۱/۶۶ \pm ۳۹/۰۲	۵/۸۱ \pm ۰/۰۷	۱۲/۸۸ \pm ۱/۷۱	۰/۲۳ \pm ۰/۰۲
	۲۴	۳۸۹/۸۳ \pm ۲۴/۹۶	۵/۸۸ \pm ۰/۱۱	۱۴/۶۸ \pm ۰/۰۷	۰/۲۲ \pm ۰/۰۱
۴	۱	۴۲۴/۸۳ \pm ۲۷/۳۸b	۵/۸۸ \pm ۰/۰۶	۱۴/۸۷ \pm ۰/۰۷	۰/۲۵ \pm ۰/۰۱ b
	۳	۲۹۸/۵۰ \pm ۹/۸۲	۶/۰۸ \pm ۰/۲۳	۱۵/۲۴ \pm ۰/۱۱	۰/۱۸ \pm ۰/۰۰
	۲۴	۳۶۰/۸۳ \pm ۱۸/۸۶	۶/۳۵ \pm ۰/۱۲	۱۵/۲۸ \pm ۰/۱۰	۰/۲۲ \pm ۰/۰۱
۵	۱	۴۱۶/۵۰ \pm ۲۷/۶۳b	۵/۸۶ \pm ۰/۰۴	۱۴/۷۳ \pm ۰/۰۶	۰/۲۴ \pm ۰/۰۱ b
	۳	۴۳۴/۱۶ \pm ۴۶/۳۵	۵/۷۳ \pm ۰/۱۰	۱۴/۶۰ \pm ۰/۱۳	۰/۲۴ \pm ۰/۰۲
	۲۴	۳۸۵/۳۳ \pm ۲۹/۴۷	۵/۸۸ \pm ۰/۱۳	۱۴/۹۱ \pm ۰/۱۵	۰/۲۲ \pm ۰/۰۲

* حروف لاتین نامتشابه در هر ستون بیان‌گر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد.

بود. ضمناً تغییرات رخ داده در گروه‌های نامبرده در گروه ۲ دیده نشد. در گروه‌های ۲، ۴ و ۵، افزایش معنی‌دار شمار نوتروفیل‌ها ۳ ساعت پس از تزریق سم کژدم، نسبت به گروه کنترل و نسبت به خون‌گیری یک ساعته مشاهده گردید و این تغییرات در گروه ۳ نیز به طور غیرمعنی‌دار دیده شد. همچنین در خون‌گیری ۳ ساعته از شمار لنفوسیت‌ها در کلیه‌ی گروه‌های دریافت‌کننده‌ی سم کاسته شد ولی این کاهش تنها در گروه ۴ از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۳).

با توجه به یافته‌های به دست آمده از شمارش تام و تفریقی گلبول‌های سفید، در شمار تام گلبول‌های سفید و نیز شمار لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در گروه‌های ۳، ۴ و ۵ در ۲۴ ساعت پس از تزریق سم نسبت به خون‌گیری یک ساعته افزایش مشاهده گردید که این تغییرات در مورد شمار تام گلبول‌های سفید و نوتروفیل‌ها در گروه ۵ از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). همچنین شمار تام گلبول‌های سفید و نوتروفیل‌ها در این گروه‌ها در خون‌گیری ۲۴ ساعته نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود که این افزایش در گروه ۴ و ۵ از نظر شمار نوتروفیل‌ها معنی‌دار

جدول ۳: میانگین \pm خطای معیار شمار تام و تفریقی گلبول‌های سفید در هر یک از گروه‌ها

