Veterinary Clinical Pathology, Vol.14, No. 53, Spring 2020

**"Research article"** **DOI: 10.30495/JVCP.2020.670354**

# A survey on hemogram, osmotic fragility and antioxidant enzyme changes of erythrocytes in dogs treated with Garlic

**Mosallanejad, B.[1*], Jalali, S.M. [2], Razi Jalali, M.[1], Alipour, Sh.[3]**

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- Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
*Corresponding author's email: bmosallanejad@scu.ac.ir.
(Received: 2018/9/6 Accepted: 2020/1/6)

## Abstract

Garlic is a medicinal herbwith antioxidant, anti-hyperlipidemic and antidiabetic properties which is extensively used in the treatment of diseases. The purpose of the present study was to assess probable hematologic alterations and the activity of some erythrocyte antioxidant enzymes following garlic administration in dogs. In this study, ten male dogs were treated with garlic tablet with a dosage of 100 mg/kg, once daily for 45 days. Blood samples were collected three times on days zero, 45 and 60 of the experiment. Complete blood count (CBC), erythrocyte morphology, reticulocyte count, Heinz body and erythrocyte osmotic fragility test were performed. The activity of erythrocyte antioxidant enzymes including SOD (superoxide dismutase) and GPX (glutathione peroxidase) were also assessed. Garlic administration in dogs caused a significant reduction in erythrocyte count, hematocrit and hemoglobin concentration on day 60 compared to day zero ($p$<0.05). In addition, a significant decrease was observed in mean corpuscular hemoglobin (MCH) on days 45 and 60 and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) on day 60 ($p$<0.05). Osmotic fragility assessment of RBC's indicated that the percentage of hemolysis was significantly decreased in 0.55%, 0.50%, 0.45% and 0.40% salt concentrations ($p$<0.05). Moreover, a significant increase was observed in the activity of erythrocyte antioxidant enzymes, SOD and GPX on day 60 ($p$<0.05). The present study showed that garlic tablet administration with the dosages used in the present study, did not induce considerable destructive effects on erythrocytes while improving antioxidant defense system and osmotic tolerance of red blood cells.

**Conflict of interest:** None declared.
**Keywords:** Garlic, Hemogram, Osmotic fragility, Antioxidant enzymes, Dog.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2020.670354

# بررسی تغییرات هموگرام، شکنندگی اسمزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلبول‌های قرمز در سگ‌های تحت درمان با سیر

بهمن مصلی‌نژاد[1*]، سیده میثاق جلالی[2]، محمد راضی‌جلالی[1]، شهرزاد عالی‌پور[3]

۱- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: bmosallanejad@scu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۷/۶/۱۵ پذیرش نهایی: ۹۸/۱۰/۱۶)

## چکیده

**سیر به عنوان یک گیاه دارویی با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد هیپرلیپیدمی و ضد دیابتی، به‌طور گسترده‌ای در درمان بیماری‌ها، مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی عوارض احتمالی هماتولوژیک و نیز فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلبول‌های قرمز متعاقب تجویز سیر در سگ بود. در این مطالعه ۱۰ قلاده سگ نر، تحت درمان با قرص سیر با دوز ۱۰۰ mg/kg، روزانه یک‌بار و برای مدت ۴۵ روز قرار گرفتند. خون‌گیری از سگ‌ها در سه نوبت طی روزهای صفر، ۴۵ و ۶۰ مطالعه صورت گرفت. شمارش سلول‌های خونی، بررسی مورفولوژی گلبول‌های قرمز، شمارش رتیکولوسیت‌های خون، اجسام هینز و نیز آزمایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز انجام گرفت. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلبول‌های قرمز شامل سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase; SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase; GPX) سنجیده شد. تجویز سیر در سگ‌ها، منجر به کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و میزان هموگلوبین در روز ۶۰ نسبت به روز صفر مطالعه گردید ($p<0/05$). همچنین میانگین هموگلوبین گلبولی (mean corpuscular hemoglobin; MCH) در روزهای ۴۵ و۶۰ و میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی (mean corpuscular haemoglobin concentration; MCHC) در روز ۶۰، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($p<0/05$). در بررسی شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز، درصد همولیز در غلظت‌های نمک ۰/۵۵، ۰/۵۰، ۰/۴۵ و ۰/۴۰ درصد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($p<0/05$). همچنین افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گلبول‌های قرمز، در روز ۶۰ مشاهده گردید ($p<0/05$). مطالعه حاضر نشان داد که تجویز قرص سیر با دوز استفاده شده در مطالعه حاضر، اثرات تخریبی بر گلبول‌های قرمز ایجاد نکرده و منجر به بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و مقاومت اسمزی این سلول‌ها شده است.**

**کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سگ، سیر، هموگرام، شکنندگی اسمزی.**

**مقدمه**

رادیکال‌های آزاد، مولکول‌هایی هستند که از نظر شیمیایی بسیار فعال بوده و تولید آن‌ها، یک فرایند طبیعی در واکنش‌های متابولیسمی بدن محسوب می‌شود. در شرایط طبیعی، بین گونه‌های فعال اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌ها، یک حالت تعادل در بدن وجود دارد و زمانی که این تعادل به‌هم بریزد، باعث ایجاد فشار اکسیداتیو در بدن می‌شود. به‌طور کلی دو نوع اصلی از رادیکال‌های آزاد وجود دارد که شامل گونه‌های فعال اکسیژن و گونه‌های فعال نیتروژن می‌باشند. ترکیبات ناپایدار رادیکال‌های آزاد، بر روی چربی، پروتئین، DNA و کربوئیدرات سلول‌ها تاثیر می‌گذارند. در حالت طبیعی، برخی مولکول‌ها تحت عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها، رادیکال‌های آزاد را به آب تبدیل کرده و از افزایش تولید آن‌ها در بدن جلوگیری می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیماتیک شامل سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌باشند که مسئول محافظت‌های داخل سلولی بوده و مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی نیز مثل آلفا- توکوفرول و کاروتنوئیدها در دفاع خارج سلولی نقش دارند (Agarval *et al.*, 2005).

