

اثر بازدارندگی گیاه دارویی عدس الملک (*Securigera securidaca*) بر بروز فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی پرورشی در مناطق مرتفع

• بهنام احمدی پور

استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده ی کشاورزی، دانشگاه

شهرکرد، شهرکرد - ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶-۱۰-۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷-۰۴-۰۳

Email: behnam.ahmadipour@gmail.com



چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تاثیر استفاده از پودر دانه گیاه دارویی عدس الملک بر عملکرد لاشه، فراسنجه‌های سرمی و خونی، سیستم ایمنی و بیان ژن‌های سوپر اکسید دیسموتاز ۱، نیتریک اکسید سنتتاز و اندوتلین-۱ در بطن راست قلب جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در ارتفاع ۲۱۵۰ متری از سطح دریا انجام گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار به مدت ۴۲ روز انجام گردید. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار کنترل که فاقد دانه عدس الملک و تیمارهای دو، سه، چهار و پنج که به ترتیب حاوی یک، دو، سه و چهار گرم در کیلوگرم جیره از این دانه بودند. نتایج نشان داد که افزودن پودر دانه عدس الملک به خوراک، بازده لاشه و ران را افزایش معنی دار و بازده قلب و نسبت بطن راست به کل بطن‌ها را کاهش معنی داری داده است ($p < 0/05$). همچنین در تیمارهای حاوی سه و چهار گرم دانه عدس الملک، میزان پروتئین و اکسید نیتریک سرم افزایش معنی دار و مالون دی الدئید، اسید اوریک و نسبت هتروفیل به لنفوسیت کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل دارد ($p < 0/05$). همچنین سطوح سه و چهار گرم عدس الملک موجب افزایش معنی دار بیان ژن‌های نیتریک اکسید سنتتاز و سوپر اکسید دیسموتاز ۱ و کاهش معنی دار بیان ژن اندوتلین-۱ در بطن راست قلب گردید ($p < 0/05$). نتیجه گیری می شود گیاه دارویی عدس الملک با بهبود شرایط آنتی اکسیدانی، ایمنی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون بر کاهش فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی موثر می باشد.

کلمات کلیدی: فشار خون ریوی، جوجه گوشتی، عدس الملک، آسیب‌های قلب، بیان ژن

- Veterinary Researches & Biological Products No 121 pp: 34-42

The inhibition of *Securigera securidaca* herb on the incidence of pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude

Ahmadipour, B., Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received: 2018-01-15 Accepted: 2018-06-24

Email: behnam.ahmadipour@gmail.com

This experiment was conducted to investigate the effects of different levels of *Securigera securidaca* seed powder on carcass performance, blood and serum parameters, immune system and the expression of superoxide dismutase, nitric oxide synthase and endothelin-1 genes in the right ventricle of broiler chicks grown at a height of 2150 m above sea level. The experiment was conducted in a completely randomized design with five treatments and four replications for 42 days. The experimental treatments included control group (without *Securigera securidaca* seed powder) and four levels of *Securigera securidaca* seed. The results showed that the addition of *Securigera securidaca* seed powder to feed increased the carcass and thigh efficiency and reduced heart efficiency and RV/TV ratio. ($P < 0.05$). In treatments containing 3 or 4 grams of *Securigera securidaca*, the total protein and nitric oxide levels of serum were significantly increased, and malondialdehyde, urea and heterophile to lymphocyte ratio decreased significantly compared to the control group ($P < 0.05$). Also, the effect of this herbal drug on the expression of right ventricle genes of the heart showed that 3 and 4 g levels of *Securigera securidaca* in the diet significantly increased the expression of nitric oxide synthase and superoxide dismutase genes, and a significant reduction of endothelin-1 gene expression in this tissue ($P < 0.05$). The results of this study showed that the using of 3 or 4 (g/kg) of medicinal plant *Securigera securidaca* seed is effective in reducing the pulmonary hypertension in broilers by improving the antioxidant status, immunity and biochemical parameters of blood.

Keywords: Pulmonary hypertension, Broiler chicken, *Securigera securidaca*, Heart failure, gene expression

مقدمه

بهبود ژن‌های مرغوب در دهه‌های اخیر باعث رشد سریع جوجه‌های گوشتی گردیده است. با این وجود، رشد سریع عضلات خصوصاً عضله سینه با رشد اندام‌هایی نظیر قلب و ریه متناسب نمی‌باشد (۱۲). در نتیجه، عدم بالانس بین اندام‌های مصرف کننده اکسیژن (عضلات) و اندام‌های تامین کننده اکسیژن (قلب و ریه) موجب پدیدار شدن عارضه فشار خون ریوی در طیور می‌گردد. بروز سندرم فشار خون ریوی (به عنوان آسیت در فرم بالینی) در جوجه‌های گوشتی که در مناطق مرتفع از سطح دریا پرورش داده می‌شوند به دلیل کاهش فشار اکسیژن هوا شیوع بیشتری دارد (۱۶). بسیاری از مطالعات مشخص نموده است که عوامل مختلفی مانند ارتفاع، سرما، روشنایی، کیفیت هوا، تهویه، جیره‌های حاوی انرژی بالا و پروتئین جیره، باعث افزایش فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی گردیده است (۵) و علائمی مانند افزایش وزن و حجم قلب و ریه، افزایش خون در سیاهرگ‌ها و قلب، هایپرتروفی بطن راست، نارسایی دریچه سه‌لته قلب، سست و آویخته شدن قلب، سیروز کبد و تراوش و تجمع مایع آسیتی در حفره شکمی را در پی دارد (۲۴). آسیب شناسی فشار خون ریوی یک فرایند پیچیده و چند فاکتوری