گروه	ساعت خونگیری	WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Lym ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Neu ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Mon ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Eos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)
۱	۱ _a	۸/۲۰ \pm ۰/۵۶	۷/۴۹ \pm ۱/۴۵	۲/۱۷ \pm ۰/۳۱	۰/۱۵ \pm ۰/۰۲	۰/۰۴ \pm ۰/۰۱
	۳ _b	۱۰/۴۵ \pm ۱/۴۵	۸/۵۳ \pm ۱/۴۳	۱/۷۷ \pm ۰/۳۲ e, k	۰/۱۲ \pm ۰/۰۳	۰/۰۲ \pm ۰/۰۲
	۲۴ _c	۹/۷۷ \pm ۱/۵۹	۸/۳۲ \pm ۱/۳۲	۱/۴۱ \pm ۰/۲۹ l, o	۰/۱۹ \pm ۰/۰۵	۰/۰۴ \pm ۰/۰۴
۲	۱ _d	۸/۸۱ \pm ۱/۲۰	۶/۳۶ \pm ۰/۶۵	۲/۳۳ \pm ۰/۵۷	۰/۰۵ \pm ۰/۰۴	۰/۰۵ \pm ۰/۰۴
	۳ _e	۸/۰۶ \pm ۰/۹۷	۳/۱۱ \pm ۰/۸۲	۴/۷۵ \pm ۰/۶۹ b, f	۰/۱۳ \pm ۰/۰۵	۰/۰۶ \pm ۰/۰۳
	۲۴ _f	۸/۱۱ \pm ۱/۳۹	۶/۲۵ \pm ۱/۱۵	۱/۵۹ \pm ۰/۳۱ e, o	۰/۰۸ \pm ۰/۰۴	۰/۱۸ \pm ۰/۰۵
۳	۱ _g	۸/۷۰ \pm ۱/۶۸	۶/۷۱ \pm ۱/۴۸	۱/۸۶ \pm ۰/۳۵	۰/۱۰ \pm ۰/۰۳	۰/۰ \pm ۰/۰۰
	۳ _h	۸/۳۸ \pm ۰/۹۰	۴/۱۹ \pm ۰/۹۲	۳/۹۸ \pm ۰/۴۶	۰/۱۷ \pm ۰/۰۲	۰/۰۳ \pm ۰/۰۲
	۲۴ _i	۱۱/۸۳ \pm ۰/۵۷	۸/۴۴ \pm ۰/۵۶	۳/۲۴ \pm ۰/۴۲	۰/۱۰ \pm ۰/۰۳	۰/۰۴ \pm ۰/۰۲
۴	۱ _j	۹/۰۰ \pm ۱/۴۴	۷/۱۲ \pm ۱/۴۴	۲/۱۶ \pm ۰/۴۸ k	۰/۲۱ \pm ۰/۰۷	۰/۰۲ \pm ۰/۰۱
	۳ _k	۹/۲۱ \pm ۰/۶۸	۳/۹۲ \pm ۰/۸۸ l	۴/۹۸ \pm ۰/۷۰ b, j	۰/۱۹ \pm ۰/۰۵	۰/۱۱ \pm ۰/۰۸
	۲۴ _l	۱۲/۵۸ \pm ۱/۸۶	۹/۸۳ \pm ۱/۹۱ k	۳/۹۹ \pm ۰/۷۳ c	۰/۱۸ \pm ۰/۰۶	۰/۰۲ \pm ۰/۰۲
۵	۱ _m	۵/۸۰ \pm ۱/۰۶ o	۴/۵۰ \pm ۰/۷۹	۱/۱۰ \pm ۰/۲۵ n, o	۰/۱۴ \pm ۰/۰۴	۰/۰۳ \pm ۰/۰۲
	۳ _n	۹/۰۳ \pm ۱/۳۷	۴/۳۶ \pm ۰/۸۶	۴/۲۹ \pm ۰/۷۴ m	۰/۱۶ \pm ۰/۰۴	۰/۱۰ \pm ۰/۰۸
	۲۴ _o	۱۱/۸۵ \pm ۰/۹۷ m	۷/۰۱ \pm ۰/۲۸	۴/۵۶ \pm ۰/۶۶ c, m	۰/۲۰ \pm ۰/۰۸	۰/۰۷ \pm ۰/۰۵

* حروف لاتین در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها و ساعت‌های مختلف خون‌گیری است که با توجه به حروف لاتین تعیین شده برای هر گروه در ستون دوم، مشخص گردیده است.

یافته‌های شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز

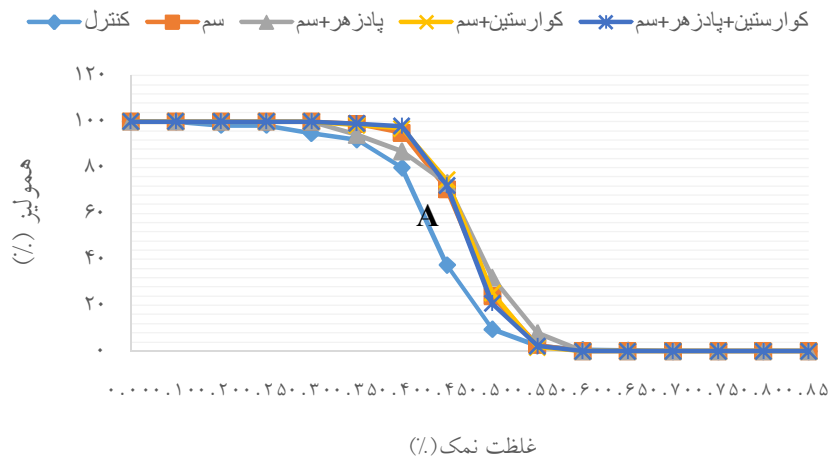
را نشان دادند (نمودار ۱ تا ۳). در همین گروه در رقت ۰/۴۵ درصد بافر نمکی در ساعت‌های ۱، ۳ و ۲۴ پس از تزریق سالین به ترتیب ۳۷/۵۲ \pm ۱۰/۰۳، ۴۴/۴۶ \pm ۶/۶۸ و ۰/۳۵ درصد همولیز رخ داد. در رقت ۰/۳۵ درصد بافر نمکی در ساعت‌های ۱، ۳ و ۲۴ پس از تزریق سالین همولیز به ترتیب ۹۲/۲۰ \pm ۲/۷۸، ۹۳/۰۰ \pm ۱/۷۸ و ۸۷/۶۸ \pm ۰/۸۵ درصد بوده است. از سویی شکنندگی

