13 (2) 159-168, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of different levels of organic biotronic and nano-crystall silymarin supplement with and without LPS on liver chemical function, histology, cellular immunity and blood parameters in 21-24day-old broilers

Iman Askari [1*], Mahmoud Shams Shargh [1], Firouz Samadi [2], Saeed Hassani [2]

[1] *Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran*

[2] *Department of Animal and poultry Breeding and Genetic, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran*

Key Words

Biotronic supplement
Silymarin
Histology
Blood parameters
Chemical performance
Broiler chickens

Abstract

Introduction: The purpose of this study was to investigate the effect of dietary biotronic organic supplement and silymarin nanocrystal supplement with and without LPS factor on liver chemical analysis, histology and immune-cell changes and blood parameters of broiler chicks.

Materials & Methods: This experiment was conducted in2×4 factorial arrangements with completely randomized design using 192-day old male broiler chicks in 8 treatments, 4 replications and 12 chicks per each replicate. The factors of interest included LPS in two levels of (with and without LPS) and silymarin nano-crystal, biotronic organic supplement factor in 4 levels including (zero, biotronicorganic supplement, nano-crystal silymarin, and biotronic organic supplement complementary nano-crystal silymarin**.**

Result: The results showed that the use of organic biotronic and silymarin nanocrystalline supplements and their mix significantly reduced the ALT, AST and percentage of mitotic liver lesions ($P<0.05$). Application of nano-crystal silymarin and organic biotronic supplement had significant effect on hepatic factors such as hepatocyte count, hepatocyte diameter and sinusoid size but had no significant effect on hepatocyte nucleus diameter. LPS also significantly altered blood parameters and cellular enzymes ($P<0.05$). Biotronic and nano-crystal silymarin supplement and their mix significantly improved the changes ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that the using of organic biotronic supplement and silymarin nano-crystal, and especially their mix, improved the performance of liver and chemical and cellular enzymes and liver blood parameters.

* Corresponding Author's email: imanaskrai@gmail.com

Received: 22 April 2020; Reviewed: 10 June 2020; Revised: 28 August 2020; Accepted: 4 October 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.136660

مقاله پژوهشی

تاثیر سطوح مختلف مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین با و بدون فاکتورLPS بر عملکرد شیمیایی، هیستولوژی کبد، ایمنی سلولی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی ۲۱ الی ۲۴ روزه

ایمان عسکری[1]، محمود شمس‌شرق[1]، فیروز صمدی[2]، سعید حسنی[2]*

[1] گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[2] گروه ژنتیک، اصلاح و فیزیولوژی دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

کلمات کلیدی

مکمل بیوترونیک
سیلی مارین
هیستولوژی
فراسنجه‌های خونی
عملکرد شیمیایی
جوجه‌های گوشتی

چکیده

مقدمه: هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین با و بدون فاکتور LPS بر آنالیز شیمیایی، هیستولوژی کبد و تغییرات ایمنی- سلولی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۲×٤ در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از ۱۹۲ قطعه جوجه خروس گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در ۸ تیمار، ٤ تکرار و ٦ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل LPS در دو سطح (با و بدون LPS) و فاکتور مکمل آلی بیوترونیک و سیلی‌مارین نانوکریستال در ٤ سطح شامل (جیره پایه،جیره پایه+مکمل آلی بیوترونیک،جیره پایه+سیلی‌مارین نانوکریستال، جیره پایه+ میکس مکمل آلی بیوترونیک و سیلی‌مارین نانوکریستال بر حسب گرم در کیلوگرم) بود.

نتایج: نتایج نشان دادند که استفاده از مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین و میکس آن‌ها باعث کاهش معنی‌دار آنزیم‌های کبدی ALT ,AST و در صد ضایعه تقسیم میتوز شدند (P<۰/۰۵).استفاده از سیلی‌مارین نانوکریستال و مکمل آلی بیوترونیک تاثیر معنی‌داری بر فاکتورهای کبدی ازجمله تعداد هپاتوسیت، قطر هپاتوسیت و اندازه سینوزوئید داشت ولی بر قطر هسته هپاتوسیت تاثیر معنی‌داری نداشت. LPS توانست به‌طور معنی‌داری میزان فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های ایمنی سلولی را تغییر دهد (P<۰/۰۵). مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین و میکس آن‌ها توانستند به‌طور معنی‌داری این تغییرات را بهبود ببخشند (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری و بحث: به‌طورکلی نتایج این مطالعه نشان دادند که استفاده از مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین و مخصوصاً میکس آن‌ها باعث بهبود عملکرد فاکتورهای کبدی و آنزیم‌های شیمیایی و ایمنی و فراسنجه‌های خونی شد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: imanaskari@gmail.com

تاریخ دریافت: ۳ اردیبهشت ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۲۱ خرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۷ شهریور ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳ مهر ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.136660