است که در آن اثرات متداول انقباض عروق ریوی، تخریب عروق و ترومبوز که موجب افزایش مقاومت عروقی ریه‌ها می‌گردند، مشاهده می‌شود. پاسخ‌های فیزیولوژیکی به شرایط کمبود اکسیژن پایدار محیط که ناشی از ارتفاع زیاد می‌باشد، تولید بیش از حد رادیکال‌های فعال اکسیژن Reactive oxygen species (ROS) است که دارای قدرت واکنش پذیری و تخریب بالایی می‌باشند (۱۶، ۲۴). نقش مهم رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) در آسیب‌شناسی سندرم فشار خون ریوی در مطالعات متعدد نشان داده شده است (۱۶). با کاهش آنتی‌اکسیدان‌های بدن، تنش‌های اکسیداتیو با شدت بیشتری رخ می‌دهد و با پیشرفت فشار خون ریوی مقدار آنتی‌اکسیدان‌های بدن جوجه‌های گوشتی تغییر نموده و میزان رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده افزایش تنش‌های اکسیداتیو در بدن پرنده است (۱۴). ترکیبات آنتی‌اکسیدان به دو دسته با منشأ داخلی و خارجی طبقه‌بندی می‌گردند که هر دو دسته موجب حذف و مهار تشکیل رادیکال‌های آزاد در بدن می‌گردند (۲۳). آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ داخلی عبارتند از گلووتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز و آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ خارجی شامل ترکیبات پلی فنلی، اسید اسکوربیک، لیپوئیک اسید، کاروتنوئیدها و...

جدول ۱- ترکیب موادخوراکی و شیمیایی جیره‌های غذایی گروه کنترل در دوره آغازین و رشد

مواد خوراکی (درصد)	جیره آغازین (۱-۲۱ روزگی)	جیره رشد (۲۲-۴۲ روزگی)
ذرت	۵۱/۸	۵۸/۴
کنجاله سویا (۴۴ درصد CP)	۳۹/۶	۳۳/۵
روغن سویا	۴	۳/۹
دی کلسیم فسفات	۱/۷	۱/۳
پودر صدف	۱/۵	۱/۵
نمک	۰/۳	۰/۳
DL-متیونین	۰/۱	۰/۱
L-لیزین	-	-
مکمل مواد معدنی ^۱	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی ^۲	۰/۲۵	۰/۲۵
پودر دانه عدس الملک*	-	-
ترکیب مواد مغذی محاسبه شده		
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)	۳۰۰۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۵	۱۹/۵
متیونین (درصد)	۰/۵	۰/۴
متیونین + سیستین (درصد)	۰/۹	۰/۷۳
لیزین (درصد)	۱/۲۶	۱/۰۳
کلسیم	۰/۹۵	۰/۸۸
فسفر قابل دسترس	۰/۴۳	۰/۳۵
سدیم	۰/۱۸	۰/۱۵
کلر	۰/۲۷	۰/۲۹
یتاسیم	۰/۹۱	۰/۹۲
Na+K-CL(mE/kg)	۲۳۵	۲۳۶

^۱ مکمل مورد استفاده در ترکیب جیره ها در هر کیلوگرم، دارای مواد زیر بوده است: ویتامین‌ها شامل: ۴۴۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین آ، ۷۲۰۰ واحد بین المللی ویتامین د-۳، ۴۴۰ می‌لی گرم اوتیامین‌نای، ۴۰ می‌لی گرم ویتامین ک، ۷۰ می‌لی گرم کوپالامین، ۶۵ می‌لی گرم تیامین، ۳۲۰ می‌لی گرم ریپوفلاوین، ۲۹۰ می‌لی گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۲۰ می‌لی گرم نیاسین، ۶۵ می‌لی گرم پیریدوکسین، ۲۲ می‌لی گرم بیوتین و ۲۷۰ می‌لی گرم کولین کلراید.

^۲ هر کیلوگرم از مکمل معدنی شامل: ۹۵۰ می‌لی گرم منگنز، ۴۵۰ می‌لی گرم روی، ۳۲۰ می‌لی گرم آهن، ۱۰۰ می‌لی گرم مس، ۶۵ می‌لی گرم سلنیوم، ۶۸ می‌لی گرم ید و ۴۵ می‌لی گرم کبالت

* در تیمارهای آزمایشی ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب مقادیر ۱، ۲، ۳ و ۴ گرم پودر دانه عدس الملک به جیره پایه اضافه گردید.

