

## ارزیابی اثر عصاره الکلی برگ توت سفید (*Morus alba*) بر شاخص‌های خونی، سرمی و

### آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی

#### چکیده

در این مطالعه، تاثیر برگ‌توت‌سفید بر شاخص‌های خونی، سرمی و آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی مبتلا به سندرم آسیت بررسی شد. تعداد ۱۰۸ قطعه جوجه‌گوشتی یک‌روزه (راس ۳۰۸) به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۳۶ تایی با ۳ تکرار تقسیم‌بندی گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: کنترل و دو سطح برگ‌توت‌سفید بود که به‌ترتیب با جیره پایه و سطوح ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد عصاره الکلی برگ‌توت تغذیه شدند. متغیرهای مالون‌دی‌آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم، میزان هماتوکریت، نسبت H/L و RV/TV، فاکتورهای بیوشیمیایی سرم و پاسخ ایمنی هومورال و سلولی ارزیابی شدند. نسبت RV/TV در گروه‌های برگ‌توت کمتر بود و این اختلاف در گروه برگ‌توت ۰/۱ درصد معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ ). نسبت H/L در سطح ۰/۱ درصد برگ‌توت کاهش داشت ( $P < 0/05$ ). میزان هماتوکریت هر چند در تیمارهای برگ‌توت کاهش یافت ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. میزان نیتریک اکساید سرم در گروه برگ‌توت ۰/۱ افزایش یافت. ( $P < 0/05$ ). میزان تری‌گلیسرید در سطح ۰/۰۵ و LDL-C در هر دو سطح ۰/۰۵ و ۰/۱ کاهش معنی‌دار و میزان HDL-C در سطح ۰/۰۵ افزایش داشت ( $P < 0/05$ ). میزان مالون-دی‌آلدهید سرم در تیمارهای برگ‌توت کاهش ( $P < 0/05$ ) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم در سطح ۰/۰۵ برگ‌توت افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). در میزان اسیداوریک، پروتئین تام و کلسترول سرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. ایمنی هومورال و سلولی هرچند افزایش یافت ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. مطالعه حاضر نشان داد که افزودن برگ‌توت سفید به جیره جوجه‌های گوشتی با بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش نیتریک‌اکساید، کاهش نسبت RV/TV، چربی خون و تلفات می‌تواند در پیشگیری از سندرم آسیت موثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** جوجه گوشتی، تنش سرمایی، سندرم آسیت، برگ‌توت سفید.

#### مقدمه

افزایش جمعیت جهان همراه با نیاز روزافزون به منابع پروتئینی، تولید بیشتر گوشت در مدت زمان کوتاه‌تر همراه با ضریب تبدیل غذایی بهتر در صنعت پرورش طیور را سبب شده است. به همین دلیل سرعت رشد مرغ‌های گوشتی در نتیجه‌ی انتخاب ژنتیکی فشرده طی چند دهه گذشته به طرز شگفت‌آوری افزایش یافته است؛ به طوری که یک جوجه‌ی تازه خارج شده از تخم می‌تواند ظرف مدت پنج تا شش هفته به ۵۰ برابر وزن اولیه خود برسد. چنین سرعت رشدی در میان حیوانات پرورشی تقریباً انحصاری است (۷). در مقابل، وزن نسبی اندام‌های قلب و ریه در مرغ‌های گوشتی امروزی نه تنها افزایش نیافته؛ بلکه در اثر انتخاب ژنتیکی کاهش معنی‌داری در وزن نسبی قلب و ریه‌ها ایجاد شده است که نتیجه آن فشار زیاد بر سیستم قلبی - عروقی و به دنبال آن وقوع سندرم افزایش فشار خون ریوی (Pulmonary Hypertension Syndrome) یا سندرم آسیت می‌باشد. این سندرم در جوجه‌های گوشتی، آبشاری از رخدادهایی است که منجر به تغییراتی شامل بزرگ و شل شدگی قلب، هیپرتروفی بطن راست (Right Ventricular Hypertrophy (RVH) و تجمع مایع در حفره شکمی و پریکارد می‌شود (۲۶). آخرین پژوهش‌ها در مورد علت بروز آسیت در جوجه‌ها بر سه جنبه: فشار خون ریوی بالا، آسیب‌های متفرقه قلبی و انواع آسیب‌های سلولی ناشی از اختلالات اکسیژن و تولید رادیکال‌های آزاد متمرکز شده است. واکنش‌های اکسیداسیون تولید رادیکال‌های آزاد می‌کنند که به نوبه خود این رادیکال‌ها سبب شروع واکنش‌های زنجیره‌ای در سطح سلول می‌شوند. هنگامی که واکنش زنجیره‌ای در یک سلول رخ می‌دهد باعث آسیب و یا مرگ سلول می‌شود. وجود اکسیژن برای فرآیند اکسیداسیون و متابولیسم حیوانات ضروری است اما از طرفی انواع اکسیژن فعال که در جریان متابولیسم معمول هوازی به وجود می‌آید، آسیب شدیدی را به بدن می‌رساند. این اکسیدان‌ها از راه واکنش‌های شیمیایی زنجیره‌ای از جمله پراکسیداسیون لیپیدی، اثر اکسیدکنندگی DNA و پروتئین‌ها، به سلول آسیب می‌رسانند. آنتی‌اکسیدان‌ها این واکنش‌های زنجیره‌ای را با از بین بردن واسطه رادیکال‌های آزاد، خاتمه داده و سبب مهار واکنش‌های

اکسیداسیون می‌شوند. این ترکیبات این عمل را با گرفتن رادیکال‌های آزاد و اکسید شدنشان انجام می‌دهند. سطح ناکافی از آنتی-اکسیدان‌ها و یا کاهش عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سبب استرس اکسیداتیو شده و ممکن است سبب آسیب رساندن و یا مرگ سلول‌ها شوند (۹ و ۲۱). لذا اضافه نمودن ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی به جیره غذایی خصوصاً در شرایط استرس، می‌تواند باعث حفظ سلامتی بدن گردد.