مقدمه

امروزه در صنعت پرورش طیور با توجه به آلودگی خوراک، مبتلا شدن به مسمومیت‌های قارچی از بیماری‌های متداول است (Saife و همکاران، ۲۰۰۸). استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌های آن‌ها ضمن تقویت سیستم ایمنی طیور، عوارض سوء ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را ندارد (Teimoryzadehو همکاران، ۱۳۸۸). تاکنون چندین روش به منظور افزایش حلالیت و زیست فراهمی داروهای کم محلول در آب، استفاده شده است. ترکیبات نانوکریستال و نانوذرات می‌توانند برای افزایش حلالیت و هدف قراردادن سلول‌های دلخواه با حداقل آسیب به سلول‌های طبیعی مورد استفاده قرار گیرند (Ahmad و همکاران، ۲۰۱۵). نانوکریستال‌ها ذراتی با اندازه نانومتری هستند. ویژگی مهم داروهای نانوکریستالی، افزایش و توانایی انتقال آن‌ها از غشای سلول‌ها است (Junghunns و Muller، ۲۰۰۸). لیپوپلی ساکارید بخشی از غشا خارجی باکتری‌های گرم منفی بوده که در بروز شرایط پاتولوژیک بیماری‌هایی نظیر شوک عفونی، کولستاز معده و روده ناشی از هلیکو باکتر نقش دارد. بخش عمده لیپوپلی‌ساکارید توسط سلول‌های کوپفر، آندوتلیال و پارانشیمال کبد از خون برداشته می‌شود (Van stone و همکاران، ۱۹۹۸). لیپوپلی ساکارید آندوتوکسینی بسیار قوی بوده که منجربه پاسخ‌های التهابی در بافت‌های سلولی می‌شود. برخی از محققین بر این باورند که افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی در آسیب‌های بافتی ایجاد شده توسط لیپوپلی ساکارید نقش دارد (Slominary، ۲۰۱۰). تحقیقات نشان دادند که سیلی‌مارین از طریق کاهش پراکسید لیپیدها موجب کاهش مرگ سلول‌های عصبی ناشی با مقدار گلوکز بالا می‌شود البته سیلی‌مارین درمقادیر بالا مانند پراکسید باعث بروز اثرات سمی و کاهش توان حیاتی سلول می‌شود و به‌عنوان افزاینده مالون دی آلدئید عمل می‌کند (Asadi و همکاران، ۱۳۸۹). مطالعات دیگری نشان داد سیلی‌مارین سبب تثبیت ساختمان غشای سلول و مهار آزاد سازی واسطه‌های التهابی می‌گردد و با جلوگیری از ارتشاح لوکوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها اثرات ضدالتهابی خود را اعمال می‌کند (Vargas-Mendozaوهمکاران،۲۰۱۴). نتایج هیستومرفومتریک شامل افزایش معنی‌دار قطر هپاتوسیت‌ها، قطر هسته هپاتوسیت‌ها و اتساع سینوزوئیدهای کبدی و هم‌چنین ارتشاح گلبول‌های سفید تک‌هسته‌ای، نکروز و پرخونی در پارانشیم کبد و هیپرپلازی بافت پوششی مجاری صفراوی در مقابله با القا مسمومیت فنل می‌باشد. این تغییرات در هیستومتری هپاتوسیت‌ها ممکن است به‌دلیل متابولیسم سم در کبد باشد (Fazelipoor و همکاران، ۲۰۰۸). هم‌چنین گزارش شده است که ارتشاح لنفوسیت‌ها یکی از فرآیندهای مهم در پاتوژنز هپاتیت است، به این صورت که متعاقب ورود عوامل بیماری‌زا یا سموم به کبد، تعداد لنفوسیت‌ها و گلبول‌های سفیدتک‌هسته‌ای در بافت افزایش می‌یابد (Zoo و همکاران، ۲۰۰۲) محققین گزارش کردند سیلی‌مارین به‌دلیل دارا بودن خاصیت جمع‌آوری رادیکال آزاد با آنیون هیدروکسیل و اسید هیپوکلر واکنش داده و از پراکسیداسیون که توسط رادیکال آزاد در میتوکندری صورت می‌گیرد جلوگیری به‌عمل می‌آورد (Suchy و همکاران، ۲۰۰۸) نوتروفیل‌های فعال شده پس از هجوم به‌داخل بافت تعداد زیادی از سایتوکین‌ها، رادیکال‌های آزاد و آنزیم‌های بافتی را آزاد می‌سازند که این امر منجر به جراحات بافتی می‌شود (Mizonai و همکاران، ۲۰۰۳). اثرات حفاظتی عصاره خارمریم توسط وایت و همکاران گزارش شده است. در مطالعات پیشین مشاهده شده که عصاره خارمریم نه تنها با رادیکال‌های آزاد مضر کونژوگه می‌شود بلکه پاسخ‌های پیش التهابی ناشی از TGF,B1 افزایش سطوح و TNF-a را سرکوب می‌کند (Pradip و همکاران، ۲۰۰۷). سیلی‌مارین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پانکراس، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش می‌دهد (Soto و همکاران، ۲۰۰۳). گزارشی نشان داد که سیلی‌مارین تخریب سلولی ناشی از اثر آفلاتوکسین را کاهش می‌دهد و می‌تواند مسمومیت گاسیپول را در صورت اضافه کردن آن به جیره کاهش دهد (Rastgoie و همکاران، ۲۰۰۱). در حیوانات مسموم شده اتساع سینوزوئیدهای اطراف ورید مرکزی را مشاهده نمودند و در درمان با سیلی‌مارین پارانشیم نرمال کبدی دیده شد (Parvin و همکاران، ۲۰۱۱). از آن‌جایی‌که تا به الان اثر هم‌زمان مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین روی فاکتورهای بافتی و شیمیایی کبد در طیور بررسی نشده است، در این تحقیق اثر هم‌زمان سطوح مختلف مکمل آلیبیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین هم‌زمان با مسمومیت القاشده توسط LPS (شبیه‌سازی) موردبررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این طرح در بهار سال ۱۳۹۸ در یک سالن مرغداری ۲۰ هزار قطعه‌ای واقع در شهرستان گلوگاه انجام شد. مطالعه و اندازه‌گیری فراسنجه‌های مورد ارزیابی در سه آزمایشگاه تشریح و فیزیولوژی دام، تغذیه دام و شیمی و فرآوری گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۴×۲ که فاکتور اول شامل دو سطح با و بدون LPS و فاکتور دوم شامل چهار سطح (جیره پایه بدون افزودنی، جیره پایه+نانوکریستال سیلی‌مارین، جیره پایه+ مکمل آلی بیوترونیک، جیره پایه + میکس نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک) هر تیمار دارای ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۶ قطعه جوجه خروس گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ بود.

جدول ۱: اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های غذایی در سه دوره آغازین، رشد و پایانی

ماده خوراکی	آغازین (سن ۱ تا ۱۰ روزگی)	رشد (سن ۱۱ تا ۲۴ روزگی)	پایانی (سن ۲۵ الی ۴۲ روزگی)
ذرت (پروتئین خام= ۷/۲)	۴۸/۸۱	۵۲/۷۸	۵۹/۰۷
کنجاله سویا (پروتئین خام= ۴۳)	۴۲/۹۹	۳۸/۴	۳۴/۲۹
روغن خام سویا	۳/۸۳	۳/۶۲	۳/۲۰
دی کلسیم فسفات	۱/۷۴	۱/۴۴	۱/۳۴
کربنات کلسیم	۱/۲۷	۱/۰۴	۱/۰۳
نمک	۰/۴۵	۰/۴۲	۰/۳۹
مکمل ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی- ال متیونین	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۱
ال- لیزین	۰/۱۱	۰/۱۹	۰/۱۸
مجموع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
ترکیب شیمیایی (٪)			
انرژی قابل سوخت و ساز	۲۸۸۰	۲۹۳۰	۳۰۱۰
پروتئین	۲۲/۰۸	۲۰/۳۲	۱۸/۳۴
لیزین	۱/۳۹	۱/۲۳	۱/۱۰
متیونین	۰/۶۶	۰/۶۱	۰/۵۴
ترئونین	۰/۹۰	۰/۸۲	۰/۷۲
متیونین- سیستئین	۱/۰۱	۰/۹۲	۰/۸۳
کلسیم	۰/۹۳	۰/۸۳	۰/۷۵
فسفر قابل دسترس	۰/۴۵	۰/۴۰	۰/۳۶
سدیم	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۱۴

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینی تأمین‌کننده موارد ذیل است: ۳۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامینA، ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامینD3، ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامینE، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامینk3، ۹۰۰ میلی‌گرم ویتامینB1، ۳۳۰۰ میلی‌گرم ویتامینB2، ۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامینB3، ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامینB5، ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامینB6، ۵۰۰ میلی‌گرم ویتامینB9، ۷/۵ میلی‌گرم ویتامینB12، ۲۵۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین و ۵۰۰ میلی‌گرم بیوتین.