در حال حاضر گیاهان دارویی نسبتاً زیادی از جمله سیر (*Allium sativum*) شناخته شده‌اند که اثرات ضد هیپرلیپیدمی و ضد دیابتی آن‌ها در انسان و برخی حیوانات تأیید شده است. سیر غنی از ترکیبات گوگردی است که عمدتاً به شکل مشتقات سیستئین می‌باشد. خواص حیات‌بخش سیر از دوران کهن مشخص شده و هر قدر دامنه تحقیقات در مورد سیر گسترده‌تر شده، اثرات بیشتر و مهم‌تری از آن به اثبات رسیده است. اثرات بیولوژیک سیر، تا حدود زیادی به کاهش فاکتور خطر برای بیماری‌های قلبی-عروقی، تحریک عملکرد سیستم ایمنی، افزایش دفع سموم خارجی، محافظت از بافت کبد و اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داده شده است (Silagy and Neil, 1994). با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی در گیاه سیر، اثرات اکسیداتیو آن، در صورت مصرف مقادیر زیاد آن گزارش شده که این امر به وجود ترکیبات سولفوکسایدی در این گیاه نسبت داده شده است (Banerjee *et al.*, 2003). در بین حیوانات اهلی، سگ و گربه به‌دلیل تفاوت در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز، نسبت به اثرات اکسیداتیو گیاهان خانواده *Allium sativum* از جمله سیر و پیاز حساس‌تر هستند (Kovalkovicova *et al.*, 2009). داروهای گیاهی در مقایسه با داروهای شیمیایی، معمولاً از عوارض و هزینه کمتری برخوردار هستند. با این وجود، برخی گزارشات، حاکی از بروز مسمومیت و عوارض هماتولوژیک، متعاقب مصرف سیر خام و یا عصاره آن در سگ می‌باشد. از مهم‌ترین عوارض گزارش شده، می‌توان به آنمی همولیتیک، همولیز در ارتباط با تشکیل اجرام هینز (heinz bodies) داخل اریتروسیت‌ها (ناشی از تغییر ماهیت مولکول‌های هموگلوبین) و تغییرات در شمارش گلبول‌های قرمز و هماتوکریت اشاره کرد (Lee *et al.*, 2000). از آنجا که تاکنون گزارشی از مصرف سیر پخته‌شده همراه با غذا (در حدی که انسان مصرف می‌کند) در مورد حیوانات اهلی وجود ندارد، بنابراین خوردن غذاهای حاوی سیر، الزاماً به‌معنای بروز بیماری در حیوان نمی‌باشد. بررسی‌های قبلی محققین، حاکی از موثر بودن قرص سیر با دوز ۱۰۰ mg/kg در کنترل قند خون و الگوی لیپیدی بوده و هیچ‌گونه عوارض بالینی،

در طول دوره ٤٥ روزه مصرف قرص سیر در سگ‌های مورد مطالعه مشاهده نگردیده است (Mosallanejad *et al.*, 2013; Mosallanejad *et al.*, 2016).

برای بررسی آزمایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز، ۳ روش وجود دارد: آنالیز اسپکتروفتومتریک، آزمایش کمی یا میکروسکوپی و روش کیفی یا ماکروسکوپی، که در بررسی حاضر از روش اسپکتروفتومتری استفاده گردید. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی عوارض احتمالی هماتولوژیک (تغییرات هموگرام، مورفولوژی و شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز) و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز یعنی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، متعاقب مصرف قرص سیر، برای یک دوره ٤٥ روزه بود، تا در صورت نداشتن عوارض جانبی، بتوان قرص سیر را در موارد بالینی، برای درمان سگ‌های مبتلا به هیپرلیپیدمی یا دیابت تجویز نمود. همچنین مطالعه بر روی میزان آنتی‌اکسیدان‌ها تحت شرایط استفاده از داروها، می‌تواند موجب درک بهتری از نقش آنتی‌اکسیدان‌ها، در حفظ و حمایت از اندام‌های مختلف شود.

## مواد و روش‌ها

- **حیوانات مورد آزمایش**: در مطالعه حاضر که در فاصله زمانی مهر تا اسفند ماه ١٣٩٤ در بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز صورت پذیرفت، ۱۰ قلاده سگ نر نژاد مخلوط (mixed)، با میانگین سنی ۱ تا ۲ سال و در یک محدوده وزنی مشابه (١٩/٦ ±١/٩٣ kg) انتخاب شدند. تمام سگ‌های مورد مطالعه، از نظر بالینی سالم بودند و از بین جمعیت سگ‌های روستایی مناطق اطراف اهواز انتخاب شدند. تعیین سن سگ‌ها با توجه به فرمول دندانی و بر اساس سایش دندان‌ها صورت گرفت. سگ‌های مورد مطالعه حداقل ۲ هفته جهت انجام معاینات معمول، واکسیناسیون ۷ گانه (Hipradog, Girona, Spain) و هاری (Biocan, Bioveta, Czech Republic) و تجویز داروهای ضد انگل پرازیکوانتل (شرکت داروسازی داملران رازک، بروجرد، ایران) و مبندازول (شرکت داروسازی مهردارو، تهران، ایران) نگه‌داری شدند. در طول مطالعه، تمامی سگ‌ها با یک جیره غذایی ثابت (سر و پای مرغ) (به میزان ۱۰ درصد وزن بدن و یک‌بار در روز) تغذیه شدند. در ضمن همه سگ‌های مورد آزمایش، در قفس‌های جداگانه نگه‌داری می‌شدند و از فعالیت فیزیکی ثابتی برخوردار بودند. لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر، جهت حذف اثر هورمون‌های استروژن و پروژسترون، فقط سگ‌های نر استفاده شدند.

- **مطالعه تجربی**: در بررسی حاضر همه سگ‌های مورد مطالعه، با استفاده از قرصی حاوی ٤٠٠ mg ماده موثره سیر با نام تجاری گارلت (شرکت داروسازی گل دارو، اصفهان، ایران) که حاوی ١٢٠٠µg آلیسین بود، تحت تیمار قرار گرفتند به طوری‌که این دارو، با دوز mg/kg ۱۰۰، روزانه یک‌بار و برای مدت ٤٥ روز تجویز گردید (Mosallanejad *et al.*, 2016). خون‌گیری از سگ‌ها نیز در سه نوبت، شامل روز صفر (به‌عنوان کنترل) و روزهای٤٥ و ٦٠ (به‌عنوان تیمارها) و در فاصله زمانی بین ٨/٣٠ تا ٩/٣٠ قبل از ظهر (به‌حالت ناشتا) صورت گرفت. لازم به ذکر است که نمونه‌های خون از ورید سفالیک یا سافن خارجی اخذ شده و به لوله‌های حاوی

ماده ضد انعقاد EDTA ( ethylene diamine tetra acetic acid) منتقل می‌گردید.

