

مطالعه اثرات تجویز خوراکی عصاره گیاه خار مریم (سیلی مارین) بر تغییرات بافتی و بیوشیمیایی ناشی از آفاتوکسین در طیور گوشتی

امیرحسین جمشیدی^{۱*}، حمیدرضا احمدی آشتیانی^۲، بنفشه غلامحسینی^۳، سعید بکایی^۴

۱- استادیار، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و داروی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی و پژوهشگاه

گیاهان دارویی جهاددانشگاهی

۲- دانشجوی دوره تخصصی بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- استادیار، بخش پاتولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

۴- دانشیار، بخش اپیدمیولوژی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، میدان انقلاب اسلامی، خیابان فخر رازی، تقاطع خیابان شهید وحید نظری، معاونت غذا

و دارو، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، تلفن: ۶۶۴۰۵۵۶۸ (۰۲۱)، نمابر: ۶۶۴۶۹۱۴۲ (۰۲۱)

پست الکترونیک: jamshidi@fdo.ir

تاریخ تصویب: ۸۶/۶/۱۱

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۹

چکیده

مقدمه: آفاتوکسین از نظر اقتصادی شایع‌ترین و با اهمیت‌ترین مایکوتوکسین در صنعت طیور است و کاهش آسیب‌های اقتصادی و بهداشتی ناشی از آن با بهره‌گیری از مواد موثر و ارزان هدف تحقیقاتی بسیاری از محققین است.

هدف: با توجه به اینکه اثرات پاتولوژیک ناشی از مسمومیت با آفاتوکسین در کبد، کلیه و عضله اهمیت بیشتری دارد و با توجه به مکانیسم ایجاد ضایعه توسط آفاتوکسین و با در نظر گرفتن اثرات سیلی مارین (عصاره گیاه *Silybum marianum*) در پیش‌گیری از ضایعات مختلف کبدی و کلیوی در سایر بررسی‌ها، به بررسی اثر سیلی مارین بر پیش‌گیری از ضایعات ناشی از آفاتوکسین با توجه به شرایط مزارع پرورشی در ایران پرداخته شد.

روش بررسی: در این مطالعه تعداد ۵۶ عدد جوجه یک‌روزه، در ۴ گروه ۱۴ عضوی تقسیم شدند. به گروه اول جیره معمولی، گروه دوم جیره معمولی به همراه ۱ mg/Kg از آفاتوکسین تولیدی، گروه سوم جیره معمولی به همراه ۸۰۰ mg سیلی مارین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و گروه چهارم جیره معمولی به همراه ۸۰۰ mg سیلی مارین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و ۱ mg/Kg از آفاتوکسین تولیدی داده شد و در پایان روز ۴۲ پرورش بررسی‌های بیوشیمیایی، کالبدگشایی و هیستوپاتولوژیک بر روی نمونه‌ها انجام گرفت.

نتایج و نتیجه‌گیری: با توجه به بررسی داده‌ها و مقایسه نتایج حاصل از گروه‌های مورد بررسی می‌توان سیلی مارین را برای کاهش ضایعات ناشی از آفاتوکسین در دوره پرورشی جوجه گوشتی توصیه نمود.

کل‌واژگان: سیلی مارین، تغییرات بیوشیمیایی، تغییرات بافتی، آفاتوکسین، طیور گوشتی



مقدمه

سیلی مارین بر مسمومیت کبدی و کلیوی با آفلاتوکسین B₁ نشان داده شده است [۹].

لذا در این بررسی اثر تجویز آن بر کاهش ضایعات ناشی از آفلاتوکسین بر بافت کبد، کلیه و عضله طیور با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی و آسیب شناختی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

جهت تولید آفلاتوکسین قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (PTCC No. : ۱۸۵۰) بر روی ذرت دارای ۱۴ درصد رطوبت و استریل کشت و با ایجاد شوک حرارتی شرایط تولید آفلاتوکسین مهیا گردید. سپس مجموعه ذرت و قارچ اتوکلاو و به صورت پودر درآمدند و میزان آفلاتوکسین موجود در هر گرم پودر حاصل با روش Competitive ELISA اندازه‌گیری [۱۰، ۱۱، ۱۲] و میزان آفلاتوکسین ۷۰ ppb در هر گرم تعیین گردید و برای تهیه جیره با آلودگی آفلاتوکسین به میزان ۱ mg/Kg [۱۳]، ۱۴/۲۸ کیلوگرم از این پودر ذرت آلوده به یک تن جیره نهایی اضافه گردید. در طی دوره آزمایش، جهت تایید حضور این میزان آفلاتوکسین، جیره مصرفی هر هفته ارزیابی شد. در انتخاب جیره و دوز آفلاتوکسین شرایط نزدیک به شرایط مزارع پرورشی تنظیم شده است. ۵۶ عدد جوجه یک‌روزه نژاد راس به طور تصادفی در ۴ گروه ۱۴ تایی تقسیم و در قفس‌های جداگانه و با شرایط یکسان به لحاظ نور، رطوبت و دما قرار داده شدند. گروه ۱ جیره بدون آفلاتوکسین، گروه ۲ جیره آلوده به آفلاتوکسین، گروه ۳ جیره بدون آفلاتوکسین به همراه سیلی مارین و گروه ۴ جیره آلوده به آفلاتوکسین به همراه سیلی مارین را دریافت نمودند. در گروه ۳ و ۴ پودر سیلی مارین به میزان ۸۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن جوجه‌ها به جیره افزوده شد [۱۳] و برای اطمینان از مصرف کامل آن و جلوگیری از اثر ماندگی بر ماده موثره در ابتدای تغذیه با حجم کمی از جیره مخلوط و پس از مصرف کامل بقیه جیره در اختیار پرنده قرار گرفت. جوجه‌ها، مشابه طول