توسط انجمن ملی تحقیقات آمریکا ۱۹۹۴ با کمک نرم افزار UFFDA تنظیم شده بودند، برای دو دوره آغازین (۲۱-۱ روزگی) و رشد (۴۲-۲۲ روزگی) تهیه (جدول ۱) و به طور آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفتند. در طول دوره پرورش، از یک برنامه نوری ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی استفاده شد. دمای سالن در هفته اول، دوم و سوم به ترتیب ۳۲، ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد و از هفته چهارم تا پایان دوره پرورش، ۱۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید (۲). تیمارهای آزمایشی شامل جیره کنترل (بدون دانه عدس الملک) و تیمارهای دو، سه، چهار و پنج به ترتیب حاوی مقادیر یک، دو، سه و چهارگرم در کیلوگرم پودر دانه عدس الملک در جیره بودند. دانه عدس الملک از فروشگاه داروهای گیاهی خریداری و توسط کارشناس هرباریوم دانشگاه شهرکرد شناسایی و تأیید و توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل و به جیره‌ها اضافه گردید. در سن ۴۲ روزگی، با توجه به میانگین وزنی تکرارها دو پرنده از هر تکرار (هر تیمار هشت قطعه جوجه) خون‌گیری و سپس کشتار گردیدند. نمونه‌های خون (سه می‌لی لیتر) از سیاهرگ بال هر پرنده گرفته شد و سرم تهیه گردید. غلظت مالون دی آلدئید (MDA) سرم بر اساس روش (۱۱) و غلظت نیتریک اکسید سرم به روش (۲) اندازه‌گیری گردید. همچنین، غلظت پروتئین و اسید اوریک سرم با دستگاه اتوانالایزر (BT ۳۰۰۰) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. همچنین اجزای لاشه شامل سینه، ران، قلب، طحال بورس فابریوس با ترازوی دیجیتال توزین و بازده آنها نسبت به وزن زنده محاسبه گردید. به منظور تعیین وزن قلب و بطن‌های قلبی برش‌های لازم انجام گرفت و نسبت وزن بطن راست به وزن بطن‌ها با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین گردید. نسبت وزن بطن راست به وزن بطن‌ها (RV) (۱۵). برای تعیین هتروفیل و لنفوسیت، یک قطره خون بر روی لام آزمایشگاهی پخش شد با محلول متانول فیکس و با رنگ گیسما نمونه‌ها رنگ آمیزی و با میکروسکوب با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ شمارش انجام گردید (۲). جهت تعیین نسبی بیان ژن‌های نیتریک اکسید سنتتاز (NOS)، سوپر اکسید دیسموتاز ۱ (SOD1) و اندوتلین ۱ (ET-1) در بین تیمارهای آزمایشی قطعاتی از بطن راست جوجه‌های کشتار شده جدا و بلافاصله نمونه‌ها در تانک حاوی ازت مایع ریخته شد و تا زمان استخراج RNA در فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای استخراج RNA به ۱۰۰ mg از بافت خرد شده بطن راست، محلول دناورکننده RNase PAUS (متعلق به شرکت سیناژن) اضافه و بعد از افزودن کلروفورم و اتانول (۷۵ درصد) مرحله استخراج RNA به پایان رسید. برای تولید cDNA از کیت مخصوص PrimeScript™ RT Reagent Kit محصولات شرکت بیوتکنولوژی تاکارا، ژاپن، استفاده گردید (۱۱). ژن‌های NOS، SOD1 و ET-1 به عنوان ژن هدف و β -actin به عنوان ژن مرجع انتخاب و پرایمرهای مورد نظر با استفاده از نرم افزار Primer-Blast قابل دسترس در شبکه اینترنت (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) (blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) طراحی گردید. جدول ۲-

که از منابع غذایی حاصل می‌شوند. در سال‌های اخیر، آنتی‌اکسیدان‌های حاصل از منابع طبیعی که عمدتاً از گیاهان دارویی حاصل می‌شوند به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند تا از آسیب‌های اکسیداتیو جلوگیری نمایند (۲۱).

گیاهان دارویی منابع بسیار خوبی از ترکیبات فعال مانند فلاونوئیدها، پلی فنل‌ها، تانن‌ها و آلکالوئیدها هستند که می‌توانند فعالیت‌های دارویی خود را در درمان بیماری‌های مختلف انسان و حیوانات نشان دهند. گیاه عدس الملک (*Securigera securidaca* L.) متعلق به خانواده نخود (Leguminosae) گیاهی دارویی است که کاربردهای گوناگونی دارد. محل رویش این گیاه در اروپا، استرالیا، غرب آسیا و ایران می‌باشد که به صورت خودرو رشد می‌کند. این گیاه در قسمت‌های جنوبی ایران از جمله استان‌های خوزستان، فارس و بوشهر رشد می‌کند و در طب سنتی به عنوان پایین‌آورنده قند خون مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه در فارسی تخم شیرازی و گنده تلخه نامیده می‌شود. از آزمایش‌های فیتوشیمی‌ایی انجام شده مشخص شده که ماده‌ی مؤثره‌ی گیاه در دانه‌ی آن وجود دارد (۹). مهم‌ترین ترکیباتی که در دانه‌ی گیاه گزارش شده‌اند شامل، استروئیدها، تری ترپنوئیدهای نوع ساپونین، کاردنولیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی است (۱۸). تحقیقات ابراهیم و همکاران (۱۳) نشان داد که عصاره الکی گیاه عدس‌الملک حاوی ۸۲/۳ میلی‌گرم در گرم ترکیبات پلی فنلی و ۴۸/۸ میلی‌گرم در گرم ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد و در شناسایی این ترکیبات با استفاده از دستگاه HPLC مشخص گردید که ترکیبات فنلی از ۸ نوع و فلاونوئیدی از ۳۹ گونه متفاوت ترکیبات فلاوونی تشکیل شده‌اند. همچنین احمدی و همکاران (۱) مشخص نمودند که حدود ۵۰ درصد از ترکیبات مؤثر موجود در عدس‌الملک ترکیبات فنلی می‌باشد. این ترکیبات در گیاهان دارویی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و گشادکنندگی عروق موجب کاهش عارضه فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی می‌گردد (۳). طب مدرن امروزی نیز نشان داده است که عصاره دانه گیاه عدس الملک دارای اثرات درمانی مختلفی از جمله: کاهش فشارخون، کاهش قند خون، کاهش چربی خون، اثر مداخله‌ای بر حرکات منظم بدن مثل فعالیت قلب، اثر کاهنده پتاسیم خون، اثرات محافظتی و ضدترشعی مخاط معده، اثرات کاهندگی فاکتورهای اکسیداتیو مثل مالون دی آلدئید و بهبود عملکرد وابسته به اندوتلیوم عروق، می‌باشد (۱۹). به نظر می‌رسد که مطالعه‌ای در خصوص تأثیر این دانه گیاهی بر روی فشار خون ریوی جوجه‌های گوشتی انجام نگرفته است. از این رو مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف دانه عدس‌الملک بر شاخص‌های مرتبط با آسیت در جوجه‌های گوشتی که در شرایط ارتفاع بالا از سطح دریا پرورش داده شده‌اند، طراحی و اجرا گردیده است.