- **ارزیابی هماتولوژیک**: شمارش کامل سلول‌های خونی شامل شمارش تعداد لکوسیت‌ها (WBC)، شمارش تعداد اریتروسیت‌ها (RBC)، اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb)، اندازه‌گیری هماتوکریت (HCT)، محاسبه اندیس‌های گلبول قرمز شامل میانگین حجم گلبولی (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبولی (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC)، پراکندگی حجم گلبول‌های قرمز (RDW) و شمارش تعداد پلاکت‌ها (Plt) توسط دستگاه شمارش‌گر خودکار سلولی (BC-2800 Vet, Mindray, China) واقع در بخش کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی، انجام گرفت. همچنین شمارش تفریقی گلبول‌های سفید و نیز بررسی مورفولوژی گلبول‌های قرمز، با بررسی میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با رنگ گیمسا (بهارافشان، ایران) انجام گرفت. به‌منظور بررسی گلبول‌های قرمز از نظر حضور اجسام هینز و شمارش تعداد رتیکولوسیت‌های خون، از رنگ‌آمیزی نیومتیلن‌بلو (بهارافشان، ایران) استفاده شد. تعداد رتیکولوسیت‌ها نسبت به تعداد کل گلبول‌های قرمز به‌صورت درصد محاسبه و ثبت گردید (Christian, 2010).

- **آزمایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز**: آزمایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز بر روی نمونه‌های خون حاوی ماده ضدانعقاد EDTA انجام گرفت. بدین منظور از روش متداول و با استفاده از غلظت‌های مختلف کلرور سدیم استفاده گردید (Giger, 2010; Jalali *et al.*, 2016). نخست محلول استوک بافر فسفات نمکی (۱۰ درصد) حاوی NaCl g ۱۰۰، $NaH_2PO_4$ g ۱/۸۷ و $Na_2HPO_4$ g ۱۳/٦٥ (Merck, Germany)، در یک لیتر آب مقطر ساخته شده، سپس برای ساخت بافر ۱ درصد و در نهایت تهیه رقت‌های سریال ۰/۸۵، ۰/۸، ۰/۷۵، ۰/۷، ۰/٦٥، ۰/٦، ۰/۵۵، ۰/۵، ۰/٤٥، ۰/۳۵، ۰/۳، ۰/۲۵، ۰/۲، ۰/۱ و صفر درصد نمک در ۱٦ لوله مورد استفاده قرار گرفت. سپس به میزان µl ۲۰ خون کامل به هر لوله افزوده شده و پس از مخلوط کردن آن‌ها، لوله‌ها برای مدت min ۳۰ در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از آن، لوله‌ها سانتریفیوژ شده (دور ۲۵۰۰ برای مدت min ۱۰) و جذب نوری مایع رویی در برابر آب مقطر به‌عنوان بلانک با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر ( Optima 3000 plus, Japan) در طول موج nm ٥٤٠ قرائت گردید. در نهایت درصد همولیز در هر یک از رقت‌های نمک در برابر لوله آب مقطر به‌عنوان همولیز ۱۰۰ درصد محاسبه شده و نمودار درصد همولیز ترسیم شد.

- **ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان**: ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلبول‌های قرمز شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) توسط کیت‌های تجاری (Randox, UK) و به روش اسپکتروفتومتریک (Optima 3000 plus, Japan)، بر روی نمونه‌های همولیزات انجام گرفت. جهت تهیه همولیزات طبق دستورالعمل کیت، ml ۰/۵ خون کامل، پس از سه مرحله شستشو با سرم فیزیولوژی (NaCl ۰/۹ درصد) (Merck, Germany)، با اضافه کردن ml ۲ آب مقطر سرد (٤ درجه سلسیوس) و مخلوط کردن کامل، لیز شده و در دمای ۷۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش نگه‌داری شد.

- **سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز:** آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، فرآیند اکسایش گلوتاتیون را به وسیله کومن هیدروپراکسید (cumene hydroperoxide) سرعت می‌بخشد. گلوتاتیون اکسیدشده در اثر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و در حضور NADPH، بی‌درنگ به فرم احیا تبدیل شده و در واکنشی همزمان NADPH به $NADP^+$ اکسید می‌گردد. کاهش شدت رنگ محلول در طول موج فرابنفش (۳٤۰ nm) و در فاصله‌های زمانی متناوب ثبت و براین اساس میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز نمونه‌ی همولیزات برحسب واحد آنزیمی در هر mg هموگلوبین بیان شد (Paglia and Valentine, 1976).

- **سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز:** رادیکال‌های آزاد سوپراکسید در اثر فعالیت گزانتین و گزانتین اکسیداز تشکیل و در واکنش با ماده‌ای به نام ۲-(٤-ایدوفنل)-۳-(٤-نیتروفنل)-۵-فنیل تترازولیوم کلراید (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride) که به‌اختصار آی-ان-تی (I.N.T.) نیز نامیده می‌شود، رنگ قرمز فورمازان (Formazan dye) را می‌سازد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با مهار واکنش اخیر، از تشکیل رنگ قرمز جلوگیری می‌کند. در این واکنش هر واحد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، برابر با مقدار آنزیمی است که از احیای I.N.T. به میزان ۵۰ درصد ممانعت می‌کند (Woolliams *et al*., 1983).