آفلاتوکسین از نظر اقتصادی شایع‌ترین و با اهمیت‌ترین مایکوتوکسین در صنعت طیور، در سراسر دنیا است که بر اثر رشد قارچ‌ها بر روی مواد غذایی مورد مصرف چون دانه حبوبات، ذرت، تخم پنبه دانه ایجاد می‌شود. اسپرژیلوس پارازیتیکوس^۱ شایع‌ترین نوع این قارچ‌ها است و اسپرژیلوس فلاووس^۲ بیشترین میزان سم را تولید می‌کند. این قارچ‌ها در شرایط دمایی ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۰/۹ تا ۰/۹۹ درصد قادر به تولید آفلاتوکسین هستند [۱]. آفلاتوکسین‌های شایع در صنعت طیور B₁، B₂، G₁ و G₂ هستند که مسمومیت با آفلاتوکسین B₁ شایع‌ترین آفلاتوکسیکوز^۳ است. آفلاتوکسین، در طی یک تبدیل زیستی^۴ با تولید تعداد زیادی متابولیت فعال که به DNA و RNA اتصال می‌یابند، سبب کاهش تولید پروتئین و ایمنی یاخته‌ای شده و بر ایمنی هومورال هم به میزان کمتر اثر می‌گذارد. آسیب کبدی از دیگر اثرات آفلاتوکسین در طیور است [۲، ۳]. آفلاتوکسین معمولاً در دوزهای بالا می‌تواند به طور مستقیم باعث تلفات شود، اما ضرر اقتصادی اصلی ناشی از آن، به علت کاهش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقادیر بالاتر از ۱ ppm است. آفلاتوکسین با تضعیف سیستم ایمنی، زمینه‌ساز ابتلا به بیماری‌هایی نظیر سالمونلا، کوکسیدیوزیس، بورس عفونی و کاندیدیازیس می‌باشد. علاوه بر این در پرنده بالغ موجب کاهش تولید تخم مرغ و جوجه درآوری^۵ شده و در خروس‌ها، کاهش باروری اسپرم را به دنبال دارد [۴، ۵] و مهم‌تر آنکه آفلاتوکسین و متابولیت‌های آن در چندین بافت خوراکی تجمع یافته [۶] و بدین ترتیب در زنجیره غذایی انسان وارد شده و بهداشت و سلامت انسانی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. سیلی مارین، عصاره گیاه خارمریم^۶ به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، تثبیت‌کننده غشای سلول و تنظیم تراوایی آن و همچنین ستر پروتئین عمل می‌کند [۷]. علاوه بر آن که سیلی مارین در انسان برای درمان انواع اختلالات کبدی به کار می‌رود [۸]. اثر سودمند

^۱ *Aspergillus parasiticus*^۳ Aflatoxicosis^۵ Hatch^۲ *Aspergillus flavus*^۴ Biotransformation^۶ *Silybum marianum*

داده‌های استخراج شده از آزمون مربع کای و آزمون دقیق فیشر بهره گرفته شد.

نتایج

بررسی نتایج این بررسی تفاوت معنی‌داری در وزن پرنده‌ها و ارگان‌های کبد و کلیه در پایان مطالعه را نشان نداد. همچنین در بررسی کالبدگشایی نمونه‌ها در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری ثبت نگردید. نتایج بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی شاخص و سطح معنی‌داری این نتایج در هر گروه در جدول شماره ۱ آورده شده است.

تصویر برخی ضایعات مشاهده شده در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود. نتایج حاصل از بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، درصد فراوانی آن آسیب موردنظر در هر گروه به همراه شدت آسیب تشخیص داده شده در جدول شماره ۲ و سطح معنی‌داری بین آسیب‌های بافتی، شدت این آسیب‌ها و همچنین درصد فراوانی آنها در هر گروه در جدول شماره ۳ آورده شده است.