مواد و روش کار

این تحقیق در شهرکرد با ارتفاعی حدود ۲۱۵۰ متر از سطح دریا اجرا شد. تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در ۲۰ واحد آزمایشی (۱۰ جوجه یک روزه در هر پن) با میانگین وزنی هر پن 485 ± 10 گرم به صورت تصادفی پخش شدند و جیره‌های آزمایشی را دریافت کردند. جیره‌های حاوی ذرت و سویا که مطابق با نیازهای تغذیه‌ای توصیه شده

تأثیر سطوح مختلف پودر دانه عدس الملک بر غلظت فراسنجه‌های سرم (جدول ۴) نشان می‌دهد، تیمارهای که دو تا چهار گرم در کیلوگرم جیره، دانه عدس الملک مصرف نموده‌اند غلظت هماتوکریت، اسید اوریک و مالون دی‌الدئید کاهش و غلظت اکسید نیتریک و پروتئین کل سرم افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) را نسبت به تیمار کنترل و یک گرم بوجود آورده است و بهترین نتایج مربوط به تیمار سه گرم در کیلوگرم جیره است.

نتایج نشان داد که (جدول ۵) مکمل نمودن جیره پایه با سطوح دو تا چهار گرم پودر دانه عدس الملک کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) را در نسبت وزن بطن راست به وزن بطن‌ها (شاخص فشار خون ریوی) و همچنین تلفات ناشی از این عارضه در کل دوره پرورش در جوجه‌های گوشتی بوجود آورده است بطوری که بهترین نتایج مربوط به تیمار سه گرم و پایین‌ترین مربوط به تیمار کنترل است.

پودر دانه عدس الملک در سطح سه و چهار گرم در کیلوگرم جیره (جدول ۶) سبب کاهش معنی‌داری در نسبت هتروفیل به لنفوسیت در مقایسه با تیمار یک گرم و کنترل گردید اما این سطوح در وزن طحال و وزن بورس فابرسیوس افزایش معنی‌داری رانسبت به تیمار کنترل ایجاد نمودند ($p < 0/05$).

جدول ۷ اثر سطوح پودر دانه عدس الملک بر روی بیان ژن‌های نیتریک

توالی پرایمرهای مورد استفاده را نشان می‌دهد. نمونه‌ها جهت انجام Real-time PCR آماده شدند. برای هر نمونه $10 \mu\text{L}$ رنگ اینترکاله Sybr-Green شرکت تاکارا، ژاپن، $1 \mu\text{L}$ پرایمر و SOD1، NOS، β -actin و ET1 و $1 \mu\text{L}$ از cDNA استخراج شده اضافه و حجم مخلوط را با آب مقطر (یونیزه) به $25 \mu\text{L}$ رسانده و در دستگاه Thermocyclor (Rotor Gene Q 6000, Qiagen, USA) قرار داده شد (۲). برای بدست آوردن بازده (efficiency) هر یک از نمونه‌ها از برنامه کامپیوتری Line Reg PCR استفاده شد و از روش فافل (۸) جهت ارزیابی بیان ژن در تیمارهای آزمایشی استفاده گردید. آنالیز داده‌ها در یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از روش GLM توسط نرم‌افزار آماری SAS (۲۰) انجام گردید. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری $0/05$ استفاده شد.

نتایج

تأثیر سطوح مختلف عدس الملک بر بازده لاشه و اجزای لاشه نسبت به وزن زنده در ۴۲ روزگی (جدول ۳) نشان می‌دهد که استفاده از جیره حاوی ۳ و ۴ گرم عدس الملک افزایش معنی‌داری در بازدهی لاشه و ران و کاهش معنی‌داری در بازدهی قلب ($p < 0/05$) نسبت به سایر تیمارها بوجود می‌آورد اما بر بازدهی سینه تأثیر معنی‌داری ندارد.

جدول ۲- ترتیب و سایر مشخصات پرایمرهای به کار گرفته شده در واکنش PCR

نام ژن	کد شناسایی	ترتیب پرایمر	طول قطعه (جفت باز)
بتا اکتین (β -Actin)	NM_205518.1	F:5'-AGCGAACGCCCCAAAGTTCT-3' R:5'-AGCTGGGCTGTTGCCTCACA-3'	139
نیتریک اکسید سنتتاز (iNOS)	NM_205518.1	F:5'-AGGCCAAACATCCTGGAGGTC-3 R:5'-TCATAGAGACGCTGCTGCCAG-3'	371
سوپر اکسید دیسموناز (SOD)	NM_205064.1	F:5CACTGCATCATTGGCCGTACCA-3' R:5GCTTGACACGGAAGAGCAAGT-3'	223
اندوتلین ^۱ (ET-1)	XM418943	F5'-GGACGAGGAGTGCCTGTATT-3' R5'-GCT CCAGCAAGCATCTCTG-3'	141

Abbreviations: NOS, nitric oxide synthase; SOD1, superoxide dismutase 1; ET-1, Endothelin-1