- **تحلیل آماری داده‌ها:** نتایج حاصله از بررسی تابلوی خونی، آزمایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز و ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گروه‌های مختلف، به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و با استفاده از روش اندازه‌گیری تکراری و آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) و سپس آزمون توکی (Tukey) مورد آنالیز قرار گرفتند. تفاوت بین گروه‌ها با مقدار $p<۰/۰۵$، ازنظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

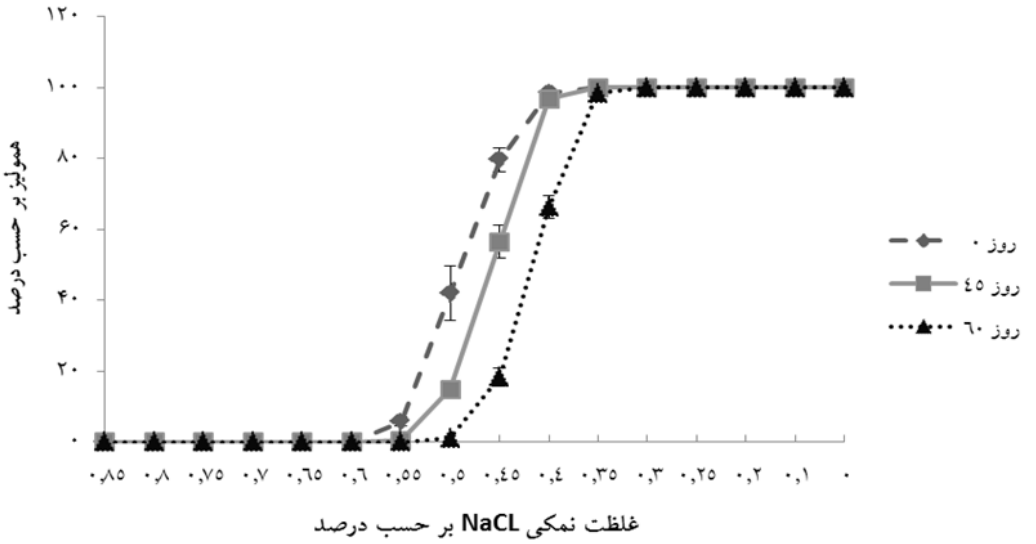
- **یافته‌های بالینی:** با توجه به این‌که حیوانات تحت مطالعه، روزانه حداقل یک‌بار، به‌هنگام غذا دادن معاینه می‌شدند، لذا مشخص گردید که استفاده از قرص سیر با دوز ۱۰۰ mg/kg، برای دام‌های مذکور قابل تحمل بود و هیچ‌گونه عوارض بالینی (نظیر اسهال، استفراغ، کم اشتهایی و ...) در آن‌ها مشاهده نگردید. همچنین بررسی مخاطات چشم سگ‌ها نیز، هیچ‌گونه علائم آنمی را نشان نداد.

- **یافته‌های ارزیابی هماتولوژیک:** بررسی نتایج هماتولوژیکی نمونه‌های خون مورد آزمایش نشان داد که در روزهای صفر، ٤۵ و ٦۰، تفاوت آماری معنی‌داری در تعداد لکوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها، در سگ‌های مورد مطالعه ایجاد نشده بود (جدول ۱). همچنین میانگین تعداد ائوزینوفیل‌ها در روز ٤۵ کاهش معنی‌دار نشان داد، در حالی‌که میانگین تعداد مونوسیت‌ها در روز ٤۵ و ٦۰ نسبت به روز صفر به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$). از طرف دیگر در ارزیابی شاخص‌های گلبول‌های قرمز، مطابق یافته‌های ثبت شده در جدول ۱، مشخص گردید که میانگین تعداد اریتروسیت‌ها، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت، به‌دنبال مصرف سیر در روز ٦۰ نسبت به روز صفر کاهش معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$)، به‌نحوی که تعداد گلبول‌های قرمز

($cells\times10^6/\mu l$) از ۷/۲۷±۴۴/۱ در روز صفر به ۶/۹۹±۰/۱ در روز ۶۰ کاهش یافت. همچنین مقادیر هماتوکریت (بر حسب درصد) و هموگلوبین (g/dl) به ترتیب از ۵۸/۷±۱/۱ و ۲۰/۱۷±۰/۳۱ در روز صفر به ۵۶/۰۷±۰/۹۷ و ۱۵/۴۴±۰/۲۸ در روز ۶۰ تغییر یافتند. علاوه بر این، کاهش معنی‌داری در میانگین MCH در روزهای ۴۵ و ۶۰ و میانگین MCHC در روز ۶۰ نسبت به روز صفر مطالعه، مشاهده شد ($p<0/05$). با این وجود تفاوت معنی‌داری در میانگین MCV، بین روزهای مختلف نمونه‌گیری مشاهده نگردید.

**- ارزیابی یافته‌های مربوط به شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز:** در بررسی شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز نمونه‌ها مشخص گردید که درصد همولیز در غلظت‌های ۰/۵۵ و ۰/۵۰ درصد نمک، در روزهای ۴۵ و ۶۰ مطالعه، نسبت به روز صفر به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$) کاهش یافته بود (نمودار ۱). همچنین درصد همولیز در غلظت نمک ۰/۴۵ درصد در روز ۴۵ نسبت به روز صفر و در روز ۶۰ نسبت به دو مرحله قبلی خون‌گیری، کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$). در غلظت نمک ۰/۴۰ درصد نیز کاهش معنی‌دار در درصد همولیز، در روز ۶۰ نسبت به روزهای صفر و ۴۵ مطالعه مشاهده گردید ($p<0/05$).

**- ارزیابی یافته‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلبول‌های قرمز:** مقایسه نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز نمونه‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم SOD (U/gHb) در روز ۶۰ (۲۵۲۴/۱±۴۴) نسبت به روز صفر (۴۱/۴±۲۳۴۴/۵) به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p<0/05$). همچنین میزان فعالیت آنزیم GPX (U/gHb) در روز ۶۰ (۲۲/۸۲±۱۰۷/۵) نسبت به زمان صفر نمونه‌گیری (۸۲/۰۶±۷۶/۳)، به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$) افزایش یافته بود (جدول ۲).