با بررسی یافته‌های آزمایش OF آشکار شد که گلبول‌های قرمز در گروه کنترل می‌توانند به آسانی در برابر رقت ۰/۵۰ درصد و به میزان کم‌تری رقت ۰/۴۵ درصد، بدون همولیز چندانی، پایدار بمانند به گونه‌ای که گلبول‌های قرمز در رقت ۰/۵۰ درصد بافر نمکی در ساعت‌های ۱، ۳ و ۲۴ پس از تزریق سالین به ترتیب ۸/۹۶ \pm ۳/۰۹، ۱۲/۳۱ \pm ۱/۸۶ و ۷/۶۶ \pm ۱/۸۶ درصد همولیز

گروه ۴ ($۹۸/۴۸ \pm ۱/۵۱$ ، $۱۰۰/۰۰ \pm ۰/۰۰$ و $۱۰۰/۰۰ \pm ۰/۰۰$) و گروه ۵ ($۹۹/۱۰ \pm ۰/۸۹$ ، $۱۰۰/۰۰ \pm ۰/۰۰$ و $۱۰۰/۰۰ \pm ۰/۰۰$) درصد همولیز ایجاد شد. این رخداد سبب جابجایی نمودار همولیز به سوی راست در گروه‌های دریافت‌کننده سم (۲، ۳، ۴ و ۵) در هر سه نوبت خون‌گیری شده است (نمودار ۱ تا ۳).

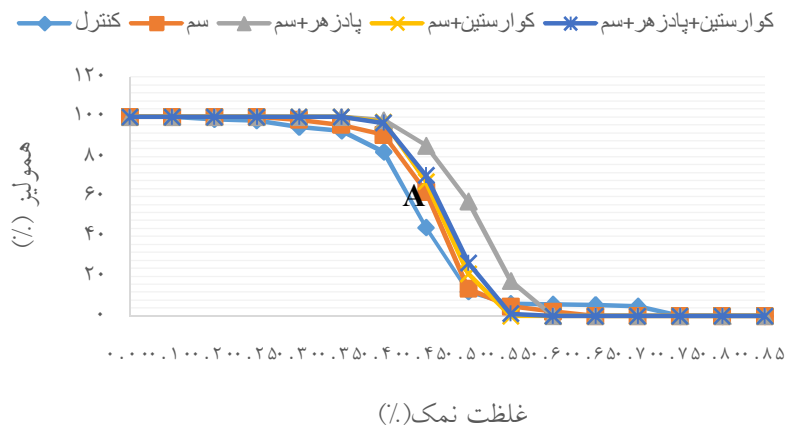
اسمزی گلبول‌های قرمز گروه دریافت‌کننده سم (گروه ۲) به همراه دیگر گروه‌ها در رقت $۰/۳۵$ درصد بافر نمکی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان دادند به گونه‌ای که در این رقت و در ساعت‌های ۱، ۳ و ۲۴ به ترتیب در گروه ۲ ($۹۹/۰۵ \pm ۰/۹۴$ ، $۹۵/۹۳ \pm ۱/۴۸$ و $۹۹/۲۳ \pm ۰/۷۶$)، گروه ۳ ($۹۴/۲۰ \pm ۲/۱۱$) و $۱۰۰/۰۰ \pm ۰/۰۰$ و $۱۰۰/۰۰ \pm ۰/۰۰$ (گروه ۴) تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان دادند.

نمودار شکنندگی اسمزی یک ساعته



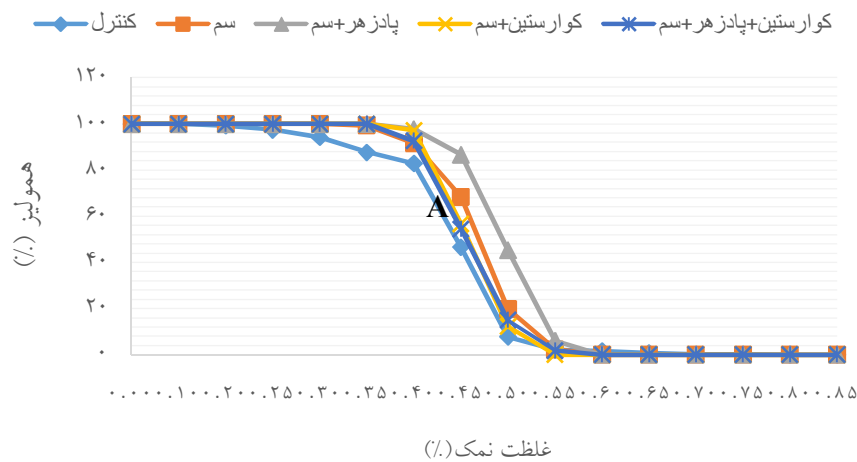
نمودار ۱: مقایسه‌ی میانگین شکنندگی اسمزی اریتروسیت‌ها یک ساعت پس از تزریق سم در گروه‌های مختلف. حرف A نشان‌گر تفاوت معنی‌دار درصد همولیز گروه کنترل با دیگر گروه‌ها در رقت‌های $۰/۳۵$ ، $۰/۴۵$ و $۰/۵۰$ درصد بافر نمکی می‌باشد.