۲- هر کیلوگرم از مکمل معدنی تأمین‌کننده موارد ذیل است: ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰ میلی‌گرم ید ، ۱۰۰ میلی‌گرم سلنیوم.

این آزمایش در بازه زمانی ۲۱ الی ۲۴ روزگی انجام گرفت و در سن ۲۴ روزگی از هر واحد آزمایشی سه قطعه جوجه انتخاب و پس از خونگیری از ورید بال، میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم خون، آسیب کبدی و تغییر فاکتورهای کبدی شامل (قطر هسته و تعداد هپاتوسیت، قطر سینوزئید، درصد ضایعه تقسیم میتوز سلولی و میزان پرخونی کبد)، پارامترهای سیستم ایمنی شامل (سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز) بررسی گردید. در پایان میزان تاثیر جیره مورد آزمایش روی غلظت (گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول خون، HDL-C، CLDL-C) بررسی گردید. پس از طی مراحل تثبیت، آماده‌سازی و قالبگیری در پارافین، نمونه‌ها با استفاده از میکروتوم با ضخامت ۵ میکرون برش داده شده و با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شده و سپس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی فاکتورهایی هم‌چون قطر هپاتوسیت، قطر هسته هپاتوسیت، قطر سینوزوئید اندازه‌گیری و تعداد هپاتوسیت و درصد ضایعه تقسیم میتوز بررسی گردید پس از نمونه‌برداری از بافت کبد، این بافت جهت تثبیت به محلول فرمالین ۱۰درصد بافری منتقل شد. LPS از مخلوط استخراج فنل کلروفرم و اتر تهیه گردیده به‌طوری‌که به‌ازای هر ۵ گرم باکتری ۲۰CC مخلوط استخراج می‌شود .ابتدا فنل جامد به وسیله حرارت به مایع و با افزودن آب فنل اشباع تهیه می‌شود باید توجه داشت که این مخلوط باید شفاف و مونوفاژیک باشد باکتری‌ها همراه با مخلوط استخراج به‌مدت دو دقیقه به‌وسیله دستگاه هموژنایزر به‌طور کامل همگن شده و ۵ دقیقه دوباره با دستگاه شیکر همگن می‌شوند مخلوط حاصل سانتریفیوژ می‌گردد. پس از سانتریفیوژ سه لایه تشکیل می‌گردد. لایه وسط توده باکتری، لایه بالا و پایین مخلوط استخراج، محلول بالایی حاوی LPS جمع‌آوری می‌شود. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در گلبول‌های قرمز با استفاده از کیت راندوکس انجام گرفت.در این روش از گزانتین اکسیداز برای تولید رادیکال سوپر اکسید دسموتاز استفاده شد این رادیکال‌های با ماده‌ای به‌نام فنیل تترازوسیم کلراید واکنش و کمپلکس

قرمز رنگ فورماژن را تشکیل داده که غلظت آن با اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیدازاین آنزیم‌را کاتالیز نموده‌و سپس گوتاتیون اکسید شده را در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH دوباره به گلوتاتیون احیا تبدیل می‌شود در این واکنش NADP نیز تولید می‌شود. با اندازه‌گیری کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانو متر به‌وسیله اکسپتوفتومتر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تعیین گردید. در انتها نتایج حاصل از این آزمایش با استفاده از روش تجزیه واریانس و آنالیز SAS (۲۰۰۳) مورد تجزیه وتحلیل آماری قرار گرفت. مدل طرح آماری استفاده شده به شکل زیر بود:

$y_{ijkl}= \mu + a_i + b_j + c_k + (a\times b)_{ij} + (a\times c)_{ik} + (b\times c)_{jk} + (a\times b\times c)_{ijk} + e_{ijkl}$

y_{ijkl} = هر مشاهده از فراسنجه مورد اندازه گیری، μ= میانگین جامعه، a_i= اثر لیپوپلی ساکارید، b_j= اثر نانوکریستال سیلی‌مارین، c_k= اثر مکمل بیوترونیک، $(a\times b)_{ij}$= اثر متقابل لیپوپلی ساکارید و نانوکریستال سیلی‌مارین، $(a\times c)_{ik}$= اثر متقابل لیپوپلی ساکارید و مکمل بیوترونیک، $(b\times c)_{jk}$ = اثر متقابل نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل بیوترونیک، $(a\times b\times c)_{ijk}$= اثر متقابل لیپوپلی ساکارید و نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل بیوترونیک، e_{ijkl}= خطای آزمایش

نتایج

بررسی فاکتورهای بافت کبدی: با توجه به داده‌های بافتی به‌دست آمده از مطالعه حاضر در سطح استفاده شده از LPS اختلاف معنی‌داری در تعداد هپاتوسیت مشاهده‌شد.بیش‌ترین تعداد هپاتوسیت مربوط به سطح بدون LPS بود (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک در کلیه سطوح نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بیش‌ترین تعداد هپاتوسیت مربوط به سطح نانوکریستال سیلی‌مارین بود بررسی‌های اثر متقابل این دو فاکتور هم اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین تعداد هپاتوسیت مربوط به تیمار بدون LPS با فاکتور مکمل آلی بیوترونیک بود. بررسی‌های صورت گرفته درخصوص شاخص قطر هپاتوسیت‌در سطوح استفاده شده از نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان قطر هپاتوسیت مربوط به سطحی بود که از ترکیب مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین استفاده شد.در سطح اثر متقابل هم‌اختلاف معنی‌داری‌مشاهده شد(P<۰/۰۵).کم‌ترین قطر هپاتوسیت مربوط به تیمار بدون LPS در سطح شاهد بود. در اندازه قطر سینوزوئید در سطح LPS اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیش‌ترین میزان قطر سینوزوئید مربوط به سطح با LPS بود(P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف معنی‌دار بود کم‌ترین میزان قطر سینوزوئید مربوط به سطحی بود که از ترکیب نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک استفاده شد. ضمناً تغییرات به‌وجود آمده در هیچ‌یک از سطوح روی قطر هسته هپاتوست معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲:تاثیر استفاده از مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین با LPS و بدون LPS بر تغییرات ایجاد شده در فاکتورهای کبدی