**نمودار ۱**- مقایسه شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری در سگ‌های مورد مطالعه

**جدول ۱-** مقایسه مقادیرپارامترهای هماتولوژیک در روزهای صفر، ٤٥ و ٦٠ در سگ‌های مورد مطالعه (میانگین± انحراف معیار)

| پارامترهای هماتولوژیک | روزهای نمونه‌گیری | | |
|---|---|---|---|
| | روز صفر | روز ٤٥ | روز ٦٠ |
| لکوسیت (×۱۰$^{۳}$/µl) | ۱٦/٤٥ ۱±/٥۲ | ۱۳/٦٥ ۰±/۸ | ۱۱/۱±٥٦/۱۸ |
| نوتروفیل (×۱۰$^{۳}$/µl) | ۱۰/۱±٦٥/۱۷ | ۹/۱±۲٦/۱۱ | ٦/۰±۸۳/۷٤ |
| لنفوسیت (×۱۰$^{۳}$/µl) | ٤/۰±۷٦/٥۷$^{a}$ | ۳/۰±۰۷/٦٦$^{b}$ | ۳/۰±۰٤/٥۸$^{a}$ |
| ائوزینوفیل (×۱۰$^{۳}$/µl) | ۱/۰±۲٦/۱٦$^{a}$ | ۰/۰±٦۳/۱۱$^{b}$ | ۱/۰±۱٤/۲۱$^{ab}$ |
| مونوسیت (×۱۰$^{۳}$/µl) | ۰/۰±۱٦/۰۳$^{a}$ | ۰/۰±٦۷/۱٤$^{b}$ | ۰/۰±٤۱/۰۸$^{b}$ |
| اریتروسیت (×۱۰$^{٦}$/µl) | ۷/۲۷±۰/۱٤$^{a}$ | ۷/۰۲±۰/۲$^{ab}$ | ٦/۹۹±۰/۱$^{b}$ |
| هموگلوبین (g/dl) | ۲۰/۱۷±۰/۳۱$^{a}$ | ۱٥/۹۹±۰/٦۲$^{ab}$ | ۱٥/٤٤±۰/۲۸$^{b}$ |
| هماتوکریت (درصد) | ٥۸/۷±۱/۱$^{a}$ | ٥٥/۹۲±۱/٤۸$^{ab}$ | ٥٦/۰۷±۰/۹۷$^{b}$ |
| میانگین حجم گلبولی(fl) | ۸۰/۸٤±۰/٦٦ | ۷۹/۷٦±۰/۳۹ | ۸۰/۲٦±۰/٤٤ |
| میانگین هموگلوبین گلبولی (pg) | ۲۳/۳۷±۰/۱۹$^{a}$ | ۲۲/٦٦±۰/۲٦$^{b}$ | ۲۲/۰۳±۰/۱۳$^{b}$ |
| میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی (درصد) | ۲۸/۹٦±۰/۱۸$^{a}$ | ۲۸/۰±٤۷/٤$^{a}$ | ۲۷/۰±٤۹/۲۱$^{b}$ |
| پراکندگی حجم گلبول‌های قرمز | ۱۱/۰±۷۸/۱٦ | ۱۱/۰±۷٤/۸ | ۱۱/۰±٥٤/۱۲ |
| پلاکت (×۱۰$^{۳}$/µl) | ۳٤۳/۷۰±٤/۰٥ | ۳۳۸/٤۳±۷/۹ | ۳۸۸/۲۳±۳/٦٦ |
| رتیکولوسیت (درصد) | ۰/۰±۰٤/۰۰۸ | ۰/۰±۰٤/۰۰۸ | ۰/۰±۰۳/۰۰۳ |

*حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه تفاوت معنی‌دار است ($p<۰/۰٥$).

**جدول ۲-** مقایسه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلبول‌های قرمز در روزهای صفر، ٤٥ و ٦٠ در سگ‌های مورد مطالعه (میانگین± انحراف معیار)

| آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان | روزهای نمونه‌گیری | | |
|---|---|---|---|
| | روز صفر | روز ٤٥ | روز ٦٠ |
| سوپراکسید دیسموتاز (U/gHb) | ۲۳٤٤/٥ ± ٤۱/٤$^{a}$ | ۲٥۰۱ ± ۹٦/۱$^{ab}$ | ۲٥۲٤ ± ٤٤/۱$^{b}$ |
| گلوتاتیون پراکسیداز (U/gHb) | ۷٦/۸۲ ± ۳/۰٦$^{a}$ | ۸٦/۷٦ ± ٥/۲۰$^{a}$ | ۱۰۷/۲ ± ٥/۸۲$^{b}$ |

* حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه تفاوت معنی‌دار است ($p<۰/۰٥$).

## بحث و نتیجه‌گیری

بررسی نتایج خون‌شناسی در بررسی حاضر نشان داد که مصرف قرص سیر در سگ‌های مورد مطالعه، منجر به کاهش معنی‌داری در پارامترهای اریتروسیتی، شامل تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، میزان هموگلوبین، MCH و MCHC می‌گردد (جدول ۱). با این وجود، کلیه پارامترهای ذکرشده مرتبط با گلبول قرمز، در تمامی مراحل نمونه‌گیری در محدوده طبیعی قرار داشتند (جدول ۱)، بنابراین در این بررسی، نمی‌توان به ایجاد آنمی در سگ‌ها، متعاقب مصرف سیر اشاره کرد. این یافته‌ها با نتایج حاصل از سایر مطالعات در این خصوص مطابقت دارد. از جمله در مطالعه‌ای که توسط لی و همکاران در سال ۲۰۰۰، انجام گرفت، تجویز عصاره سیر با دوز ۱/۲٥ ml/kg و به‌مدت ۷ روز

در ٤ قلاده سگ، منجر به کاهش تعداد اریتروسیت‌ها، هموگلوبین و هماتوکریت در روز هفتم گردید. با این حال پارامترهای گلبول‌های قرمز، پس از روز ۷ افزایش یافت، هر چند به میزان اولیه نرسید و نیز هیچ‌کدام از سگ‌ها علائم آنمی را نشان ندادند (Lee *et al.*, 2000). همچنین در مطالعه حاضر، هیچ‌گونه اجرام هینز که حاکی از اثرات اکسیدانی سیر بر گلبول‌های قرمز می‌باشد، مشاهده نگردید، با این وجود، در مطالعه یانگ و همکاران در سال ۲۰۰۳ که در مورد اثرات ترکیبات ارگانوسولفور موجود در سیر انجام گرفت، نشان داده شده که ترکیبات مذکور با فعالیت اکسیدانی در گلبول‌های قرمز، باعث ایجاد مت‌هموگلوبینمی و تشکیل اجرام هینز (heinz bodies) در اریتروسیت‌ها می‌شوند. البته لازم به ذکر است که تحقیق نامبردگان در شرایط *in vitro* انجام و از ترکیبات گوگردی استر، آلیل و تیوسولفینات به‌دست‌آمده از عصاره الکلی سیر استفاده شده بود که از این نظر با روش تحقیق حاضر متفاوت است (Yang *et al.*, 2003).