نمودار شکنندگی اسمزی سه ساعته



نمودار ۲: مقایسه‌ی میانگین شکنندگی اسمزی اریتروسیت‌ها سه ساعت پس از تزریق سم در گروه‌های مختلف. حرف A نشان‌گر تفاوت معنی‌دار درصد همولیز گروه کنترل با دیگر گروه‌ها در رقت‌های $۰/۳۵$ ، $۰/۴۵$ و $۰/۵۰$ درصد بافر نمکی می‌باشد.

نمودار شکنندگی اسمزی ۲۴ ساعته



نمودار ۳: مقایسه‌ی میانگین شکنندگی اسمزی اریتروسیت‌ها ۲۴ ساعت پس از تزریق سم در گروه‌های مختلف. حرف A نشان‌گر تفاوت معنی‌دار درصد همولیز گروه کنترل با دیگر گروه‌ها در رقت‌های ۰/۳۵، ۰/۴۵ و ۰/۵۰ درصد بافر نمکی می‌باشد.

بحث

کاهش یافتند ولی این کاهش در دیگر گروه‌ها با دریافت پادزهر کم‌تر مشاهده شد. اگر چه هیچ یک از تغییرهای یاد شده از دید آماری معنی‌دار نبود. احتمالاً دلیل این موضوع، همولیز جزئی ناشی از سم کژدم می‌باشد که به وسیله‌ی آنتی‌ونوم از این حالت جلوگیری شده است.

همچنین افزایش در شمار لکوسیت‌ها و نیز شمار لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق سم در گروه‌های درمانی (گروه ۳، ۴، ۵) مشاهده گردید که این مساله می‌تواند ناشی از تحریک سیستم ایمنی به واسطه‌ی درمان‌های انجام شده (تزریق آنتی‌ونوم و یا کوارستین) باشد و به نظر می‌رسد ارتباطی با تزریق سم نداشته باشد چرا که این افزایش در گروهی که تنها سم دریافت کرده بود دیده نشد.

سه ساعت پس از تزریق سم نیز در کلیه‌ی گروه‌های دریافت‌کننده‌ی سم کژدم، افزایش معنی‌دار نوتروفیل‌ها و کاهش لنفوسیت‌ها بدون افزایش در تعداد تام لکوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. یافته‌ی اخیر با نتایج

کژدم گزیدگی از مهم‌ترین چالش‌های بهداشتی کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری است که هر ساله جان هزاران تن را با خطر مرگ روبرو می‌کند. کژدم مزوبوتوس یوپیوس به عنوان عضوی از خانواده‌ی بوتیده، فراوان‌ترین گونه در سراسر کشور است که در اماکن انسانی بسر می‌برد (صداقت و همکاران ۱۳۹۰).

با توجه به نبود سابقه‌ی تحقیقات کافی درباره‌ی کژدم مزوبوتوس یوپیوس و پیامدهای آن بر تابلوی خونی، در مطالعه‌ی پیش رو پیامدهای سم این کژدم بر تابلوی خونی و شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز موش صحرایی و اثر حفاظتی آنتی‌ونوم پلی‌والان و ماده‌ی آنتی‌اکسیدان کوارستین مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌های به دست آمده از این مطالعه نشان داد که میانگین مقادیر شاخص‌های اریتروسیتی شامل Hb، RBC، Hct، MCH و MCHC در گروه دریافت‌کننده‌ی سم به تنهایی (گروه ۲) و گروه دریافت‌کننده‌ی سم به همراه کوارستین (گروه ۴) پس از ۲۴ ساعت از تزریق سم

هموگلوبین از میزان طبیعی پایین تر بوده است. همچنین یافته‌های این محققین نشان داد که در شمار گلبول‌های سفید افزایش معنی‌داری رخ نداده است.

همچنین Dehghani و همکاران در سال ۲۰۱۲ کاهش شمار RBC و Hct و افزایش شمارش کلی WBC را پس از تزریق سم همی‌اسکورپیوس لپتوروس (گادیم) به موش سوری گزارش کرده‌اند اگرچه تنها تغییر Hct معنی‌دار بوده است. با این حال در پژوهشی دیگر دهقانی و همکاران در سال ۱۳۸۴ افزایش گلبول‌های قرمز، کاهش گلبول‌های سفید و کاهش هماتوکریت را در پی تزریق سم کژدم همی‌اسکورپیوس لپتوروس در موش صحرائی نشان داده‌اند.

افزایش میزان Hb، Hct و نوتروفیلی در اثر تزریق سم کژدم تیتیوس سرالاتوس و نیز کژدم مزوبوتوس تامولوس گانگتیکوس^۵ گزارش شده است. به نظر می‌رسد دلیل این امر آزادسازی شدید کتکول آمین‌ها و آنژیوتانسین II و در پی آن خروج مایعات از درون عروق و تغلیظ خون به دنبال تزریق سم باشد (Cusinato et al. 2010, Chaubey, 2000, Borges et al. 2010).

تفاوت در یافته‌های خون‌شناسی ناشی از سم دیگر کژدم‌ها را می‌توان به تفاوت در گونه‌ی کژدم‌ها و سم آن‌ها مرتبط دانست.

بررسی یافته‌های آزمایش شکنندگی اسمزی در این مطالعه نشان می‌دهد که با تزریق سم در گروه ۲، شکنندگی اسمزی گویچه‌های قرمز نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت. این نتایج با یافته‌های سایر محققین هم‌خوانی دارد.

افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز (OF) ناشی از سم کژدم همی‌اسکورپیوس لپتوروس در خرگوش

رادمش در سال ۱۳۶۷ و نیز Borges و همکاران در سال ۲۰۰۰ هم‌خوانی دارد که بیان‌گر افزایش نسبت نوتروفیل‌ها به لنفوسیت‌ها در پی کژدم زدگی به ترتیب ناشی از همی‌اسکورپیوس لپتوروس^۱ (گادیم) و تیتیوس سرالاتوس^۲ بود. همچنین لنفوپنی و نوتروفیلی در کودکان دچار کژدم گزیدگی با گونه‌ی آندروکتونوس موریتانیکوس^۳ گزارش شده است (Aboumaad et al. 2014). دلیل احتمالی این حالت را می‌توان با افزایش واسطه‌های التهابی از جمله TNF- α و IL-1 متعاقب تزریق سم کژدم مرتبط دانست که منجر به یک پاسخ التهابی سیستمیک و افزایش رهاسازی نوتروفیل‌ها به جریان خون می‌گردد (Zayerzadeh et al. 2014).

افزایش موقت شمار پلاکت‌ها و حجم فشرده‌ی پلاکتی (Pct) در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی سم نیز، احتمالاً به دلیل اثرات واسطه‌های التهابی بر شمار پلاکت‌ها و ایجاد ترومبوسیتوز ثانویه می‌باشد (Meki and Mohey 1998).

درباره‌ی تغییرات هموگرام ناشی از گزش با کژدم مزوبوتوس یوئوس، مطالعه‌ای یافت نشد، اما در مورد اثر سم سایر کژدم‌ها بر شاخص‌های خون‌شناسی یافته‌های گوناگونی گزارش شده است.

از جمله در مطالعه‌ی Mohseni و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مورد افراد کژدم زده‌ی منطقه‌ی رامهرمز، مشخص گردید که در بیش‌تر موارد کژدم گزیدگی ناشی از گونه‌ی همی‌اسکورپیوس لپتوروس و در موارد اندکی ناشی از گونه‌ی آندروکتونوس کراسیکودا^۴ بوده، در حالی که در بیش از نیمی از موارد نوع کژدم نامشخص بوده است. در این مطالعه میانگین Hb، Hct، RBC و PLT بیماران (در انواع کژدم گزیدگی) در دامنه‌ی طبیعی بود هرچند که در برخی موارد تعداد اریتروسیت‌ها و میزان

1- *Hemiscorpius lepturus*

2- *Tityus serrulatus*

3- *Androctonus mauritanicus*

4- *Androctonus crassicauda*

5- *Mesobuthus tamulus gangeticus*

در این بررسی، آنتی ونوم پلی والان نتوانست در دوز و زمان به کار رفته از افزایش شکنندگی گلبول های قرمز پس از تزریق سم جلوگیری کند ولی می تواند بر دیگر پیامدهای احتمالی اثرگذار باشد، چنان که در این مطالعه، تزریق آنتی ونوم نتوانست نشانه های بالینی ناشی از تزریق سم همچون خونریزی چشم و حالت تهاجمی و درگیری میان موش های صحرایی را به خوبی مهار کند. یافته های بررسی پیش رو با مطالعه جلالی و همکاران همخوانی دارد چرا که آنان گزارش کرده اند آنتی ونوم پلی والان نمی تواند از کاهش پارامترهایی مانند RBC و Hb و افزایش پارامترهایی مانند LDH، میکروآلبومین اوری پس از تزریق سم کژدم گادیم در موش صحرایی جلوگیری کند (Jalali et al. 2011). با این وجود در تحقیق دیگری مشخص شد تزریق آنتی ونوم ویژه ی گونه (SAV³) کژدم مزوبوتوس تامولوس از افزایش شکنندگی اسمزی در ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق سم به سگ ها می کاهد و از سویی دیگر از افزایش OF در گروه درمان شده با آنتی ونوم هم زمان با تزریق سم جلوگیری می کند (Radha Krishna and Zare 2001).

دوگانگی میان یافته های به دست آمده از کارایی آنتی ونوم بر سم این کژدم ها در مقایسه با کژدم مزوبوتوس یوپئوس، می تواند ناشی از تفاوت در اثر همولیتیک سم این کژدم ها با کژدم به کار رفته در این بررسی، کارایی بهتر آنتی ونوم SAV نسبت به آنتی ونوم پلی والان و یا تفاوت های خون شناسی جانوران آزمایشگاهی به کار رفته باشد.

کارایی آنتی ونوم در کاهش پاسخ های التهابی سیستمیک به دلیل افزایش سایتوکین ها ناشی از سم کژدم مزوبوتوس یوپئوس در سایر پژوهش ها به اثبات رسیده است (Zayerzadeh et al. 2014).