فشار اکسیژن و سرما به دلیل انقباض عروق و مقاومت عروقی در برابر جریان خون ریوی، فشار وارده به بطن راست جهت افزایش برون ده قلب بالا رفته و در نتیجه منجر به رشد سریع بطن راست و افزایش وزن بطن راست و کل قلب می‌گردد (۲۵) کاهش وزن قلب مربوط به اثرات ترکیبات فنی و غیرفنی موجود در دانه عدس‌الملک است. این ترکیبات با داشتن خصوصیت بیولوژیکی مفید از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثرات مفید خود را نشان می‌دهند (۲۲). با بررسی اثرات این دانه در موش‌های آزمایشگاهی، خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضددیابتی و کاهش‌دهندگی چربی سرم تأیید گردیده است (۹ و ۱۳). افزایش غلظت نیتریک اکساید به دلیل تغذیه دانه عدس‌الملک است. زیرا بیان ژن‌های نیتریک اکساید سنتتاز را افزایش داده است و ترکیبات پلی‌فنی موجود در دانه با حذف یون‌های سوپر اکسید مانع از اثر این رادیکال بر اکسید نیتریک و تبدیل آن به پروکسی‌نیترات که خود یک رادیکال آزاد است، می‌گردد (۱۹). اکسید نیتریک به عنوان یک گشادکننده عروق سهم بسزایی در تسهیل جریان خون در عروق ریوی دارد و در جوجه‌های درگیر با فشار خون ریوی غلظت آن کاهش می‌یابد (۲ و ۲۴). از طرفی اندوتلین-۱ ترکیبی است که از سلول‌های غشاء پوششی عروق ترشح و با اتصال به رسپتور A (ETAR) (Endothelin-1 binds to type A receptors) سلول‌های صاف عضلانی عروق موجب انقباض عروق خونی می‌گردند و بدینوسیله فشار بر قلب را افزایش داده و موجب هایپرتروفی بطن راست و قلب پرنده می‌گردد (۱۲). اما تیمارهایی که گیاه دارویی عدس‌الملک را دریافت

اکسید سنتتاز (NOS)، سوپر اکسید دیسموتاز ۱ (SOD1) و اندوتلین ۱ (ET-1) را در بطن راست قلب جوجه‌های مورد آزمایش نشان می‌دهد. میزان mRNA ژن‌های NOS و SOD1 در تیمارهایی که با سه و چهار گرم دانه عدس‌الملک تغذیه شده بودند، افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) و میزان mRNA مربوط به ET-1 کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) را در مقایسه با سایر تیمارها نشان می‌دهد اما بین تیمارهای یک و دو گرم و تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

بحث

در جوجه‌های گوشتی که در شرایط سرما و ارتفاع بالا از سطح دریا پرورش داده می‌شوند به دلیل کاهش فشار اکسیژن هوا، رشد بدن کمتر و همچنین به دلیل نقص در تامین اکسیژن مورد نیاز جهت اندام‌های ماهیچه‌ای بدن از جمله سینه و ران رشد آنها کمتر می‌باشد (۲). به نظر می‌رسد که دانه گیاه دارویی عدس‌الملک موجب بهبود بازده لاشه و ران نسبت به گروه کنترل گردیده که دلالت بر سلامت و رشد بهتر اندام‌های عضلانی بدن دارد. نسبت RV/TV شاخصی برای تعیین فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی می‌باشد. چنانچه این نسبت از ۲۵ درصد بالاتر باشد، نشان‌دهنده این است که جوجه‌های گوشتی درگیر عارضه فشار خون ریوی می‌باشند (۱۵) میانگین داده‌های این آزمایش نشان می‌دهد که نسبت RV/TV در گروه کنترل بالاتر از ۰/۲۵ می‌باشد و به نحوی درگیری پرندگان با فشار خون ریوی را نشان می‌دهد. در شرایط کمبود

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف عدس‌الملک بر بازده لاشه و اجزای لاشه نسبت به وزن زنده در ۴۲ روزگی

سطوح عدس‌الملک در جیره (کیلوگرم/گرم)						
صفات مورد اندازه‌گیری	کنترل (۰)	۱	۲	۳	۴	خطای استاندارد میانگین‌ها
بازده لاشه (درصد)	۶۸/۲ ^b	۶۸/۷ ^b	۶۹/۹ ^{ab}	۷۱/۴ ^a	۷۰/۹ ^a	۰/۵۴
بازده سینه (درصد)	۲۴/۶	۲۵	۲۵/۴	۲۶	۲۴/۶	۰/۵۵
بازده ران (درصد)	۲۰/۹ ^b	۲۱/۷ ^{ab}	۲۱/۵ ^{ab}	۲۲/۳ ^a	۲۱/۶ ^{ab}	۰/۴۲
بازده قلب (درصد)	۰/۶۵ ^a	۰/۶۴ ^{ab}	۰/۶ ^{bc}	۰/۵۷ ^c	۰/۶ ^{bc}	۰/۰۱

^a تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها را در هر ردیف نمایش می‌دهد ($P < 0/05$).