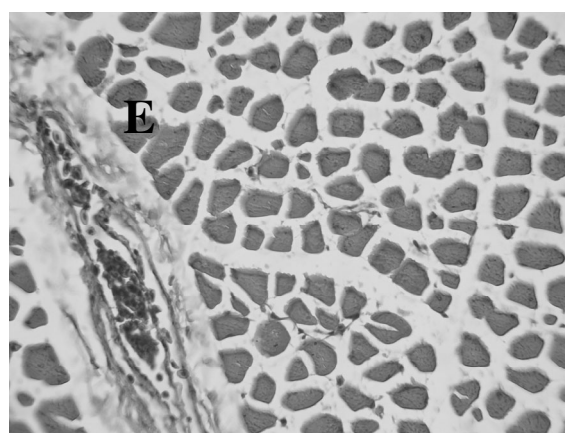
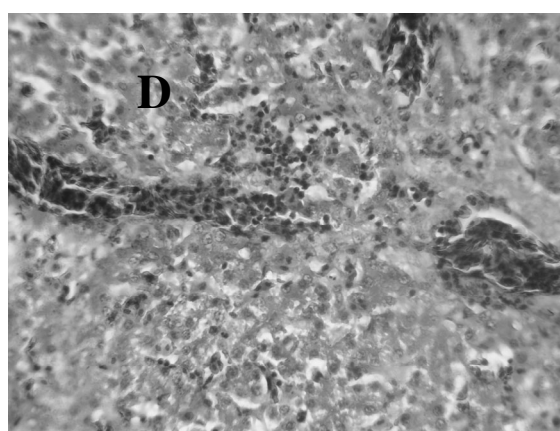
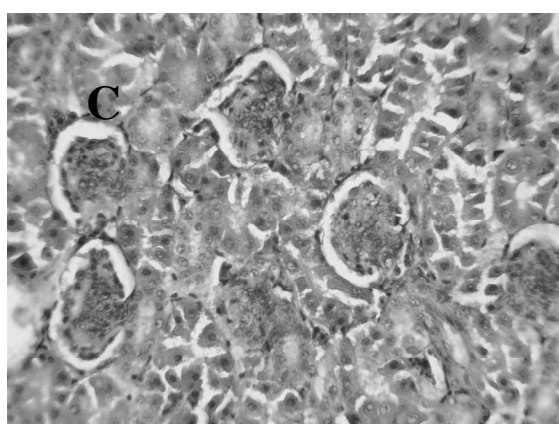
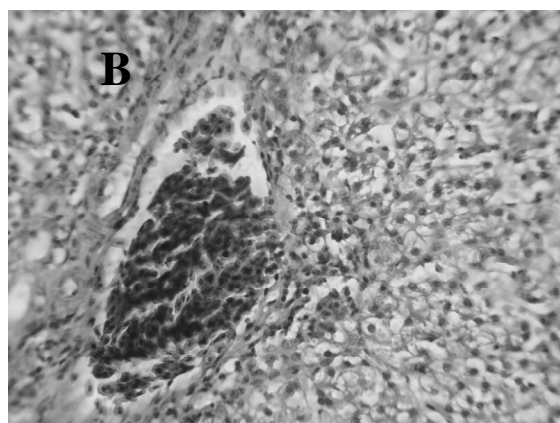
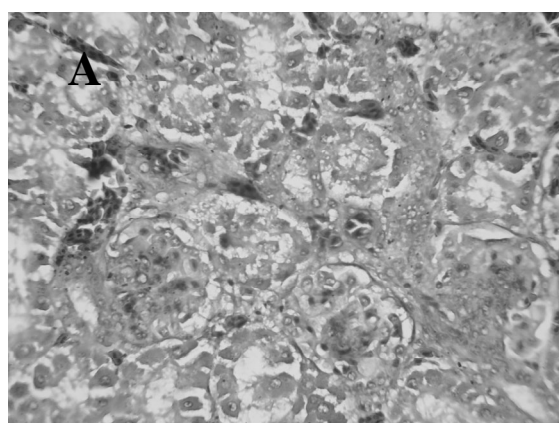
دوره پرورش جوجه گوشتی ۴۲ روز (۶ هفته) نگهداری و در پایان دوره پرورش، پرنده‌ها وزن‌کشی و با خون‌گیری از ورید بالی نمونه بدون همولیز جهت بررسی‌های بیوشیمیایی تهیه و در ظرف در دار و در کنار یخ بلافاصله به آزمایشگاه بیوشیمی منتقل شدند [۱۵، ۱۴].