عوامل	تعداد هپاتوسیت/میلی‌متر مربع	قطر هپاتوسیت /میکرومتر	قطر سینوزوئد /میکرومتر	قطر هسته هپاتوسیت/میکرومتر
LPS				
بدون LPS	۵۳۳/۹ a	۱۴/۶۱	۵/۱۰ b	۶/۹۹
با LPS	۴۶۱/۵ b	۱۴/۶۷	۵/۴۴ a	۷/۱۵
SE	۷/۰۶	۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۱
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۸	۰/۰۲	۰/۳۲
نانوکریستال سیلی‌مارین، مکمل آلی بیوترونیک				
شاهد	۴۷۳/۰۵ b	۱۴/۸۶ a	۶/۳ c	۶/۸۷
مکمل آلی بیوترونیک	۵۰۵/۶ a	۱۴/۴۴ ab	۵/۴ b	۷/۱۸
نانوکریستال سیلی‌ماارین	۵۰۸/۶ a	۱۴/۱۹ b	۵/۰۵ b	۶/۹۲
میکس مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین	۵۰۳/۴ a	۱۴/۰۵ b	۴/۰۵ a	۷/۳
SE	۱۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۱۳	۰/۱۵
سطح احتمال	۰/۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۱۷
اثر متقابل	S	S	ns	ns

a-d در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در سطح LPS معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). در سطح تیمار شده با نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف بین کلیه گروه‌ها با تیمار شاهد معنی‌دار بود.تیمار میکس نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک توانست بیش‌ترین تاثیر را روی کاهش این آنزیم کبدی بگذارد. در سطح اثر متقابل هم اختلافALT معنی‌دار

بود (P<۰/۰۵). کم‌ترین سطح این آنزیم مربوط به گروه مسموم تیمار شده با میکس نانواسید بود. پارامتر AST نیز در سطح LPS اختلاف معنی‌داری نشان‌داد. LPS توانست میزان این آنزیم را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد(P<۰/۰۵).سطوح استفاده‌شده از نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). تیمار میکس مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین توانست بیش‌ترین تاثیر را روی کاهش این آنزیم بگذارد. نتایج آزمایشات مقایسه میانگین در سطح اثر متقابل هم اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). کم‌ترین سطح آنزیم AST مربوط به تیمار بدون LPS با مکمل آلی بیوترونیک بود (جدول ۳).

جدول ۳ : تاثیر استفاده از مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین بر میزان فعالیت آنزیم‌های AST , ALT

عوامل	U/L.ALT سرم	U/L.AST سرم
LPS		
بدون LPS	۶۲/۶ b	۱۲۹/۱۰ b
با LPS	۶۵/۹ a	۱۵۴/۱ a
SE	۰/۳۶	۱/۵۲
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
نانوکریستال سیلی‌مارین، مکمل آلی بیوترونیک		
شاهد	۶۹/۸ a	۱۵۷/۷ a
مکمل آلی بیوترونیک	۶۱/۳ c	۱۳۲/۴۷ c
نانوکریستال سیلی‌مارین	۶۶/۲ b	۱۴۳/۶ b
میکس مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین	۵۹/۵ c	۱۳۲/۶ d
SE	۰/۵۱	۲/۱۵
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
اثر متقابل	S	S

a-d در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

میزان درصد ضایعه تقسیم میتوز: در سطح استفاده شده از LPS اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. LPS توانست درصد ضایعه تقسیم میتوز را به‌طور معنی‌داری در مرحله تلوفاز میتوز افزایش دهد (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف‌بین‌کلیه‌سطوح با تیمار شاهدمعنی‌داربود.ترکیب نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک توانست بیش‌ترین تاثیر را روی کاهش درصد ضایعه تقسیم میتوز بگذارد. در سطح اثر متقابل هم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان مربوط به تیمار بدون LPS در سطح شاهد بود.

میزان درجه پرخونی: در سطح LPS درجه پرخونی نوع ۲ مشاهده شد. در سطوح استفاده شده از نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک درجه پرخونی از نوع درجه ۱ بود ولی در سطح میکس نانو اسید هیچ‌گونه مسمومیتی مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۴: تاثیر استفاده از سطوح مختلف مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین بر میزان درصد ضایعه تقسیم سلولی و پرخونی

عوامل	درصد ضایعه تقسیم میتوز	درجه پرخونی
LPS		
بدون LPS	۳۶/۰۶ a	بدون پرخونی
با LPS	۵۳/۶۴ b	مشاهده شد۲
SE	۰/۳۹	
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	
نانوکریستال سیلی‌مارین، مکمل آلی بیوترونیک		
شاهد	۵۲/۶۱a	بدون پرخونی
مکمل آلی بیوترونیک	۴۰/۱۵ c	نوع ۱
نانوکریستال سیلی‌مارین	۴۴/۲۳b	نوع ۱
میکس مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین	۳۷/۹ d	بدون پرخونی
SE	۰/ ۵۵	۱۹/۱۵
سطح احتمال	۰/۰۰۱	۰/۰۲۲۱
اثر متقابل	S	NS

a-d در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

میزان گلوکز: در سطح استفاده شده از LPS اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. LPS توانست به‌طور معنی‌داری میزان گلوکز سرم خون را افزایش دهد (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف بین کلیه سطوح با تیمار شاهد معنی‌دار بود

سطح نانوکریستال سیلی‌مارین توانست بیش‌ترین تاثیر را روی افزایش گلوکز بگذارد. در سطح اثر متقابل هم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بهترین تیمار مربوط به تیمار بدون LPS با نانوکریستال سیلی‌مارین می‌باشد.

میزان کلسترول: در سطح استفاده‌شده از LPS اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. LPS توانست به‌طور معنی‌داری میزان کلسترول سرم خون را افزایش دهد (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف بین کلیه سطوح با تیمار شاهد معنی‌دار بود و سطح میکس نانواسید توانست بیش‌ترین تاثیر را روی کاهش غلظت کلسترول سرم خون بگذارد در سطح اثر متقابل نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج آزمایشات مقایسه میانگین نشان داد بهترین تیمار مربوط به تیمار بدون LPS با میکس نانواسید می‌باشد.

میزان تری‌گلیسرید: در سطح استفاده شده از LPS اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. LPS توانست به‌طور معنی‌داری میزان تری‌گلیسرید سرم خون را افزایش دهد (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک نیز اختلاف بین کلیه سطوح با تیمار شاهد معنی‌دار بود سطح میکس نانواسید توانست بیش‌ترین تاثیر را روی میزان کاهش تری‌گلیسرید بگذارد. درسطح اثر متقابل هم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج آزمایشات مقایسه میانگین نشان داد بهترین تیمار مربوط به سطح بدون LPS با میکس نانواسید می‌باشد. کاهش میزان تری‌گلیسرید می‌تواند ناشی از کاهش سنتز چربی‌ها باشد.