گزارش شده که مصرف سیر در سگ منجر به آسیب اکسیداتیو گلبول‌های قرمز می‌گردد که این امر ناشی از ترکیبات اکسیداتیو موجود در سیر به ویژه ۲-پروپنیل تیوسولفات می‌باشد (Yamato *et al.*, 2005). به‌علاوه خاصیت اکسیدکنندگی آلیسین، به‌عنوان ماده مؤثره اصلی موجود در سیر به اثبات رسیده است که علاوه بر ممانعت از رشد باکتری‌ها، منجر به آسیب بافتی در مخاط روده و معده می‌گردد (Shashikanth *et al.*, 1986). مواردی از مسمومیت بالینی و آنمی همولیتیک ناشی از مصرف سیر نیز در سگ گزارش شده است، به‌طوری‌که تانگ و همکاران در سال ۲۰۰۸، آنمی همولیتیک ناشی از خوردن سیر را در ٦ قلاده سگ بالغ از نژاد پکینز (pekingese) تأیید کرده‌اند. در تحقیق نامبردگان سیر پخته‌شده برای مدت ۲ روز و به میزان g/kg ۳۰، به سگ‌ها خورانده شد و سپس نمونه خون در روزهای متوالی بعد از تجویز سیر اخذ گردید. نتایج حاصله نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین و هماتوکریت از روز اول و به شکل معنی‌داری تا روز پنجم کاهش پیدا کرده بودند. همچنین اجرام هینز در گلبول‌های قرمز، از روز اول و به شکل معنی‌داری در روز سوم افزایش یافته بود. تعداد لکوسیت‌های خون نیز از روز اول شروع به بالا رفتن نموده و بیشترین تعداد آن در روز هشتم به‌دست آمده بود (Tang *et al.*, 2008). همچنین کانگ و پارک در سال ۲۰۱۰، یک مورد افزایش فشار خون (میانگین فشار سیستولیک برابر mmHg ۱۸۲) ناشی از خوردن مقدار زیادی سیر پخته را در یک قلاده سگ ٦ ساله از نژاد اشنوزر (Schnauzer) گزارش کردند. حیوان با علائم استفراغ و ادرار قهوه‌ای رنگ ارجاع داده شده بود. اگرچه با استفاده از داروهای ضد فشار خون و دیگر درمان‌های حمایتی، حیوان سلامت خود را به‌دست آورد، اما تا ٤ روز در بیمارستان بستری بود (Kang and Park, 2010). بوتا و پنریت نیز در سال ۲۰۰۹، توانائی بالقوه سیر، در ایجاد مسمومیت در سگ‌ها و گربه‌های مناطق آفریقای جنوبی را گزارش دادند (Botha and Penrith, 2009). چن و همکاران هم در سال ۲۰۰۹، گزارش کردند که دی‌آلیل سولفید موجود در سیر، منجر به یک افزایش قابل توجه از یون‌های کلسیم در سلول‌های توبولار کلیه سگ می‌گردد که حاکی از عوارض نفروتوکسیک سیر می‌باشد (Chen *et al.*,

2009). اگرچه موارد مرگ‌ومیر معمولاً با درمان اورژانسی دامپزشک نادر است، اما اطلاع‌رسانی در این زمینه، به صاحب حیوانات خانگی بسیار مهم است. اما یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از قرص سیر با دوز ۱۰۰ mg/kg، برای حیوانات قابل تحمل بوده و هیچ‌گونه عوارض بالینی، در آن‌ها ایجاد نمی‌کند. بررسی مخاطات چشم نیز هیچ‌گونه علائم آنمی را در سگ‌های مورد مطالعه نشان نداد که این نتایج با یافته‌های هیچ‌یک از تحقیقات ذکر شده، هم‌خوانی نداشت. به نظر می‌رسد علت تفاوت یافته‌های این مطالعه با تحقیقات پیشین، نوع فرآورده سیر مورد استفاده و نیز دوز آن باشد، به نحوی که قرص سیر برخلاف سایر اشکال سیر مصرفی (سیر تازه یا پخته و یا سایر ترکیبات مشتق‌شده از سیر) فاقد عوارض بالینی مخاطره‌آمیز در سگ می‌باشد. از جمله تحقیقات انجام شده در دامپزشکی که تا حدودی با بررسی حاضر مرتبط است، مطالعه مصلی‌نژاد و همکاران در سال ۲۰۱۳ می‌باشد. در این تحقیق، سیر با دوز ۱۰۰ mg/kg و برای یک دوره ۱٤ روزه به سگ‌های مبتلا به دیابت (القاءشده با آلوکسان) تجویز شده بود که در مقایسه با متفورمین، منجر به کاهش معنی‌دار در غلظت گلوکز خون و افزایش معنی‌دار در میزان انسولین خون گردید، به‌طوری‌که میانگین کاهش گلوکز خون ۹/۲۷ mg/dl توسط متفورمین و ۲۵/۹۳ mg/dl درصورت مصرف سیر محاسبه شد (Mosallanejad *et al.*, 2013). همچنین مصلی‌نژاد و همکاران در سال ۲۰۱٦، با مطالعه روی ۱۵ قلاده سگ، اثرات مفید سیر را در مقایسه با آتورواستاتین بر پروفایل‌های لیپیدی خون نشان دادند. در مطالعه نامبردگان، اگرچه تاثیر سیر نسبت به آتورواستاتین، در کاهش پروفایل‌های لیپیدی کمتر بود، اما با توجه به گیاهی بودن سیر، به عنوان یک داروی کمکی (در کنار دیگر داروهای شیمیایی)، برای درمان سگ‌های مبتلا به هیپرلیپیدمی پیشنهاد داده شد (Mosallanejad *et al.*, 2016). لازم به ذکر است در دو مطالعه مذکور، هیچ گونه عوارض جانبی از نظر بالینی به دنبال مصرف قرص سیر مشاهده نگردید که از این نظر با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