سپس پرنده‌ها جهت بررسی‌های کالبدگشایی خوش‌کشی و پس از بررسی ظاهری لاشه با چشم غیرمسلح، از بافت‌های کبد، کلیه و عضله سینه برای بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نمونه‌گیری به عمل آمد. آنالیز بیوشیمیایی جهت بررسی میزان آنزیم ALT، AST و اسیداوریک با دستگاه اتوماتیک با پایه فوتومتری (ساخت شرکت کلاپما) انجام پذیرفت. کبد و کلیه ابتدا وزن‌کشی و سپس نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و بعد از گذراندن مراحل آماده‌سازی بافت، تهیه مقاطع و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری برای ثبت تغییرات آسیب‌شناختی در بافت‌ها بررسی شدند. به منظور ثبت شدت آسیب‌های مشاهده شده درجه‌بندی چشمی تغییرات به درجات خفیف (درجه ۱)، متوسط (درجه ۲) و شدید (درجه ۳) لحاظ شد. به منظور بررسی آماری

جدول شماره ۱- میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی در گروه‌های مورد بررسی در پایان هفته ۶ (روز ۴۲)

گروه تیمار	۱	۲	۳	۴
آمار	کنترل منفی	کنترل آفاتوکسین	کنترل سیلی‌مارین	تیمار سیلی‌مارین و آفاتوکسین
فاکتورهای بیوشیمیایی	Mean±SE =۱۴ n	Mean±SE =۱۴ n	Mean±SE =۱۴ n	Mean±SE =۱۴ n
AST	^a ۱۴۸/۵۰ ± ۰/۷۱	^b ۲۲۶/۲۰ ± ۱/۴۶	^c ۱۵۷/۵۰ ± ۱/۱۸	^d ۱۸۷/۹۰ ± ۱/۱۱
ALT	^a ۱۵۰/۷ ± ۰/۶۳	^b ۲۷/۵۷ ± ۰/۵۰	^a ۱۴/۹۳ ± ۰/۵۷	^c ۲۰/۱۴ ± ۰/۴۳
اسید اوریک	^a ۲/۲۴ ± ۰/۰۹	^b ۳/۵۵ ± ۰/۰۸	^c ۲/۴۹ ± ۰/۱۰	^d ۲/۹۱ ± ۰/۰۵

سطح معنی‌داری فاکتورهای بیوشیمیایی در گروه‌های مورد مطالعه در پایان هفته ۶. ALT و AST: حروف یکسان دلیل بر عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرهمانگ دال بر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $\alpha=0.05$ است. اسید اوریک: حروف ناهمانگ در تمامی موارد به استثنای حالت a با c ($\alpha=0.05$) در سطح $\alpha=0.01$ معنی‌دار هستند.



شکل شماره ۱ - A: افزایش سلول گلومرولی درجه ۱، پرخونی درجه ۲ و دژنراسیون توبول‌ها درجه ۱ مربوط به بافت کلیه گروه کنترل آفاتوکسین B: دژنراسانس واکوتله درجه ۳، پرخونی و تجمع هتروفیل درجه ۲ مربوط به بافت کبد گروه کنترل آفاتوکسین C: افزایش گلومرولی، دژنراسیون توبولی و پرخونی درجه ۱ مربوط به بافت کلیه گروه آفاتوکسین و سیلی‌مارین D: پرخونی، تجمع هتروفیل و دژنراسانس واکوتله درجه ۲ مربوط به بافت کبد به گروه آفاتوکسین و سیلی‌مارین E: پرخونی درجه ۲ و ادم در عضله سینه گروه آفاتوکسین. کلیه تصاویر با بزرگنمایی ۴۰ می‌باشد.



جدول شماره ۲- نوع آسیب بافتی، درصد فراوانی و میزان ضایعه در نمونه‌های کبد، کلیه و عضله سینه در هر گروه مورد بررسی در پایان هفته ۶ (روز ۴۲)

گروه تیمار	۱	۲	۳	۴
کنترل منفی	کنترل آفاتوکسین	کنترل	تیمار سیلی مارین و آفاتوکسین	
درصد فراوانی	درصد فراوانی	درصد فراوانی	درصد فراوانی	درصد فراوانی
میزان ضایعه	میزان ضایعه	میزان ضایعه	میزان ضایعه	میزان ضایعه
تغییرات بافتی در هفته ۶				
کبد				
میتوز	۳۵/۷۱	۷۸/۵۷	۳۵/۷۱	۳۵/۷۱
درجه ۱	درجه ۲	درجه ۱	درجه ۲	درجه ۲
مشاهده نشد	۷۸/۵۷	۲۱/۴۲	۴۲/۸۵	۴۲/۸۵
پرخونی	۲۱/۴۲	۷۸/۵۷	۲۱/۴۲	۵۰/۰۰
درجه ۱	درجه ۲	درجه ۱	درجه ۲	درجه ۲
مشاهده نشد	۵۷/۱۴	۷/۱۴	۲۸/۵۷	۲۸/۵۷
تجمع هتروفیل	مشاهده نشد	درجه ۲	درجه ۱	درجه ۲
هیپرپلازی مجاری صفراوی	مشاهده نشد	۱۲/۵	مشاهده نشد	مشاهده نشد
کلیه				
افزایش سلول گلوامرولی	مشاهده نشد	۷۸/۵۷	۷/۱۴	۴۲/۸۵
درجه ۱	درجه ۱	درجه ۱	درجه ۱	درجه ۱
پرخونی	۷/۱۴	۵۰/۰۰	۲۱/۴۲	۲۱/۴۲
درجه ۲	درجه ۲	درجه ۲	درجه ۱	درجه ۱
دژنراسیون توبولی	۷/۱۴	۶۴/۲۸	مشاهده نشد	۷/۱۴
درجه ۱	درجه ۱	درجه ۱	درجه ۱	درجه ۱
عضله				
پرخونی	مشاهده نشد	۲۱/۴	مشاهده نشد	۷/۱۴
درجه ۲	درجه ۲	درجه ۲	درجه ۲	درجه ۲