میزان LDL: در سطح استفاده شده از LPS اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. LPS توانست به‌طور معنی‌داری میزان LDL سرم خون را افزایش دهد (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف بین کلیه سطوح با تیمار شاهد معنی‌دار بود سطح میکس نانواسید توانست بیش‌ترین تاثیر را روی کاهش LDL بگذارد. در سطح اثر متقابل هم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) بهترین تیمار مربوط به تیمار بدون LPS با میکس نانواسید بود.

میزان HDL: در سطح استفاده شده از LPS اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. LPS توانست به‌طور معنی‌داری میزان HDL سرم خون را کاهش دهد (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک اختلاف بین کلیه سطوح با تیمار شاهد معنی‌دار بود سطح میکس نانو اسید توانست بیش‌ترین تاثیر را روی افزایش HDL بگذارد. درسطح اثر متقابل اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بهترین سطح مربوط به تیمار بدون LPS با نانوکریستال سیلی‌مارین می‌باشد (جدول ۵).

جدول ۵: تاثیر استفاده از سطوح مختلف مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

	گلوکز	کلسترول	تری‌گلیسرید	LDL	HDL
LPS					
بدون LPS	۱۹۸/۰۴ b	۹۰/۸ b	۳۵/۲ b	۶۱/۸ a	۳۱/۳ b
با LPS	۲۲۳/۹۵ a	۱۰۲/۶ a	۴۰/۷ a	۵۷/۹	۳۸/۹ a
SE	۴/۱۸	۰/۴	۰/۲۴	۰/۳۴	۰/۳۶
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
نانوکریستال سیلی‌مارین، مکمل آلی بیوترونیک					
شاهد	۲۰۵/۱۶ c	۱۰۳/۸ a	۴۱/۲ a	۵۲/ ۹ c	۳۸/۳ a
مکمل آلی بیوترونیک	۲۲۲/۰۴ a	۹۸/۶ b	۳۹/۷ b	۶۱/۴۳ b	۳۶/۱ b
نانوکریستال سیلی‌مارین	۲۴۱/۷۸ d	۹۳/۱۶ c	۳۵/۰۶ c	۶۱/۸ ab	۳۳/۴ c
میکس مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین	۲۱۵/۷۲ b	۹۰/۹ d	۳۵/۸ c	۶۳/۳ a	۳۲/۷ d
SE	۰/۸۱	۰/۵۶	۰/۳	۰/۴	۰/۳
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
اثر متقابل	S	S	S	SS	

a-d در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

LPS روی پارامتر SOD اختلاف معنی‌داری نشان داد. LPS توانست میزان SOD (سوپراکسید دسموتاز) را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد (P<۰/۰۵). در سطح نانوکریستال سیلی‌مارین و مکمل آلی بیوترونیک نیز اختلاف معنی‌دار بود سطح میکس نانواسید توانست بیش‌ترین تاثیر را روی افزایش SOD بگذارد. در سطح اثر متقابل هم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). بهترین تیمار مربوط به تیمار بدون LPS درسطح شاهد بود. در سطح LPS روی میزان GPX (گلوتاتیون پراکسیداز) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. LPS توانست میزان آنزیمGPX را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد (P<۰/۰۵) (جدول ۶).

جدول ۶ : تاثیر استفاده از سطوح مختلف مکمل بیوترونیک و نانو بر پارامترهای ایمنی سلولی در خون

عوامل	سوپر اکسید دسموتاز SOD	گلوتاتیون پراکسیداز GPX
LPS		
بدون LPS	۲۸۸/۰۴ [a]	۱۱۳/۲ [a]
با LPS	۲۷۱/۲۴ [b]	۹۱/۴ [b]
SE	۱/۱۳	۶/۰۴
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲
نانوکریستال سیلی‌مارین، مکمل آلی بیوترونیک		
شاهد	۲۶۳/۹[c]	۹۹/۵۹
مکمل آلی بیوترونیک	۲۷۸/۶ [b]	۱۰۲/۵۵
نانوکریستال سیلی‌مارین	۲۷۹/۹ [b]	۱۰۸/۸۵
میکس مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین	۲۹۶[a]	۹۸/۳۹
SE	۱/۶۱	۸/۵۶
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۸
اثر متقابل	S	NS

[a-d] در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵).

بحث

Gazhi (۲۰۱۰) گزارش کرد وقوع تغییرات نکروز و آپوپتوز و کاهش هپاتوسیت در اطراف ونول مرکزی می‌تواند در اثر مواجه با سموم اتفاق بیافتد چرا که بافت کبد اولین جایگاه برای فعالیت میکروزوم داروها می‌باشد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. در گزارشی از حاجی‌زاده و همکاران (۱۳۹۵) آمده است که در ارزیابی تعداد هپاتوسیت، قطر هپاتوسیت و قطر سینوزوئید در گروه مسموم شده نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است. Parvin و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند در حیوانات مسموم شده اتساع سینوزوئیدهای اطراف ورید مرکزی مشاهده شد و با درمان با سیلی‌مارین پارانشیم نرمال کبدی مشاهده گردید. با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. تغییرات در هیچ‌یک از سطوح روی قطر هسته هپاتوست معنی‌دار نبود. Muriel و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند سیلی‌مارین در درمان و ترمیم هپاتوسیت‌های آسیب دیده کبدی نقش به‌سزایی دارد و با تثبیت غشا و تکثیر مجدد سلول‌های کبدی، کبد را در مقابل اثرات انواع سموم محافظت می‌کندکه با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. در گزارشی از Yeo و Kim (۱۹۹۷) آمده است تغیر شکل هسته هپاتوسیت سلول‌های کبدی اغلب به‌عنوان علائم افزایش فعالیت متابولیکی کبد می‌باشد اما برخی مواقع تغییر در اندازه ممکن است منشا پاتالوژیک نیز داشته باشد با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. patel و همکاران (۲۰۱۱) عنوان کردند نکروز موضعی در بافت کبد می‌تواند مربوط به فعالیت بیش از حد حیوان برای پاک کردن بدنش برای سم‌زدایی باشد و این چنین نتایجی به‌وسیله دانشمندان دیگر هم‌گزارش شده است‌که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بررسی‌های این پژوهش نیز نشان داد در گروه شاهد طناب‌های کبدی به‌صورت نرمال‌در اطراف ورید مرکزی هستند و اتساع سینوزوئید دیده نمی‌شود درحالی‌که تجویز LPS سبب افزایش معنی‌دار قطر هپاتوسیت و اتساع سینوزئید کبد شد ارتشاح گلبول‌های سفید در پارانشیم کبد نیز دیده شد. ضمناً در سطوح LPS سینوزئید کبد مبتلا به پرخونی بوده و ارتشاح جزیی سلول‌های دفاعی لنفوسیت نیز دیده شد. مطالعات Wang و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که سطح آلانین ترانس آمیناز، آسپارتات ترانس آمینازدر سرم خون تیماری که دچار تخریب کبدی شده توسط سیلی‌مارین به‌حالت نرمال برمی‌گردد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Liu و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند، مواجهه با نانوذرات مسموم موجب افزایش معنی‌دار مقادیر آنزیم‌های سرمی ALT، AST و ایجاد آسیب فراوان در عملکرد کبد شوند که با نتایج آزمایش اخیر هم‌خوانی دارد. مصلی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند سیلی‌مارین در کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی در مسمومیت کبدی القاشده نقش موثری‌دارد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Pradeep و همکاران(۲۰۰۷)در آزمایش‌خود ازدو گیاه دارویی استفاده کردند و گزارش کردند این گیاهان دارویی موجب کاهش غلظت آنزیم سرم کبدی در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. موافق با نتایج آزمایش اخیر می‌باشد. افزایش میزان آنزیم‌های کبدی همگام با افزایش LPS می‌تواندبه‌دلیل افزایش‌میزان متابولیسم اسیدهای‌آمینه (تجزیه آن‌ها) و فشار بالای متابولیکی باشد. LPS باعث تنش اکسیداتیو و کاهش سطوح آنتی‌اکسیدانی سلولی شد و در مقابل نانوکریستال سیلی‌مارین با حفظ یکپارچگی غشای‌پلاسمایی، موجب جلوگیری از نشست آنزیم