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف عدس‌الملک بر فراسنجه‌های سرمی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

سطوح عدس‌الملک در جیره (کیلوگرم/گرم)						
صفات مورد اندازه‌گیری	کنترل (۰)	۱	۲	۳	۴	خطای استاندارد میانگین‌ها
پروتئین سرم (g/dL)	۳/۲۷ ^c	۳/۳۳ ^c	۳/۵۶ ^{bc}	۴/۲۲ ^a	۴/۰۱ ^{ab}	۰/۱۹
اسید اوریک سرم (mg/dl)	۶/۱۵ ^a	۵/۹۵ ^a	۵/۳ ^b	۴/۶۲ ^c	۴/۷۷ ^c	۰/۱۴
مالون دی‌الدئید (μmol/L)	۳/۷۲ ^a	۳/۲۴ ^{ab}	۲/۵۲ ^{bc}	۲/۱۶ ^c	۲/۱۴ ^c	۰/۲۷
اکسید نیتریک (μmol/L)	۹/۹۱ ^b	۱۱/۴ ^b	۱۴/۶۸ ^a	۱۶/۲۹ ^a	۱۶/۸۴ ^a	۱/۰۷

^a تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها را در هر ردیف نمایش می‌دهد ($P < 0/05$).

جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف عدس الملک بر نسبت وزن بطن راسته و وزن بطن‌ها و تلفات ناشی از از فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی

سطوح عدس الملک کوهی در جیره (درصد)						
خطای استاندارد میانگین ها	۴	۳	۲	۱	کنترل (۰)	صفات مورد اندازه گیری
۰/۰۱۴	۰/۲۲b	۰/۲۲b	۰/۲۳b	۰/۲۷a	۰/۲۹a	نسبت وزن بطن راست به وزن بطن ها
۱/۹۳	۱۳/۴b	۱۳/۴b	۱۷/۳ab	۱۹/۲ab	۲۱/۱a	تلفات ناشی از فشار خون ریوی (درصد)

^a تفاوت معنی دار بین می‌انگین ها را در هر ردیف نمایش می دهد ($P < 0/05$).

جدول ۶- تأثیر سطوح مختلف عدس الملک بر پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی

سطوح عدس الملک در جیره (درصد)						
خطای استاندارد میانگین ها	۴	۳	۲	۱	کنترل (۰)	صفات مورد اندازه گیری
۰/۰۲۷	۰/۵۲bc	۰/۵۰c	۰/۵۶abc	۰/۵۹ab	۰/۶۳a	نسبت هتروفیل به لنفوسیت
۰/۰۰۸	۰/۱۲۷a	۰/۱۱۷ ab	۰/۰۹۶ bc	۰/۰۸۱ c	۰/۰۸۶ c	وزن طحال به وزن زنده (درصد)
۰/۰۰۷	۰/۱۴۳ab	۰/۱۴۵b	۰/۱۳۳abc	۰/۱۱۵c	۰/۱۱۵c	وزن بورس به وزن زنده (درصد)

^a تفاوت معنی دار بین می‌انگین ها را در هر ردیف نمایش می دهد ($P < 0/05$).

جدول ۷- سطوح مختلف دانه عدس الملک بر روی بیان ژن‌های سوپر اکسید دیسموتاز ۱، نیتریک اکساید سنتتاز و اندوتلین-۱ در بافت بطن راست جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

سطوح گزنه در جیره (درصد)						
خطای استاندارد میانگین ها	۴	۳	۲	۱	کنترل (۰)	نام ژن
۰/۰۰۴	۰/۰۲۷۳a	۰/۰۲۵۴a	۰/۰۰۲۱b	۰/۰۰۱۲b	۰/۰۰۱b	سوپر اکسید دیسموتاز ۱
۰/۰۰۳	۰/۱۱۱۶a	۰/۱۱۲۱a	۰/۰۶۸۹ ab	۰/۰۱۶۸ab	۰/۰۰۲۹b	نیتریک اکساید سنتتاز
۰/۰۰۲	۰/۰۰۱۳c	۰/۰۰۰۵c	۰/۰۰۵۴ab	۰/۰۰۹۷ab	۰/۰۱۱۶a	اندوتلین ۱

^a تفاوت معنی دار بین می‌انگین ها را در هر ردیف نمایش می دهد ($P < 0/05$).

می‌شود (۱۵).

مشخص شده است که افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند با کاهش تنش‌های اکسیداتیو در بدن از افزایش هتروپیل به لنفوسیت به عنوان سلول‌های فاگوسیت‌کننده قوی که غلظت آن‌ها در فرایندهای التهابی، تنش و عفونت افزایش می‌یابد، جلوگیری کند (۱۰). افزایش می‌انگین وزنی طحال به منزله توان بالاتر پرنده جهت مقاومت و مبارزه با بیماری‌ها و تنش‌ها است (۳). از طرفی مطالعات نشان داد که عصاره گیاهی به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی به طور مستقیم مانع از رشد و تکثیر می‌کروپ‌ها و موجب از بین رفتن می‌کروپ‌های مضر و بیماری‌زا در بدن و افزایش سیستم ایمنی بدن می‌گردد و از طرفی بصورت غیرمستقیم با حفظ سلامت غشای اپیتلیومی از ورود می‌کروپ‌ها جلوگیری می‌نمایند. لذا از این طریق به سیستم ایمنی بدن کمک می‌کنند (۲). افزودن ترکیبات فنلی به جیره سبب افزایش لنفوسیت‌ها در جوجه‌های گوشتی می‌گردد و با توجه به اینکه لنفوسیت‌ها نسبت به تنش‌های اکسیداتیو حساسیت شدیدی نشان می‌دهند، با نقش آنتی‌اکسیدانی خود موجب تقویت سیستم ایمنی می‌شوند (۴). بر اساس تحقیقاتی که در شرایط محیطی شبیه به آزمایش کنونی بر روی جوجه‌های گوشتی انجام گرفته بود، نشان می‌دهد که پودر برگ کرفس کوهی (۲) و عصاره گیاه کراناگوس (۳) نسبت هتروپیل به لنفوسیت را کاهش و وزن طحال و بورس را نسبت به گروه کنترل افزایش داده و فراسنجه‌های خونی و عملکردی در جوجه‌های گوشتی درگیر با فشار خون ریوی بهبود پیدا نموده بودند که با نتایج آزمایش حاضر مشابهت دارند. افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و کاهش نسبت هتروپیل به لنفوسیت‌ها شاخص مهمی در ارزیابی سطح ایمنی بدن محسوب می‌شود و نشان می‌دهد که سطح ایمنی بدن افزایش و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا افزایش یافته است (۲، ۳ و ۱۵). به نظر می‌رسد کاهش معنی‌دار تلفات در گروه‌های دریافت کننده پودر عدس الملک در سطوح سه و چهار گرم در کیلوگرم جیره به دلیل وجود ترکیبات فنلی و غیر فنلی و نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها باشد که با تاثیر بر عوامل متفاوت اعم از کاهش مالون دی‌الدهید و تقویت سیستم ایمنی و تاثیر بر سیستم قلبی و عروقی موجب کاهش مرگ و میر ناشی از فشار خون ریوی و سندرم آسیب را موجب می‌گردد.