جدول شماره ۳- سطح معنی‌داری آسیب بافتی در نمونه‌های کبد، کلیه و عضله سینه در هر گروه مورد مطالعه در پایان هفته ۶ (روز ۴۲)

گروه تیمار	۱×۲	۱×۳	۱×۴	۲×۳	۲×۴	۳×۴
تغییرات بافتی در هفته ۶						
کبد						
میتوز	p<۰/۰۱	NS	p<۰/۰۵	p<۰/۰۱	NS	p<۰/۰۵
دژنراسیون واکونله	p<۰/۰۱	NS	p<۰/۰۱	p<۰/۰۱	p<۰/۰۱	p<۰/۰۱
پرخونی	p<۰/۰۱	NS	p<۰/۰۱	p<۰/۰۱	NS	p<۰/۰۱
تجمع هتروفیل	p<۰/۰۱	NS	NS	p<۰/۰۱	NS	NS
هیپرپلازی مجاری صفراوی	NS	NS	NS	NS	NS	NS

ادامه جدول شماره ۳- سطح معنی داری آسیب بافتی در نمونه‌های کبد، کلیه و عضله سینه در هر گروه مورد مطالعه در پایان هفته ۶ (روز ۴۲)

گروه تیمار	۱×۲	۱×۳	۱×۴	۲×۳	۲×۴	۳×۴
تغییرات بافتی در هفته ۶	کلیه					
افزایش سلول گلوامرولی	p<۰/۰۱	NS	p<۰/۰۱	p<۰/۰۱	NS	p<۰/۰۵
پرخونی	p<۰/۰۵	NS	NS	p<۰/۰۱	p<۰/۰۱	NS
دژنراسیون توبولی	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	عضله					
پرخونی	NS	NS	NS	NS	NS	NS

بحث

در این مطالعه شرایط به لحاظ کیفیت و کمیت جیره مورد استفاده، نژاد پرند، دوز آفلاتوکسین تجویز شده و وضعیت نگهداری به گونه ای طراحی گردید که می‌تواند به طور معمول در یک مزرعه پرورشی در ایران وجود داشته باشد. همچنین در این بررسی میکوتوکسین‌ها از یکدیگر تفریق نشده و اثر جمعی توکسین‌های تولیدی قارچ (همانند شرایط مزرعه) مورد نظر بوده است. برای بررسی کارایی سیلی‌مارین در پیش‌گیری از اثرات آفلاتوکسین از چندین شاخص شامل: تظاهرات کالبدگشایی با چشم غیرمسلح، تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی و یافته‌های هیستوپاتولوژیک استفاده شد. در بررسی تغییرات ناشی از آفلاتوکسین و همچنین اثر سیلی‌مارین بر این تغییرات کبد و کلیه به عنوان ارگان‌هایی که در دفع و متابولیسم سموم دخیل بوده و هنگام مسمومیت با آفلاتوکسین بیشترین آسیب را می‌بینند و عضله به عنوان بخشی از طيور که در چرخه غذایی انسان قرار می‌گیرد (البته در فرهنگ غذایی برخی مناطق، کبد و کلیه طيور نیز مصرف می‌شوند) انتخاب شدند.

آنزیم‌های ALT، AST و اسید اوریک بر اساس ساختار بیولوژیک طيور به عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی انتخاب شدند [۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰]. آنزیم‌های ALT و AST به عنوان شاخص بیوشیمیایی آسیب به سلول‌های کبدی انتخاب شدند [۱۶، ۱۷، ۱۸]. علاوه آن‌که در طيور مقدار آنزیم ALT در هنگام