از میان غشاء به خون شده و در نتیجه با تثبیت غشا موجب حفاظت از آنزیم‌های کبدی و بافت کبد می‌شود. لازم به‌ذکر است میزان تخریب تقسیم میتوز به‌میزان تکمیل فرایند میتوز بستگی دارد چنان‌چه این فرایند به‌طورکامل انجام نشود سیر فرایند ناقص بوده و سرعت تقسیم بالاتر رفته متعاقباً درصد تخریب بالاتر می‌رود. استفاده از مواد رادیو اکتیو و نانو می‌تواند زمان تخریب میتوزی ناقص را کاهش دهد و جلوی تخریب سلول را بگیرد. شاخص تخریب DNA در نتیجه تزریق سم و استرس اکسیداتیو با سطح سرمی دو دی اکسی هشت گرانوزین در ارتباط می‌باشد که با افزایش تخریب DNA سلولی در ارتباط است. شاید بالا رفتن ضایعه تقسیم میتوز به این دلیل باشد پیش‌ساز DNA فقط در اختیار سلول‌های در حال رشد قرار می‌گیرد در ساختمان سلول‌هایی که DNA سنتز نمی‌کنند قرار نمی‌گیرد. Suari (۲۰۱۵) گزارش کرد عملکرد آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین و نانوکریستال آن، جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و مهار ویژه آنزیم‌های تولید کننده گونه‌های فعال اکسیژن‌دار و بهبود انسجام میتوکندری در شرایط استرس می‌باشد. با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Mizutani و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند به محض ورود سم به کبد تعداد لنفوسیت و گلبول سفید تک‌هسته‌ای در بافت افزایش می‌یابد و نوتروفیل‌ها فعال شده پس از هجوم به‌داخل بافت تعداد زیادی سیتوکنین، رادیکال آزاد و آنزیم‌های بافتی آزاد می‌سازند که این امر منجر به جراحات و پرخونی کبد می‌شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

غلامیان(۱۳۹۳) گزارش کرد عواملی مانند استرس و مسمومیت باعث بالا رفتن ترشح هورمون گلوکورتیکوئین شده که موجب افزایش فعالیت‌دوباره‌سازی گلوکز می‌شود.هم‌چنین افزایش فعالیت متابولیسم پروتوئین در بافت موجب افزایش میزان اسیدآمینه و افزایش چرخه بازسازی گلوکز می‌شود و جلوگیری از مصرف گلوکز در خارج از بافت کبد موجب بالا رفتن گلوکز خون می‌شود که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. در این پژوهش LPS باعث افزایش میزان گلوکز شد. عکس‌العمل قابل انتظاری که اثرات ماده سمی را به حداقل می‌رساند. در پژوهشی از Tedesco و همکاران (۲۰۰۶) مشخص شد استفاده از افزودنی‌های گیاهی تاثیری روی غلظت گلوکز ندارد که با نتایج این آزمایش تناقض دارد. مسمومیت میزان هورمون کورتیکترون را بالا برده در پی آن فعالیت اریتروپیین بالا رفته افزایش خارج از محدوده گلبول قرمز را درپی دارد که بالا رفتن میزان هماتوکریت و ویسکوزیته خون را موجب شود. می‌توان عنوان کرد بالا رفتن میزان گلوکز سبب تنش اکسیداتیو می‌شود و یا بالعکس تنش سبب بالا رفتن گلوکز می‌شود. نتایج آزمایشی از Glilliland و همکاران (۱۹۸۴) نشان داد افزودن اسید پروپیونیک سبب کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول سرم خون در جوجه‌های گوشتی می‌شود که احتمالاً با تاثیر در هضم و جذب کلسترول، تبدیل کلسترول به اسید صفراوی پس از دکونژگه شدن مانع از جذب کلسترول می‌شود و باعث کاهش میزان آن در خون می‌شود که با نتایج این آزمایش تطابق دارد. Yeo و Kim (۱۹۹۷) گزارش کردند علت کاهش میزان کلسترول سرم می‌تواند به واسطه رسوب هم‌زمان کلسترول با نمک‌های صفراوی دکنوژگه شده و جذب کلسترول توسط مکمل به‌علت حضور لاکتو باسیلوس (تخمیر اسید آلی موجب تولید لاکتو باسیلوس می‌شود) باشد که سبب کاهش غلظت کلسترول سرم خون جوجه‌های گوشتی می‌شود با نتایج آزمایش انجام شده هم‌خوانی دارد. بالا بودن سطح مالون دی آلدهید با بالا بودن کلسترول در ارتباط است. مطالعات صورت گرفته توسط Roberfroid و Gibson (۲۰۰۸) نشان می‌دهد که کاهش میزان تری گلیسرید سرم خون به‌علت کاهش سنتز VLDL توسط کبد است که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Imaizumi و همکاران (۱۹۹۲) عنوان کردند اسیدهای آلی از طریق افزایش فعالیت آنزیم کلسترول آلفا -۷ هیدروکسیلاز و ترشح اسیدهای صفراوی کلسترول و تری گلیسرید خون را کاهش می‌دهند با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. Abdo (۲۰۰۴) گزارش کرد که چربی خون و کلسترول در جیره‌های اسیدی کاهش یافته و جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره اسیدی سیستم ایمنی و مقاومت بیش‌تری نسبت به بیماری‌ها نشان داده‌اند مطابق با نتایج پژوهش اخیر می‌باشد. کاهش تری‌گلیسرید می‌تواند به‌دلیل تبدیل اسیدهای اولیه به ثانویه باشد که سبب تبدیل کلسترول سرم به نمک صفراوی و دفع آن از طریق دکونژگه شدن می‌باشد. در آزمایش Kreeman و همکاران(۲۰۰۸) مشخص شده است که استفاده از سیلی‌مارین باجیرۀالقاکنندۀهایپرکلسترولمی، تأثیرات ضدکلسترولی دارد و لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) را افزایش و کلسترول کل را کاهش می‌دهد. با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Kavalathy و همکاران (۲۰۰۳) در آزمایشی نشان دادند که غلظتHDL در جیره مکمل‌سازی شده با پروپیونیک تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد با نتایج این آزمایش در تعارض است). فانی مکی و همکاران (۱۳۹۳) بیان داشتند که سیلی‌مارین علاوه بر تثبیت غشا سلول‌های کبدی و ممانعت از پیوند بسیار از سموم به این غشا به‌نظر می‌رسد با حذف رادیکال آزاد و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز موجب اعمال نقش حفاظتی خود شوند که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت. Soto و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند سیلی‌مارین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز را افزایش می‌دهد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Sies (۱۹۹۶) گزارش کرد به‌طور طبیعی در موجودات زنده برای مقابله با رادیکال‌های آزاد، سیستم‌های حفاظتی متعددی شامل سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون

پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، تیوردوکسین و گروه‌های تیول در هر سلولی وجود دارد با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

استفاده از مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین و ترکیب آن‌ها در جیره موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های ایمنی سلولی و کبدی شد. هم‌چنین مصرف جیره‌های حاوی مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین توانست مسمومیت القا شده با LPS را بهبود ببخشد و موجب کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید و LDL در غلظت خون گردید و هم‌چنین فاکتورهای کبدی مانند تعداد هپاتوسیت و قطر سینوزوئید را بهبود بخشید. در مطالعه Hedayati و همکاران (۲۰۱۴) عنوان شد جوجه‌های دریافت‌کننده سم میزان LDL و کلسترول بالاتری دارند که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Kalavathi و همکاران (۲۰۰۳) اذعان داشتند ترکیبات محرک رشد در جیره‌های مختلف LDL تحت تاثیر مکمل قرار می‌گیرد که موافق با نتایج این آزمایش است. در پژوهشی از Emadi و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شد استفاده از افزودنی‌های گیاهی باعث کاهش در سطح کلسترول و LDL در جوجه‌های تحت تیمار قرار گرفته شد که با نتایج این آزمایش موافق است. استفاده از مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین و ترکیب آن‌ها در جیره باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های ایمنی سلولی و کبدی شد. هم‌چنین مصرف جیره حاوی مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین توانست مسمومیت القا شده با LPS را در تمام سطوح بهبود ببخشد و موجب کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید و LDL خون گردد. هم‌چنین فاکتورهای کبدی مانند تعداد هپاتوسیت و قطر هپاتوسیت و قطر سینوزوئید بهبود یافت. توصیه می‌شود در دوره رشد به‌دلیل متابولیسم بالای بدن استفاده از ترکیب مکمل آلی بیوترونیک و نانوکریستال سیلی‌مارین مورد استفاده قرار گیرد. در مراحل پژوهشی پیشرفته‌تر از اشکال مختلف افزودنی تحت تاثیر اشعه ایکس و مادون قرمز در خوراک استفاده شود و هم‌زمان مورفولوژی روده مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه ریاست دانشکده علوم دامی دانشگاه گرگان و استاد راهنمای عزیز جناب آقای دکتر محمود شمس شرق به‌دلیل کمک بی‌دریغ‌شان تقدیر و تشکر می‌گردد. ضمناً نتایج این مطالعه با منافع نویسندگان در تعارض نمی‌باشد.

منابع

۱. **اسدی، ی.؛ ابوطالب، ن. و شریفی، ع.، ۱۳۸۹.** بررسی اثر محافظتی (آنتی‌اکسیدانی) سیلی‌مارین بر میزان مرگ‌سلولی و تولید پراکسیداسیون چربی ناشی از گلوکز بالا در کشت سلول‌های عصبی pc12. مجله دیابت و لیپید ایران. دوره ۹، شماره ۳، صفحات ۲۲۷ تا ۲۷۳.

۲. **تیموری‌زاده، ز.؛ رحیمی، ش.؛ کریمی‌ترشیزی، م.ا. و امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۸.** مقایسه اثر عصاره‌های آویشن، سرخار گل، سیر و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر جمعیت میکروفلور روده و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر. دوره ۸، شماره ۳۲، صفحات ۳۹ تا ۴۸.

۳. **حاجی‌زاده، ا.؛ احمدی‌اوندی، ا.؛ صیرفی، ر. و زارع، م.، ۱۳۹۵.** مقایسه اثرات درمانی سیلیمارین و نانوسیلیمارین بر مسمومیت کبدی القاء شده با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان. دوره ۴، شماره ۲۳، صفحات ۲۳۰ تا ۲۴۸.

۴. **غلامیان، س.، ۱۳۹۳.** بررسی تاثیر غلظت تحت کشنده سم بوتاکلر بر شاخص‌های بیوشیمیای و بافت کبد بچه تاس‌ماهی ایرانی. مجله زیست شناسی دریا. دوره۶، شماره ۲۲، صفحات ۱۲ تا ۱۹.

۵. **مصلی‌نژاد، ب.؛ آویزه، ر.؛ نجف‌زاده‌ورزی، ح. و پورمهدی. م.، ۱۳۹۱.** اثر درمانی و پیشگیری‌کننده سیلی‌مارین در بروز علائم حاد مسمومیت کبدی ناشی از تجویز مبندازول در سگ‌ها. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطل ایران. دوره۲۸، شماره ۴، صفحات ۵۹۴ تا ۶۰۳.