تشکر و سپاسگزاری

هزینه و امکانات مورد استفاده در این طرح از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه شهرکرد تأمین شده است که بدینوسیله نویسنده مراتب قدردانی خود را ابراز می‌دارد.

منابع مورد استفاده

- 1- Ahmadi, A., M. Khalili, S. Margedari and B. Nahri-Niknafs. 2016. antidiabetic and antilipidemic effects of some polar and nonpolar extracts of *Securigera securidaca* flowers. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 49:753-759.
- 2- Ahmadi, B., H. Hassanpour, E. Asadi, F. Khajali, F. Rafiei and F. Khajali. 2015. *Kelussia odoratissima* Mozzaf- A promising medicinal herb to prevent pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude. *Journal of Ethnopharmacology*,

کردند، بیان ژن اندوتلین-۱ به شدت کاهش یافته است که به نظر می‌رسد که ترکیبات موثر در این گیاه میزان بیان ژن اندوتلین-۱ را کاهش داده است. غلظت مالون دی‌الدهید در تیمارهایی که سه و چهار گرم در کیلوگرم جیره دانه عدس‌الملک دریافت کردند کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. مالون دی‌الدهید ترکیب حاصل از پراکسید شدن لیپیدها در بدن می‌باشد و شاخصی از تنش‌های اکسیداتیو است که در جوجه‌هایی درگیر با فشار خون ریوی افزایش می‌یابد (۲۵). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در دانه عدس‌الملک با افزایش بیان ژن‌های سوپر اکسید دیسموتاز موجب افزایش آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز بدن گردیده و در نتیجه از پراکسیداسیون لیپیدها ممانعت نموده و موجب حفاظت بافت‌های بدن در برابر تنش‌های اکسیداتیو و کاهش تولید مالون دی‌الدهید می‌شود (۲). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که در سطوح سه و چهار گرم عدس‌الملک به دلیل اثر محافظت‌کنندگی ترکیبات پلی‌فنلی، میزان نشت پلاسما کاهش یافته و در نتیجه از کاهش پروتئین سرم ممانعت بعمل آمده است و میزان دفع ازت بدن افزایش می‌یابد. مشخص است که دفاع آنتی‌اکسیدانی برای جوجه‌های گوشتی بسیار مهم است. تنش‌های اکسیداتیو حالتی از عدم تعادل بین میزان آنتی‌اکسیدان‌های درون بدنی (با منشا بدنی، نه خوراکی) و میزان اکسیژن و نیتروژن فعال (Reactive oxygen/nitrogen species) (RONS) است که در شرایط استرس اکسیداتیو، میزان این ترکیبات بر آنتی‌اکسیدان‌های درونی فزونی پیدا می‌نماید (۷). در واقع اشکال رادیکالی اتم‌های اکسیژن و نیتروژن (RONS) می‌توانند بطور آنزیمی توسط تعدادی از آنزیم‌های مولد ترکیبات رادیکالی نظیر زانتین اکسیداز (NADPH)+XO اکسیداز و لیپواکسیژناز (LOXS) تولید شود و در ادامه با عمل کاتالیک ناپایدار یون‌های فلزی آهن و مس تولید آنها تشدید شود. فلاونوئیدها می‌توانند از طریق مکانیزم‌های ذیل مانع تنش اکسیداتیو شوند. شکستن مستقیم رادیکال‌های آزاد توسط گروه‌های هیدروکسیل (OH) موجود بر روی حلقه‌های فلاونوئیدی، ایجاد کلیت بین یون‌های فلزی و گروه‌های عاملی هیدروکسیل فلاونوئیدها و ممانعت از ازدیاد رادیکال‌های آزاد، جلوگیری از عمل آنزیم‌های تولید کننده ترکیبات ROS و به طور ویژه آنزیم‌های زانتین اکسیداز (XO)، نیکوتین آمید آدنین دی‌نیکلوئید فسفات اکسیداز (NADPH) و لیپواکسیژناز (LOXS) (۱۷). علاوه بر فلاونوئیدها، استرول‌های موجود در دانه عدس‌الملک از مسیر رسپتورهای استروژنی وابسته به فسفو اینوزیتول ۳ کیناز (PI3-kinase) موجب فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۶). همزمان با کاهش تنش‌های اکسیداتیو در تیمارهایی که سه و چهار گرم در کیلوگرم جیره دانه عدس‌الملک دریافت کرده بودند، کاهش معنی‌داری در نسبت هتروپیل به لنفوسیت مشاهده گردید و وزن طحال و بورس افزایش یافت. نسبت هتروپیل به لنفوسیت نشان‌دهنده شاخصی از میزان تنش در پرندگان است. کمبود فشار اکسیژن و سرما به عنوان عوامل تنش‌زا می‌توانند سبب افزایش میزان ترشح کورتیکواستروئیدها در جوجه‌ها گردند. افزایش هورمون‌های استروئیدی در خون از یک طرف سبب کاهش تولید لنفوسیت می‌گردد و از طرف دیگر با اثر برگرنده سلول‌های هتروپیل سبب آزاد شدن آن‌ها در خون گشته که این امر موجب افزایش درصد هتروپیل‌ها در جریان خون

Farmacognosia. 134–141, 2015.