آسیب به عضله نیز دچار تغییر می‌شود [۱۸]. اسید اوریک نیز به عنوان نشان‌گر فعالیت کلیه‌ها به کار رفت [۱۶، ۱۷، ۱۹، ۲۰]. مقایسه نتایج تظاهرات کالبدگشایی در بین گروه‌های مختلف این بررسی بیان‌گر تغییرات معنی‌داری نبود و کاشکسی و پتشی در هیچ کدام از لاشه‌ها تشخیص داده نشد. که شاید بتوان این مطلب را با کوتاهی دوره پرورش (۴۲ روز در خصوص طيور گوشتی) مرتبط دانست. بیان شده با مصرف آفلاتوکسین بر حسب دوز و دوره مصرف سم و همچنین سن میزبان، علایمی چون بزرگ شدن کبد، کلیه و طحال و نیز کوچک شدن بورس فابریسیوس، تیموس و بیضه‌ها در مشاهدات کالبدگشایی قابل رویت است. به دلیل کاهش تولید عوامل انعقادی و افزایش شکنندگی مویرگ‌ها، احتمال خون‌ریزی از نوع پتشی نیز وجود دارد [۱، ۴، ۵]. نتایج مطالعه تدسکو و همکاران نشان داد که میزان وزن‌گیری و دریافت مواد غذایی در گروهی از جوجه‌های گوشتی که سم آفلاتوکسین B_۱ به آنها داده شده بود، به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل که رژیم غذایی معمولی داشتند، کاهش نشان می‌دهد. میزان وزن‌گیری و دریافت مواد غذایی در گروه دیگری که علاوه بر آفلاتوکسین B_۱، سیلی‌مارین نیز دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروهی که فقط آفلاتوکسین دریافت کرده بودند، به طور چشم‌گیری (p<۰/۰۵) بالاتر بود و تفاوتی با گروه کنترل نشان نمی‌داد [۱۳].

در بررسی حاضر، آنالیز آماری شاخص‌های مرتبط با کبد



در گروه کنترل با گروهی که فقط آفلاتوکسین به جیره آن‌ها اضافه شده بود، تغییرات آنزیم‌های ALT و AST و همچنین تفاوت حضور و شدت یافته‌های آسیب شناختی چون میتوز، دژنراسانس واکوئله، پرخونی و تجمع هتروفیل در این دو گروه را معنی‌دار ($p < 0/01$) نشان داد، در حالی که مقایسه حضور هیپرپلازی مجاری صفراوی در این دو گروه تغییر معنی‌داری نداشت. در بررسی داده‌های مرتبط با آسیب و فعالیت کلیوی تغییر سطح اسید اوریک در این دو گروه معنی‌دار ($p < 0/01$) و در مورد مقایسه شاخص‌های تغییرات بافتی وجود پرخونی ($p < 0/05$) و افزایش سلول گلو مریولی ($p < 0/01$) معنی‌دار ارزیابی گردید ولی تفاوت در حضور دژنراسیون توبولی معنی‌دار نبود. در مجموع ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی و بافتی بیانگر آن است که در شرایط این بررسی در یک دوره پرورشی آفلاتوکسین باعث ایجاد آسیب در کلیه و کبد شده است، اگر چه این ضایعات به حدی شدید نبوده‌اند که بتوانند تغییرات معنی‌دار در بررسی کالبدگشایی را ایجاد نمایند. فرناندز و همکاران در سال ۱۹۹۴ بیان داشتند که سطح ALT در سرم در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین تفاوتی ندارد در حالی که در مرغ‌های تخم‌گذار تفاوت دارد [۲۱]. دیگر مولفان کاهش در محتوای سرم ALT را به دلیل مسمومیت AFB_1 در جوجه‌ها گزارش کردند [۲۲، ۲۳].

جهت بررسی اثر تجویز سیلی‌مارین بر کنترل آسیب‌های ناشی از آفلاتوکسین نتایج یافته‌های گروه ۴ که علاوه بر آفلاتوکسین ۸۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سیلی‌مارین دریافت نموده بودند با نتایج حاصل در گروه ۲ که فقط آفلاتوکسین به جیره آن‌ها اضافه شده بود مقایسه شدند. بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با کبد نشان داد که تغییر سطح آنزیم‌های ALT و AST معنی‌دار بوده است ($p < 0/01$). اما بررسی یافته‌های آسیب‌شناسی مرتبط با این عضو اگر چه کاهش در شدت و فراوانی ضایعات در بافت کبد را نشان می‌داد (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱)، ولی این تغییرات به جز در خصوص دژنراسانس واکوئله ($p < 0/01$) معنی‌دار نبود. تغییرات در سطح اسید اوریک به عنوان شاخص بیوشیمیایی آسیب و فعالیت کلیه در طیور در مقایسه بین گروه