بر پایه ی یافته های این مطالعه، کوارستین کارایی چندانی در حفاظت از گلبول های قرمز موش صحرایی در

(Mirakabadi et al. 2007) گزارش شده است. همچنین تزریق سم کژدم ادنتوبوتوس دوریه^۱ در خرگوش سبب افزایش معنی دار OF گلبول های قرمز می گردد ولی در شرایط in vitro چنین افزایشی به صورت معنی دار دیده نشده است (Mirakabadi et al. 2006). در بررسی دیگری با تزریق سم کژدم قرمز هندی به نام مزوبوتوس تامولوس کانکانزیز پوکوک^۲ به سگ ها میزان شکنندگی گلبول های قرمز افزایش معنی داری یافت و در شرایط in vitro نیز افزایش معنی داری به صورت وابسته به دوز در OF رخ داد (Radha Krishna Murthy and Zare 2001). افزون بر این، افزایش معنی دار در شکنندگی گلبول های قرمز سگ هایی که پس از تزریق سم کژدم مزوبوتوس تامولوس دچار میوکاردیت حاد شده اند گزارش شده است (Kari and Zolfagharian 1985).

بررسی های مختلف نشان داده است که سم کژدم با مکانیسم های گوناگونی می تواند سبب آسیب به غشای گلبول های قرمز و افزایش شکنندگی این سلول ها در محیط های هایپوتونیک شود. از جمله وجود فسفولیپاز A₂ در سم کژدم ها که یک آنزیم همولیتیک نیرومند است و با اثر بر غشای سلول ها از جمله گلبول های قرمز، فسفولیپیدها را تجزیه کرده و اسیدهای چرب آزاد تولید می کنند. مطالعات نشان داده افزایش اسیدهای چرب آزاد که در افراد دچار کژدم گزیدگی گزارش شده، می تواند فعالیت آنزیم Na⁺-K⁺ ATPase را در غشای گلبول های قرمز مهار کند که به نوبه ی خود منجر به تغییر نسبت حجم به سطح گلبول های قرمز و افزایش شکنندگی آنها گردد (Radha Krishna Murthy et al. 1988). از سویی دیگر، نشان داده شده است که pH، دما، هیپرتونیسیتی و ویسکوزیته ی خون در کژدم زدگی تغییر کرده و در روندی پیچیده بر شکنندگی اسمزی تأثیر گذارند (Radha Krishna Murthy and Zare 2001).

1- *Odonthobuthus doriae*

2- *Mesobuthus tamulus concanensis* POCOCC

3- Species- specific scorpion antivenom (SAV)

درون سم ۵ گونه‌ی جانوری مختلف مانند کژدم و مار را مهار کند به گونه‌ای که بقای موش‌های سوری را پس از ایجاد مسمومیت به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهد (Kuppusamy and Das 1991).

بنابراین در مجموع می‌توان چنین نتیجه گرفت که سم کژدم مزوبوتوس یوپتوس سبب افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز و نیز نوتروفیلی می‌گردد. همچنین تجویز آنتی‌ونوم و یا کوآرستین به طور جداگانه یا همزمان در دوز و زمان به کار رفته در این مطالعه، نتوانست از تغییرات لکوگرام و افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز در پی تزریق سم جلوگیری نماید. بنابراین پیشنهاد می‌شود برای جلوگیری از پیامدهای زیان‌بار سم این کژدم، آنتی‌ونوم در دوز و زمان‌های دیگری مورد بررسی قرار گیرد.

برابر شکنندگی اسمزی ناشی از تزریق سم کژدم مزوبوتوس یوپتوس ندارد.

از آنجا که یکی از ساز و کارهای اثر سم‌ها، ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسید کننده است (Dousset et al. 2007, Sahnoun et al. 2005)، برخی بررسی‌ها درباره‌ی اثر حفاظتی احتمالی کوآرستین، به عنوان یک داروی گیاهی آنتی‌اکسیدان، در برابر مارگزیدگی و کژدم‌گزیدگی انجام گرفته است.

مطالعه‌ی Cotrim و همکاران ۲۰۱۱ نشان داد که کوآرستین نمی‌تواند پیامدهای نوروکسیک و التهابی ناشی از فسفولیپاز A₂ در سم مار را مهار کند، در حالی که انعقاد پلاکتی ناشی از آن را کاهش می‌دهد. همچنین مشخص شده که کوآرستین به عنوان بخشی از گلیکوزیدهای فلاونوئیدی می‌تواند آنزیم هیالورونیداز

منابع

بیوشیمیایی سرم خون خرگوش‌های تلقیح شده با سم عقرب همی‌اسکورپیوس لپتوروس. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۵، شماره ۲، صفحه ۲۴-۲۲.

صداقت، محمد مهدی؛ صلاحی‌مقدم، عبدالرضا و دهقانی، روح‌اله (۱۳۹۰). نقشه سازی پراکنندگی کژدم‌های مهم ایران. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران، دوره ۹، شماره ۴، صفحات ۲۹۶-۲۸۵.

Aboumaad, B.; Lahssaini, M.; Tiger, A. and Benhassain, S.M. (2014). Clinical comparison of scorpion envenomation by *Androctonus mauritanicus* and *Buthus occitanus* in children. *Toxicon*, 90: 337-343.

Aravindakshan, M.; Chauhan, P.S. and Sundaram, K. (1985). Studies on germinal effects of quercetin, a naturally occurring flavonoid. *Mutation Research*, 144:99-106.