از سوی دیگر مطالعات متعدد، بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی سیر، عصاره سیر و s- آلیل سیستئین به‌عنوان بیشترین ترکیب موجود در سیر می‌باشد (Colin-Gonzalez *et al.*, 2012; Zakarova *et al.*, 2014). همچنین متعاقب مصرف سیر، افزایش فعالیت آنزیم‌هایی همچون سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون- s- ترانسفراز و کاهش تیوباربیتوریک اسید، به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی گزارش شده است (Lee *et al.*, 2000; Rai *et al.*, 2009). پدرازا- چاوری و همکاران در سال ۲۰۰۰، اثر پودر سیر را در جیره غذایی موش صحرائی بررسی کردند. نتایج مطالعه نامبردگان نشان داد که پودر سیر از روند اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری به‌عمل می‌آورد (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2000). در مطالعه حاضر نیز افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD و GPX در گلبول‌های قرمز، به دنبال مصرف قرص سیر در سگ‌های مورد مطالعه مشاهده گردید. در توجیه این یافته‌ها که هم‌خوانی بالایی را با نتایج تحقیقات ذکرشده نشان می‌دهد، می‌توان به خاصیت دوگانه ترکیبات مختلف موجود در سیر اشاره کرد. بدین ترتیب که علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه دارویی،

ترکیبات اکسیداتیو موجود در سیر از جمله آلیسین، با ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌توانند منجر به تحریک و افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان گلبول‌های قرمز شوند.

در بررسی حاضر، مصرف قرص سیر منجر به کاهش شکنندگی اسمزی و افزایش مقاومت گلبول‌های قرمز سگ‌ها، نسبت به محیط‌های هیپوتونیک گردید (نمودار ۱)، با این وجود سلامی و همکاران در سال ۲۰۱۲، افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز را در موش‌های صحرایی آلبینو (albino)، تحت درمان با سیر، در هر دو محیط *in vitro* و *in vivo* گزارش نمودند (شدت همولیز، به‌شکل معنی‌داری در محیط *in vitro* بیش‌تر از *in vivo* بود) (Salami *et al.*, 2012). همچنین سلامی و همکاران در سال ۲۰۱٤، در مطالعه دیگری، با مقایسه اثر همولیزکنندگی سیر بر گلبول‌های قرمز عادی و داسی‌شکل، به این نتیجه رسیدند که درمان با سیر میزان شکنندگی اسمزی را در هر دو نوع گلبول قرمز نرمال و داسی‌شکل افزایش داده بود، اگرچه میزان همولیز در گلبول‌های قرمز داسی‌شکل بیشتر از گلبول‌های قرمز عادی بود. این محققین بیان نمودند که سیر و پیاز پس از جذب از دستگاه گوارش، به اکسیدان‌های فعال متابولیزه می‌شوند که با افزایش آن‌ها بیشتر از ظرفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان، همولیز اکسیداتیو رخ می‌دهد (Salami *et al.*, 2014). در این خصوص عدم هم‌خوانی مشاهده می‌گردد که تفاوت در یافته‌های مطالعه حاضر نسبت به تحقیقات قبلی، احتمالاً ناشی از تجویز قرص سیر به جای سیر تازه، تفاوت گونه‌ای و نیز تفاوت در دوز و دوره درمان می‌باشد. همچنین لازم به‌ذکر است که وجود هم‌زمان ترکیبات اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدان در سیر، می‌تواند با وجود تخریب و همولیز در گروهی از اریتروسیت‌های حساس، باعث افزایش مقاومت اسمزی گلبول‌های قرمز باقی‌مانده گردد. نتایج مطالعه دوراک و همکاران در سال ۲۰۰٤، نیز در تطابق با یافته‌های بررسی حاضر نشان داد که تجویز عصاره سیر در بیماران مبتلا به تصلب شرایین، منجر به کاهش معنی‌دار در میزان MDA به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز و پلاسما می‌گردد (Durak *et al.*, 2004). احمدی‌زاد و همکاران در سال ۲۰۱۵، گزارش کردند که مصرف سیر باعث بهبود شاخص های جریان خون در جهت آمادگی فعالیت هوازی (ویسکوزیته خون و پلاسما، فیبرینوژن، هماتوکریت، هموگلوبین و شمارش گلبول‌های قرمز) در مردان ورزشکار می‌شود. بنابراین، افراد دارای مشکلات هموستازی، چنانچه قبل از فعالیت ورزشی مقادیر پایینی از سیر مصرف نمایند، ممکن است خطرات قلبی عروقی در آن‌ها، طی فعالیت مذکور کاهش یابد (Ahmadizad *et al.*, 2015).

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که اگرچه مصرف قرص سیر در سگ‌ها، برای یک دوره ٤٥ روزه، منجر به کاهش نسبی شاخص‌های گلبول های قرمز می‌گردد، اما در هیچ‌کدام از سگ‌های مورد بررسی، آنمی ایجاد نمی‌شود. همچنین نظر بر این‌که کاهش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌دنبال مصرف قرص سیر نیز مشاهده گردید، بنابراین به‌نظر می‌رسد که تجویز قرص سیر با دوز ۱۰۰ mg/kg و زمان مورد استفاده در تحقیق حاضر (٤٥ روز)، اثرات تخریبی چندانی بر گلبول‌های قرمز ایجاد نکرده و منجر به بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی

و مقاومت اسمزی این سلول‌ها می‌گردد. در مجموع، با توجه به اثرات مفید متعدد قرص سیر به ویژه اثرات کاهنده لیپید و کلسترول خون که در مطالعات قبلی هم در سگ گزارش شده است (Mosallanejad *et al.*, 2013; Mosallanejad *et al.*, 2016)، به‌نظر می‌رسد که می‌توان این ترکیب دارویی را با دوز مشخص‌شده در این مطالعه تجربی و بدون ایجاد عوارض حاد به‌ویژه آنمی همولیتیک، در سگ پیشنهاد نمود. بدیهی است جهت استفاده درمانی گسترده از قرص سیر در سگ‌ها، مطالعات بیشتر در خصوص اثرات این ترکیب بر سایر ارگان‌ها نیز مورد نیاز می‌باشد.

**سپاسگزاری**

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز، به جهت تامین هزینه پژوهشی تحقیق در قالب پژوهانه ابراز می‌دارند (کد پایان‌نامه: ۸۹۷۹۳۱).