۲ و ۴ معنی‌دار ($p < 0/01$) ارزیابی شد ولی در مقایسه داده‌های دیگر روش ارزیابی، اگر چه کاهش در فراوانی و شدت ضایعات مشاهده شد (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱) اما فقط تغییرات مرتبط با پرخونی کلیه معنی‌دار ارزیابی گردید. از مجموع مقایسه نتایج این دو گروه می‌توان نتیجه گرفت که سیلی‌مارین باعث کاهش شدت و فراوانی ضایعات در این ارگان‌ها شده است. این اثر بر کاهش ضایعات در بررسی بیوشیمیایی معنی‌دار ارزیابی و در بررسی‌های آسیب‌شناسی در اکثر موارد معنی‌دار نبود ولی در هر صورت کاهش ضایعات در گروه ۴ (جدول شماره ۱) قابل انکار نیست. این یافته‌ها به نقش موثر سیلی‌مارین در پایداری و تثبیت غشای یاخته‌های کبدی اشاره می‌نمایند که مانع از پیوند بسیاری از سموم و داروها با این غشاها می‌گردد. هم‌چنین احتمال می‌رود که سیلی‌مارین علاوه بر تثبیت غشا، با حذف نمودن رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز، موجب اعمال این نقش محافظتی گردد [۱۳].

مقایسه یافته‌های پاتولوژیک حاصل از مطالعه عضله سینه (پرخونی) در بین همه گروه‌ها بی‌معنی تعیین گردید و با توجه به میزان شدت و فراوانی ضایعه (جدول شماره ۲) می‌توان چنین برداشت نمود که مصرف این دوز از آفلاتوکسین در این بازه زمانی قادر به ایجاد آسیب در عضله نیست.

مقایسه نتایج حاصل در گروهی که فقط ۸۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سیلی‌مارین به جیره غذایی آن‌ها افزوده شده بود (گروه ۳) با گروهی که جیره معمول را دریافت نموده بود (گروه ۱) نشان داد که تغییرات آنزیم ALT و هم‌چنین فراوانی و شدت آسیب‌های موجود در کبد، کلیه و عضله معنی‌دار نبوده ولی تغییرات در سطح اسید اوریک ($p < 0/05$) و AST معنی‌دار ($p < 0/01$) ارزیابی شد. در بررسی تدسکو و همکاران در سال ۲۰۰۴ نیز هیچ تفاوتی در سطح فاکتورهای بیوشیمیایی بین این دو گروه گزارش نشد [۱۳]. افزایش سطح اسید اوریک و AST را می‌توان با یکی از مکانیسم‌های سیلی‌مارین یعنی قابلیت آن در افزایش سنتز پروتئین در بافت کبدی مرتبط دانست. در بررسی‌های انسانی مشخص شده است که سیلی‌مارین از طریق تحریک DNA پلیمراز A، باعث افزایش تشکیل ریبوزوم‌ها و سنتز DNA و در نتیجه افزایش

اساس یافته‌های این بررسی می‌توان توصیه نمود در دوره کوتاه پرورشی و مسمومیت با دوز کم آفلاتوکسین، تشخیص اثرات ناشی از آفلاتوکسین و یا بررسی اثر سیلی‌مارین بر این ضایعات، بیشتر به یافته‌های بیوشیمیایی توجه شود.

در جمع‌بندی موارد مشروحه فوق، با توجه به اینکه سیلی‌مارین بر بافت‌ها اثر سویی نداشته و قادر به کاهش آسیب‌های ناشی از آفلاتوکسین نیز است و هم‌چنین با در نظر داشتن گستره آسیب‌های اقتصادی و بهداشتی ناشی از آفلاتوکسین در ارتباط با جامعه انسانی و صنعت طیور، که در ایران نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است می‌توان این ماده را به عنوان کنترل‌کننده اثرات سوء ناشی از آفلاتوکسین معرفی نمود. قیمت مناسب این عصاره گیاهی، در دسترس بودن و گستره وسیع رویش آن در ایران به توجیه اقتصادی بهره‌گیری از این گیاه در این راستا کمک می‌نماید.

تولید پروتئین می‌شود [۲۴]. لذا با توجه به این نتایج می‌توان چنین اظهار داشت که در شرایط این بررسی مصرف این دوز از سیلی‌مارین در یک دوره پرورشی ۴۲ روزه بر تغییرات بافتی ارگان‌های بررسی شده، اثر سویی نداشته است.

از دیگر مواردی که می‌توان در بررسی نتایج این مطالعه به آن اشاره نمود، مقایسه نتایج حاصل از روش‌های مختلف ارزیابی به کار رفته در این تحقیق است، که در بررسی‌های قبلی وجود نداشته است. با توجه به نتایج می‌توان چنین اذعان داشت که در اکثر موارد سطح معنی‌داری در روش ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی بیشتر از روش هیستوپاتولوژیک و کالبدگشایی بوده است، که علت این مسأله را می‌توان با دوره پرورشی و دوز آفلاتوکسین مرتبط دانست به نحوی که فرصت و حدت در این دوره پرورشی به آن اندازه نبوده است که اختلاف تظاهرات بافتی به سطح معنی‌داری برسند، لذا بر