Boots, A.W.; Haenen, G.R. and Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585(2): 325-337.

دهقانی، روح‌اله؛ خامه‌چیان، طاهره؛ تیرگری، سیاوش؛ وطن‌دوست، حسن؛ راثنی، یاور؛ رفیع‌نژاد و موسوی، غلام‌عباس (۱۳۸۴). بررسی اثر زهر کژدم گادیم بر میزان گلبول‌های سفید و قرمز و هماتوکریت رت. مجله‌ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، دوره ۱۳، شماره ۱، صفحات ۴۱-۳۲.

دهقانی، روح‌اله و ولایی، ناصر (۱۳۸۴). مروری بر وضعیت کژدم‌گزیدگی و مشکلات ناشی از آن در ایران. فصلنامه علمی پژوهشی فیض، دوره ۱، شماره ۳۳، صفحات ۶۶-۸۴.

رادمنش، محمد (۱۳۶۷). گادیم‌گزیدگی و بررسی بالینی آن. مجله دارو و درمان، سال پنجم، صفحه ۳۲-۴۱.

راضی‌جلالی، محمد؛ فاطمی‌طباطبایی، رضا؛ احمدی‌زاده، معصومه؛ راسخ، عبدالرحمن و قدرتی، مریم (۱۳۸۸). اثر انسولین و آنتی‌ونوم بر برخی پارامترهای

- Borges, C.M.; Silveira, M.R.; Aparecida, M.; Beker, C.; Freire-Maia, L. and Teixeira, M. (2000). Scorpion venom-induced neutrophilia is inhibited by a PAF receptor antagonist in the rat. *Journal of Leukocyte Biology*, 67(4): 515-519.
- Chaubey, M.K. (2010). Changes in different blood parameters during *Mesobuthus tamulus gangeticus* pocock envenomation. *Asian Journal of Applied Sciences*, 3(6): 411-416.
- Cotrim, C.A.; de Oliveira, S.C.B.; Diz Filho, E.; Fonseca, F.V.; Baldissera Jr, L.; Antunes, E. et al. (2011). Quercetin as an inhibitor of snake venom secretory phospholipase A2. *Chemico-Biological Interactions*, 189(1): 9-16.
- Cusinato, D.A.; Souza, A.M.; Vasconcelos, F.; Guimarães, L.F.; Leite, F.P.; Gregório, Z.M. et al. (2010). "Assessment of biochemical and hematological parameters in rats injected with *Tityus serrulatus* scorpion venom." *Toxicon*, 56(8): 1477-1486.
- Dehghani, R. and Fathi, B. (2012). Scorpion sting in Iran: a review. *Toxicon*, 60(5): 919-933.
- Dehghani, R.; Khomehchian, T.; Vazirianzadeh, B.; Vatandoost, H. and Moravvej, S.A. (2012). Toxic effects of scorpion, *Hemiscorpius lepturus* (Hemiscorpiidae) venom on mice. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(3): 593-596.
- Dousset, E.; Carrega, L.; Steinberg, J.G.; Clot-Faybesse, O.; Jouirou, B.; Sauze, N. et al. (2005). Evidence that free radical generation occurs during scorpion envenomation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(2): 221-226.
- Formica, J.V. and Regelson, W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 33(12): 1061-1080.
- Hutt, M.J. and Houghton, P.J. (1998). A survey from the literature of plants used to treat scorpion stings. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(2): 97-110.
- Jain, N.C. (2010). Hematologic techniques. In: Jain, N.C. (Ed). *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Wiley-Blackwell, Pp: 20-86.
- Jalali, A.; Pipelzadeh, M.H.; Seyedian, R.; Rahmani, A. and Omidian, N. (2011). In vivo pharmacological study on the effectiveness of available polyclonal antivenom against *Hemiscorpius lepturus* venom. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 17(2): 142-149.
- Kari, R.K. and Zolfaghrian, H. (1985). Increased osmotic fragility of red cells in dogs with acute myocarditis produced by scorpion (*Buthus tamulus*) venom. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 30(3): 215-222.
- Kuppusamy, U. and Das, N. (1991). Inhibitory effects of flavonoids on several venom hyaluronidases. *Experientia*, 47(11-12): 1196-1200.
- Meki, A.R. and Mohey El-Deen, Z.M. (1998). Serum interleukin-1B, IL-6, nitric oxide and alpha 1-antitrypsin in scorpion envenomed children. *Toxicon*, 36: 1851-1859.
- Mirakabadi, A.; Jalali, A.; Jahromi, A.; Vatanpur, H. and Akbary, A. (2006). Biochemical changes and manifestations of envenomation produced by *Odonthobuthus doriae* venom in rabbits. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 12(1): 67-77.
- Mirakabadi, A.; Zolfagharian, H.; Hedayat, A. and Jalali, A. (2007). Clinical and biochemical manifestation produced by scorpion (*Hemiscorpius lepturus*) venom in experimental animals. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 13(4): 758-765.
- Mohseni, A.; Vazirianzadeh, B.; Hossienzadeh, M.; Salehcheh, M.; Moradi, A. and Moravvej, S.A. (2013). The roles of some scorpions, *Hemiscorpius lepturus* and *Androctonus crassicauda*, in a scorpionism focus in Ramhormoz, southwestern Iran. *Journal of Insect Science*, 13(89): 1-12.
- Nasim, M.J.; Bin Asad, M.H.H.; Sajjad, A.; Alikhan, S.; Mumtaz, A.; Farzana, K. et al. (2013). Combating of scorpion bite with Pakistani medicinal plants having ethnobotanical evidences as antidote. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 70(3): 387-394.
- Ozkan, O. and Carhan, A. (2008). The neutralizing capacity of *Androctonus crassicauda* antivenom against *Mesobuthus eupeus* scorpion venom. *Toxicon*, 52(2): 375-379.
- Petricevich, V.L. (2010). Scorpion venom and the inflammatory response. *Mediators of Inflammation*, 2010: 903295.
- Radha Krishna Murthy, K.; Anita, A.G.; Dave, B.N. and Billimoria, F.R. (1988). Erythrocyte Na⁺-K⁺ ATPase activity inhibition and increase in red cell fragility in experimental myocarditis produced by Indian red scorpion venom. *Indian Journal of Medical Research*. 88: 536-540.