14- Iqbal, M., D. Cawthon, K. Beers, R. F. Wideman and W. G. Bottje. 2002. Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in Broilers. *Poultry Science*, 81: 252–260.

15- Khajali, F. and M. Saedi. 2011. The effect of low chloride and high bicarbonate diets on growth, blood parameters, and pulmonary hypertensive response in broiler chickens reared at high altitude. *Archiv fur Geflugelkunde*, 75: 235-238.

16- Khajali, F. and R. F. Wideman. 2016. Nutritional approaches to ameliorate pulmonary hypertension in broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100(1):3–14.

17- Mladenka, P., L. Zatloukalova, T. Filipisky and R. Hrdina. 2010. Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 49: 963–975.

18- Pouramir, M., M. E. Shahaboddin, A. A. Moghadamnia, and K. Parastouei. 2011. To study the effects of *Securigera securidaca* (L.) seed against alloxan-induced hyperglycemia. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 3188-3191.

19- Rice-Evans, A. and Packer, L. (1998). *Flavonoids in Health and Disease*. Marcel Dekker Inc., New York.

20- SAS Institute. 2003. *SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition*. Cary, NC, USA.

21- Shahaboddin, M.S., M. Pouramir, A. A. Moghadamnia, M. Lakzaeia, S. H. Mirhashemi, and Motallebi. 2011b. Antihyperglycemic and antioxidant activity of *Viscum album* extract. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(3): 432-436.

22- Surai, P.F. 2014. Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98:19–31.

23- Uttara, B., A. V. Singh, P. Zamboni, and R. T. Mahajan. 2009. Oxidative stress and neuro degenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*, 7(1):65–74

24- Wideman, R.F.; D. D. Rhoads, G. F. Erf, and N. B. Anthony. 2013. Pulmonary arterial hypertension (ascites syndrome) in broilers: a review. *Poultry Science*, 92:64–83

25- Yang, X., Y. Luo, Q. Zeng, K. Zhang, X. Ding, S. Bai, and J. Wang. 2014. Effects of low ambient temperatures and dietary vitamin C supplement on growth performance, blood parameters, and antioxidant capacity of 21-day-old broilers. *Poultry Science*, 93:898–905.

159: 49-54.

3- Ahmadipour, B., M. Kalantar, S. Hosseini, L. Yang, M. Kalantar, S.H. Raza and N. Schreurs. 2017. Hawthorn (*Crataegus oxyacantha*) Extract in the drinking water of broilers on growth and incidence of Pulmonary Hypertension Syndrome (PHS). *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19:639-644.

4- Al-Kassie, G.A.M. 2010. The role of peppermint (*Mentha piperita*) on performance in broiler diets. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5): 1009-1013.

5- Baghbanzadeh, A. and E. Decuyper. 2008. Ascites syndrome in broilers: physiological and nutritional perspectives. *Avian Pathology*, 37:117–126.

6- Baskar, A.A., K. S. Al Numair, M. G. Paulraj, M. A. Alsaif, M.A. Muamar and S. Ignacimuthu. 2012. β -sitosterol prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status and histoarchitecture in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Journal of Medicinal Food*, 15: 335-343.

7- Coady, S., P. Sorlie, L. Cooper, A. Folsom, W. Rosamond, and D. Conwill. 2001. Validation of death certificate diagnosis for coronary heart disease: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) Study. *Journal of Clinical Epidemiology*, 54:40–50.

8- Dorak, T. 2006. Real time PCR. by Taylor & Francis Group. School of Clinical Medical Sciences (Child Health) Newcastle University Newcastle-upon-Tyne. UK. Pp:60 – 66.

9- Garjania, A., F. Fathiazad, A. Zakheri, N. Akbari, Y. Azarmie and A. Fakhrijo. 2009. The effect of total extract of *Securigera securidaca* L. seeds on serum lipid profiles, antioxidant status, and vascular function in hypercholesterolemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 126: 525-532.

10- Geng, A., Y. Guo and Y. Yang. 2004. Reduction of ascites mortality in broilers by coenzyme Q10. *Poultry Science*, 83: 1587-1593.

11- Hassanpour, H., P. Mirshokraei, E. Sadrabad, A. Dehkordi, S. Layeghi, A. Afzali and A. Mohebbi. 2014. *in vitro* effect of nanosilver on gene expression of superoxide dismutases and nitric oxide synthases in chicken sertoli cells. *Animal* 9:295–300

12- Havenstein, G., P. Ferket and M. Qureshi. 2003. Carcass composition and yield of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, 82:1509–1518

13- Ibrahim, R., A. El-Halawany, D. Saleh, A. El-Shabrawy, S. El-Hawary and others, 2015. HPLC-DAD-MS/MS profiling of phenolics from *Securigera securidaca* flowers and its anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic activities. *Revista Brasileira de*