منابع

1. Gray D. Osweiler. "mycotoxin" in Toxicology. Williams and Wilkins. 1993; 29: 416 - 420.
2. Arafa AS, R. J. Bloomer, H. R. Wilson, C. F. Simpson, and R. A. Harms. 1981. Susceptibility of various poultry species to dietary aflatoxin. Br. Poult. Sci. 22; 431 - 436.
3. Doerr JA, WE. Huff, C. J. Wabeck, G. W. Chaloupka J. D. May, and J. W. Merkely. 1983. Effects of low-level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. Poult. Sci. 62: 1971 - 1977.
4. Konnie H. plumlee "Mycotoxin" in Clinical Veterinary Toxicology. Mosby. an Affiliate of Elsevier. 2003; 23: 231 - 235.
5. Frank J, pattison M, Alexander D, Faragher T. "aflatoxin" in poultry disease. F. T. W. bailliere Tindall. 2002; 221 - 222.
6. Micco C., M. Miraglia, R. Onori, C. Bera, A. Mantovani, A. Ioppolo, and D. Stasolla. 1988. Long-term administration of low dose of mycotoxins to poultry. 1. Residues of aflatoxin B1 and its metabolites in broilers and laying hens. Food Addit. Contam. 5: 303-308.
7. Magliulo E., P. G. Carosi, L. Minoli, and S. Gorini. 1973. Studies on the regenerative capacity of the liver in rats subjected to partial hepatectomy and treated with silymarin. Arzneimittelforschung 23: 161 - 167.
8. Luper, S. 1998. A review of plants used in the treatment of liver disease; Part I. Altern. Med. Rev. 3: 410 - 421.
9. Rastogi R, Srivastava AK, Rastogi AK. Long term effect of aflatoxin B1 on lipid peroxidation in rat liver and kidney. Effect of picroliv and silymarin. Phytother Res. 2001; 1 (5): 307-310.
10. Kolosova AY, Shim WB, Yang ZY, Eremin SA, Chung DH. Direct competitive ELISA based on a monoclonal antibody for detection of aflatoxin B1. Stabilization of ELISA kit components and application to grain samples. Anal Bioanal Chem. 2006 Jan; 384 (1): 286-94. Epub



2005 Oct 28.

11. Zheng Z, Humphrey CW, King RS, Richard JL. Validation of an ELISA test kit for the detection of total aflatoxins in grain and grain products by comparison with HPLC. *Mycopathologia*. 2005 Feb; 159 (2): 255 - 63.

12. Makarananda K, Weir LR, Neal GE. Competitive ELISA. *Methods Mol Biol*. 1998; 80: 155 - 60.

13. Tedesco D., LSteidler R, Galletti S, Tameni M, Sonzogni O. Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. *poultSci*. 2004; 83 (11): 1839 - 1843.

14. Pratt PW: *Laboratory Procedures for Veterinary Technicians*, 3rd ed. Philadelphia, Mosby, 1996, pp. 98 - 99.

15. Stockham SL, Scott MA: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Ames, Iowa State University Press, 2002, pp. 434-459.

16. Campbell, TW: *Avian Hematology and Cytology*. Ames, IA, Iowa State University Press, 1997.

17. Fudge AM: *Avian Clinical Pathology, Hematology and Chemistry*, In Altman, Clubb, Dorrestein, Quesenberry (eds.): *Avian Medicine and Surgery*, WB Saunders, Philadelphia, 1997, pp: 142-157.

18. Bain PJ: Liver. In: Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW: *Duncan and Prasse's Veterinary*

Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 4th ed. Ames, Iowa State Press, 2003, pp: 193-214.

19. Pratt PW: *Laboratory Procedures for Veterinary Technicians*, 3rd ed. Philadelphia, Mosby, 1996, pp: 98 - 99.

20. Stockham SL, Scott MA: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Ames, Iowa State University Press, 2002, pp: 434 – 459.

21. Fernandez, A., M. T. Verde, M. Gascon, J. Ramos, J. Gomez, D. F. Luco, and G. Chavaz. 1994. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing feed. *Avian Pathol*. 23: 37-47.

22. Stanley, V. G., R. Ojo, S. Woldsenbet, and D. H. Hutchinson. 1993. The use of *Sacchromyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. *Poult. Sci*. 72: 1867 - 1872.

23. Valdivia, A. G., A. Martinez, F. J. Damian, T. Quezada, R. Ortiz, C. Martinez, J. Llamas, M. L. RODiguez, L. Yamamoto, F. Jaramillo, M. G. Loarca-Pina, and J. L. Reyes. 2001. Efficacy of N-acetylcysteine to reduce the effects of aflatoxin B1 intoxication in broiler chickens. *Poult. Sci*. 80: 727-734.

24. Sonnenbichler J, Goldberg M, Hane L, et al. Stimulatory effect of silibinin on the DNA synthesis in partially hepatectomized rat livers, non-response in hepatoma and other malignant cell lines. *Biochem Pharmacol*. 1986; 35; 538 - 541.