**تعارض منافع**

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

## منابع


- Ahmadizad, S., Ailipor Parsa, S., Zekry, R., Nikookheslat, S. and Ebrahimi, H. (2015). Effects of different dosages of garlic on responses of the main determinants of hemorheology to acute endurance exercise. Exercise Physiology, 7(28): 103-117.
- Agarval, A., Gupta, S. and Sharma, R.K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. Reproductive Biology and Endocrinology, 3(28): 1-21.
- Banerjee, S.K., Mukherjee, P.K. and Maulik, S.K. (2003). Garlic as an Antioxidant: The Good, The Bad and The Ugly. Phytotherapy Research, 17(2): 97-106.
- Botha, C.J. and Penrith, M.L. (2009). Potential plant poisonings in dogs and cats in Southern Africa. Journal of the South African Veterinary Association, 80(2): 63-74.
- Chen, C.H., Su, S.J., Chang, K.L., Huang, M.W. and Kuo, S.Y. (2009). The garlic ingredient diallyl sulfide induces $Ca^{(2+)}$ mobilization in Madin-Darby canine kidney cells. Food and Chemical Toxicology, 47(9): 2344-2350.
- Christian, J.A. (2010). Erythrokinetics and erythrocyte destruction. In: Schalm's Veterinary Hematology. Weiss, D.J. and Wardrop, K.J. editors. 6th ed., Iowa, Wiley-Blachwell Science, pp: 136-143.
- Colin-Gonzalez, A.L., Santana, R.A., Silva-Islas, C.A., Chanez-Cardenas, M.E., Santamaria, A. and Maldonado, P.D. (2012). The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract-and S-allylcysteine-induced protection. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2012: Article ID 907162.
- Durak, I., Aytaç, B., Atmaca, Y., Devrim, E., Avc, A., Erol, Ç., *et al*. (2004). Effects of garlic extract consumption on plasma and erythrocyte antioxidant parameters in atherosclerotic patients. Life Sciences, 75(16): 1959-1966.
- Giger, U. (2010). Hereditary erythrocyte enzyme abnormalities. In: Schalm's Veterinary Hematology. Weiss, D.J. and Wardrop, K.J. editors. 6th ed., Iowa, Wiley-Blachwell Science, pp: 179-186.
- Jalali, S.M., Bahrami, S., Rasooli, A. and Hasanvand, S. (2016). Evaluation of oxidant/antioxidant status, trace mineral levels, and erythrocyte osmotic fragility in goats naturally infected with Anaplasma ovis. Tropical Animal Health and Production, 48(6): 1175-1181.
- Kang, M.H. and Park, H.M. (2010). Hypertension after ingestion of baked garlic (Allium sativum) in a dog. The Journal of Veterinary Medical Science, 72(4): 515-518.

- Kovalkovicova, N., Sutiakova, I., Pist, J. and Sutiak, V. (2009). Some food toxic for pets. Interdisciplinary Toxicology, 2(3): 169-176.
- Lee, K.W., Yamato, O., Tajima, M., Kuraoka, M., Omae, S. and Maede, Y. (2000). Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs. American Journal of Veterinary Research, 61(11): 1446-1450.
- Mosallanejad, B., Avizeh, R. Najafzadeh Varzi, H. and Pourmahdi, M. (2013). A comparison between metformin and garlic on alloxan-induced diabetic dogs. Comparative Clinical Pathology, 22(2): 169-174.
- Mosallanejad, B., Avizeh, R., Razi Jalali, M. and Jahanmardi, A. (2016). Comparative evaluation of Garlic and Atorvastatin effects on lipid profile changes in dog. Iranian Veterinary Journal, 12(2): 94-102.
- Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 70(1): 158-169.
- Pedraza-Chaverrí, J., Maldonado, P.D., Medina-Campos, O.N., Olivares-Corichi, I.M., Granados-Silvestre, M.A. and Hernandez-Pando, R. (2000). Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. Free Radical Biology and Medicine, 29(7): 602-611.
- Rai, S.K., Sharma, M. and Tiwari, M. (2009). Inhibitory effect of novel diallyldisulfide analogs on HMG-CoA reductase expression in hypercholesterolemic rats: CREB as a potential upstream target. Life sciences, 85(5-6): 211-219.
- Salami, H.A., Gadaka, M.A., John, A.I., Babagana, F. and Odirachukwu, R. (2014). The effect of aqueous extract of Allium sativum (garlic) on erythrocyte osmotic fragility in normal and sickle cell. American Journal of Life Sciences, 2(5): 278-281.
- Salami, H.A., John, A.I. and Ekanem, A.U. (2012). The effect of aqueous preparation of Allium Cepa (onion) and Allium Sativa (garlic) on erythrocyte osmotic fragility in wistar rats: in vivo and in vitro studies. Nigerian Journal of Physiological Sciences, 27(1): 29-34.
- Shashikanth, K.N., Basappa, S.C. and Murthy, V.S. (1986). Effect of feeding raw and boiled garlic (Allium sativum L.) extracts on the growth, caecal microflora, and serum proteins of albino rats. Nutrition Reports International, 33: 313-319.
- Silagy, C.S. and Neil, H.A.W. (1994). Garlic as lipid lowering agent-a meta-analysis. Journal of the Royal College of Physicians of London, 28(1): 39-45.
- Tang, X., Xia, Z. and Yu, J. (2008). An experimental study of hemolysis induced by onion (Allium cepa) poisoning in dogs. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 31(2): 143-149.
- Woolliams, J.A., Wiener, G., Anderson, P.H. and McMurray, C.H. (1983). Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. Research in Veterinary Science, 34(3): 253-256.
- Yamato, O., Kasai, E., Katsura, T., Takahashi, S., Shiota, T., Tajima, M., *et al*. (2005). Heinz body hemolytic anemia with eccentrocytosis from ingestion of Chinese chive (Allium tuberosum) and garlic (Allium sativum) in a dog. Journal of the American Animal Hospital Association, 41(1): 68-73.
- Yang, Q., Hu, Q., Yamatoc, O., Lee, K.W. and Yoshihara, T. (2003). Organosulfur compounds from garlic (Allium sativum) oxidizing canine erythrocytes. Journal of Nutrition Research, 58(5-6): 408-412.
- Zakarova, A., Seo, J.Y., Kim, H.Y., Kim, J.H., Shin, J.H., Cho, K.M., et al. (2014). Garlic sprouting is associated with increased antioxidant activity and concomitant changes in the metabolite profile. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(8): 1875-1880.