6. **Abdo, Z.M.A., 2004.** Efficacy of acetic acid in improving the utilization of low protein-low energy broiler diets. Journal Poultry Science. Vol. 24, pp: 123-141.
7. **Ahmad, U.; Faiyazuddin, M.; Hussain M.T.; Ahmad, S.M.; Alshammari, T. and Shakeel, F., 2015.** Silymarin: an insight to its formulation and analytical prospects. Acta Physiol Plant. Vol. 37, pp: 184-187.
8. **Emadi, M.; Kermanshahi, H. and Maroufyan, E., 2007.** Effect of varying levels of turmeric rhizome powder on some blood parameters of broiler chickens fed corn-soybean meal based diets. Poultry Science. Vol. 6 pp: 345-348.
9. **Fazelipour, S.; Kiaei, S.B.; Tootian, Z.and Dashtnavard, H., 2008.** Histomorphometric study of hepatocytes of mice after using heroin. Int J Pharmacol. Vol. 4 pp: 496-499.
10. **Ghazi Alabbassi, M., 2010.**Melatonin Ameliorates Hepatic Damage Induced by Cyclophosphamide in Rats. J AlTaqani. Vol. 5, pp: 1-7.
11. **Gibson, G.R. and Roberfroid, B., 1995.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducingthe concept of prebiotics. Journal of Nutrition. Vol. 125, pp: 1401-1412.
12. **Gilliland, S.E.; Staley, T.E. and Bush, L.J., 1984.** Importance of bile tolerance of Lactobacillus acidophilus used as a dietary adjunct. J. Dairy Sci. Vol. 67, pp: 3045-3051.
13. **Hedayati, M.; Manafi, M.; Yari, M. and Mousavipour, S.V., 2014.** Commerical Broilers Exposed to Aflatoxin. Efficacy of a commercial mycotoxin beinder on internal organ weigts. Vol. 5, pp: 351-352.
14. **Imaizumi, K.; Hirata, K.; Yasni, S. and Sugano, M., 1992.** Propionate enhances synthesis and secretion of bile acids in primary cultured rat hepatocytes via succinyl CoA. Bioscience Biotechnology Biochemistry. Vol. 56, pp: 1894-1896.

aflatoxin B_1 in broiler chicks. Poultry Science. Vol. 83, pp: 1839-1843.

32. **Vanosten, M.; Van de Bilt, E.; Van Berkel, T.J. and Kuiper, J., 1998.** New scavenger receptor-like receptorsforthe binding of lipopolysaccharide to liver endothelial and kupffer cells. Infection andImmunity. Vol. 66, pp: 5107-5112.

33. **Vargas-Mendoza, N.; Madrigal-Santillán, E.; Morales González, A.; Esquivel-Soto, J.; EsquivelChirino, C.; García-Luna, Y. and González-Rubio, M., 2014.** Hepatoprotective effect of sylimarin. World Journal of Hepatology. Vol. 6, pp: 144-149.

34. **Wang, M.; Grunge, L. and Tao, J., 2013.** Hepatoprotective properties of silymarin herbal preparation on ethanol-induced liver damage. Fitoterapia. Vol. 67, pp: 167-171.

35. **Xu, Q.; Cao, J.S. and Zhang, X.M., 2002.** Liver infiltrating T lymphocytes cause hepatocyte damage by releasing humoral factors via LFA-1/ICAM-1 interaction in immunological liver injury. Inflamm. Vol. 51, pp: 44-50.

36. **Yeo, J. and Kim, K.I., 1997.** Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poult Sci. Vol. 76, pp: 381-385.

15. **Junghanns, J.U. and Muller, R.H., 2008.** Nanocrystal technology, drug delivery .and clinical applications. Nanomedicine. Vol. 3, pp: 295-309.

16. **Kalavathy, R.; Abdullah, N.; Jalaludin, S. and Ho, Y.W., 2003.** Effects of lactobacillus culture on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. Brit. Poul Sci. Vol. 44, pp: 139-144.

17. **Kreeman, V.; Skottová, N.; Walterová, D.; Ulrichová, J. and Simánek, V., 2008.** Silymarin inhibits the development of diet-induced hypercholesterolemia in rats. PlantaMedia.

18. **Liu, H.; Ma, L.; Zhao, J.; Liu, J.; Yan, J. and Ruan, J., 2009.** Biochemical toxicity of nano-anatase TiO2 particles in mice. Biol Trace Elem Res. Vol. 129, pp:170-180.

19. **Mizutani, A.; Okajima, K.; Uchiba, M.; Isobe, H.; Harada, N. and Mizutani, S., 2003.** Antithrombin reduces ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation through promotion of prostacyclin production. Blood. Vol. 101, pp: 3029-3036.

20. **Muriel, P. and Mourelle, M., 2002.** Prevention by silymarin of membrane alterations in acute ccl4 liver damage. Apple Toxical. Vol. 10, pp: 275-279.

21. **Parveen, R.; Baboota, S.; Ali, J.; Ahuja, A.; Vasudev, S.S. and Ahmad, S., 2011.** Effects of silymarin nanoemulsion against carbon tetrachloride-induced hepatic damage. Arch Pharm Res. Vol. 34, pp: 767-774.

22. **Patel, J.M. and Bahadur, A., 2011.** Histopathological manifestations of sub lethal toxicity of copper ions in Catla catla. American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences. Vol. 4, pp: 1-5.

23. **Pradeep, K.; Mohan, C.V.; Gobianand, K. and Karthikeyan, S., 2007.** Silymarin modulates the oxidant-antioxidant imbalance during diethylnitrosamine -induced oxidative stress in rats. Eur J Pharmacol. Vol. 560, No. 106, pp: 2-3.

24. **Rastogi, R.; Srivastava, A.K. and Rastogi, A.K., 2001.** Long term effect of aflatoxin B1 on lipid peroxidation in rat liver and kidney: Effect of picroliv and silymarin. Phytother. ResAbbriviation. Vol. 15, pp: 307-310.

25. **Saife, Y.M.; Fadly, A.M.; Glission, J.R.; Mcdougald, L.R.; Nolan, L.K. and Swayne, D.E., 2008.** Diseases of Poultry, Blackwell Publishing. Vol. 87, pp: 1197-1214.

26. **Sies, H., 1996**. Antioxidants in Disease, Mechanisms and Therapy. New York: Academic Press.

27. **Slomiany, B.L. and Slomiany, A., 2010.** Ghrelin protection against lipopolysaccharide-induced gastric mucosal cell apoptosis involves constitutive nitric oxide synthase-mediated caspase-3 S-nitrosylation. Mediators Inflamm; Article ID 280464. Epub 2010 Mar 30.

28. **Soto, C.; Recoba, R.; Barron, H.; Alvarez, C. and Favari, L., 2003.** Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology. Vol. 136, pp: 205-212.

29. **Surai, P.F., 2015.** Silymarin as a Natural Antioxidant: An Overview ofthe Current Evidence and Perspectives. Antioxidants. Vol. 4, pp: 204-247.

30. **Suchy, P.; Strakova, E.; Kummer, V.; Herzig, I.; Pisarikova, V. and Blechova R., 2008.** Hepatoprotective Effect of Milk Thistle (*Silybum marianum*) Seed Cakes during the Chicken Broiler Fattening. Acta Veterinaria Brno. Vol. 77, pp: 31-38.

31. **Tedesco, D.; Steidler, S.; Galletti, S.; Tameni, M.; Sonzogni, O. and Ravarotto, L., 2006.** Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of