- Radha Krishna Murthy, K. and Zare, M. (2001). The use of antivenom reverses hematological and osmotic fragility changes of erythrocytes caused by Indian red scorpion *Mesobuthus tamulus* concanensis POCK in experimental envenoming. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 7(1): 113-138.
- Radha Krishna Murthy, K. and Zolfagharian, H. (1986). Increased osmotic fragility of red cells after incubation at 37 degrees C for 24 hr in dogs with acute myocarditis produced by scorpion (*Buthus tamulus*) venom. *Indian Journal of Experimental Biology*, 24(7): 464-467.
- Sahnoun, Z.; Chaker-Krichen, S.; Kassis, M.; Hakim, A.; Hammami, S.; Ghazzi, H. et al. (2007). Investigation of the microcirculation and the state of oxidative stress in the rat after scorpion envenomation. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34(4): 263-268.
- Zayerzadeh, E.; Fardipour, A.; Zare Mirakabadi, A. and Koochi, M.K. (2014). Neutralizing effects of polyvalent antivenom on severe inflammatory response induced by *Mesobuthus eupeus* scorpion venom. *Archives of Razi Institute*, 69(2): 171-177.
- Zayerzadeh, E.; Koochi, M.K.; Zare Mirakabadi, A.; Fardipour, A.; Kassaian, S.E.; Rabbani, S. and Sotoudeh Anvari, M. (2012). Amelioration of cardio-respiratory perturbations following *Mesobuthus eupeus* envenomation in anesthetized rabbits with commercial polyvalent F(ab')₂ antivenom. *Toxicon*. 59(2): 249-256.

A study on protective effects of polyvalent antivenom and quercetin on hemogram and erythrocyte osmotic fragility changes following *Mesobuthus eupeus* scorpion envenomation in rat

Razi jalali, M.¹; Jalali, S.M.²; Najafzadeh Varzi, H.³ and Shokraeian, A.A.⁴

Received: 11.09.2014

Accepted: 20.06.2015

Abstract

Scorpion envenomation is one of the important issues in human and animal health especially in tropical regions. *Mesobuthus eupeus* is one of the 6 dangerous scorpions in Khouzestan province, Iran. In this research, changes of hemogram and erythrocyte osmotic fragility due to scorpion envenomation and the protective effect of polyvalent antivenom and quercetin in rat were studied. Ninety male wistar rats were randomly divided into 5 groups. in Group 1 (control group) normal saline (0.5 ml), group 2 scorpion venom (1.5 mg/kg), group 3 scorpion venom (1.5 mg/kg) and 20 min later antivenom (2.5 ml/kg), group 4 scorpion venom (1.5 mg/kg) and 20 min later quercetin (200 mg/kg), group 5 scorpion venom (1.5 mg/kg) and 20 min later antivenom (2.5 ml/kg) and quercetin (200 mg/kg) was administered intraperitoneally. Blood samples were collected, intracardially in 1, 3 and 24 hours post envenomation, with 6 rats in each sampling. Hemogram results showed an insignificant decrease in PCV and Hb, in groups 2 and 4, 24 hours post envenomation which was not observed in groups 3 and 5. In all evenomed groups (2, 3, 4 and 5), there was also a significant increase in platelet count, one hour after injection, and a significant increase in neutrophils and decrease in lymphocytes, 3 hour post envenomation. Additionally, an increase in osmotic fragility was seen in all venom treated groups that was significant in salt dilutions of 0.45, 0.40 and 0.35, percent compared to control group ($p < 0.05$). It can be concluded that *Mesobuthus eupeus* venom can increase erythrocyte osmotic fragility and induce neutrophilia. In addition, although separate or concurrent administration of antivenom or quercetin improve erythrocyte indices, but they do not make any protective effects on erythrocyte osmotic fragility and leukogram post scorpion envenomation, in dose and timings applied in this study.

Key words: Antivenom, Scorpion venom, Osmotic fragility, Quercetin, *Mesobuthus eupeus*

1- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Jalali, S.M., E-mail: mi.jalali@scu.ac.ir