گیاهان و سبزیجات منبع بسیار خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در رژیم غذایی انسان هستند که حاوی ترکیبات متنوع آنتی‌اکسیدانی از قبیل: کارتنوئیدها، ویتامین‌ها، فلاوونوئیدها، ترکیبات فنولیک، گلوکاتینون و متابولیت‌های درونزاد هستند که بدن را در مقابل رادیکال‌های آزاد مضر محافظت می‌کنند (۴۵). این آنتی‌اکسیدان‌ها به شدت با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن نظیر بیماری قلبی-عروقی، سرطان، دیابت، بیماری آلزایمر، کاتاراکت و پیامدهای ناشی از افزایش سن در ارتباط هستند (۵۳). افزودنی‌های گیاهی و فرآورده‌های آن‌ها شامل عصاره‌های گیاهی، اسانس یا مواد تشکیل دهنده آن‌ها از جمله محرک‌های رشد جایگزین هستند که به علت خصوصیات ضدباکتریایی و ضد قارچی، ضد تومور، بهبود رشد و عملکرد سیستم ایمنی در صنعت خوراک دام و طیور استفاده می‌شوند (۱۷). یکی از این منابع مهم با خواص مفید فراوان، برگ توت سفید می‌باشد. توت سفید (white mulberry) از خانواده Moraceae جنس *Morus L.* و گونه غالب *Morus alba L.* از میان ۱۵۰ گونه از جنس توت Mulberry است (۴۸). درختی برگ ریز با اندازه متوسط، در سراسر آسیا، آفریقا، اروپا، جنوب و شمال آمریکا نیز وجود دارد. توت سفید به علت فعالیت درمانی خوب و سمیت کم به عنوان دارو در طب سنتی استفاده می‌شود. برگ توت سفید به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی فراوان و موثر مانند فلاوونوئیدها، استروئیدها، تریترپن‌ها، فلاونول گلیکوزیدها، کوئرستین، ایزو کوئرستین، آستراگالین، کامفرول و همچنین ترکیباتی همچون اسید کافئیک رزواترول، اکسی رزواترول، اسید آسکوربیک، بتاکاروتن، اسیدهای چرب، آمینواسیدها، روی و آهن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد (۲۸). گزارش شد که برگ‌های همه‌ی نژادهای توت حاوی فلاوونوئید بوده‌اند (۵۴). ترکیبات فلاوونوئیدی به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، از تشکیل مواد سمی مانند مالون‌دی‌آلدهید و استالدئید جلوگیری می‌نمایند. (۶).

از خواص درمانی برگ توت می‌توان به پایین آوردن قند خون، چاق کننده، رفع سرفه و آسم، موثر در روماتیسم (۱۴)، باکتری-کشی، ویروس‌کشی (۱۶)، ضد سرطان، ضد التهاب، ضد استرس، تعدیل کننده سیستم ایمنی و فعالیت‌های کبدی نام برد (۵۱). مطالعات پزشکی جدید روی برگ توت بیانگر خواص ضد چاقی، ضد فشارخون، ضد دیابت و محافظت کبدی است (۳۲). گزارش شده است که افزودن برگ توت سفید به جیره جوجه‌های گوشتی با کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدهید سرم و افزایش ظرفیت آنتی-اکسیدانی در کاهش تنش اکسیداتیو موثر است (۳۶). مطالعات نشان داده‌اند که برگ توت سفید دارای اثرات مهارکنندگی پروستاگلندین E2 و سیتوکین‌های التهابی می‌باشد. خواص مهارکنندگی میانجی‌های التهابی موجب شده تا اثر حفاظتی این گیاه بر بافت عصبی و مغز بررسی گردد (۲۱). تحقیقات اخیر نشان داده است که استفاده از برگ توت در جیره جوجه‌های گوشتی موجب بهبود عملکرد، کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید خون می‌گردد (۲۵). با توجه به اینکه هیچ مطالعه‌ای در زمینه اثر برگ توت سفید بر کاهش بروز سندرم فشار خون ریوی در طیور انجام نشده است، این مطالعه در نظر دارد تا تأثیرات آنتی‌اکسیدانی و کنترل سندرم فشار خون ریوی توسط برگ توت را در جوجه‌های گوشتی مورد مطالعه قرار دهد.

### مواد روش کار

این مطالعه در قالب یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سالن پرورش طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد در ارتفاع حدود ۲۱۰۰ متر از سطح دریا اجرا گردید. قبل از ورود جوجه تمام مراحل بهداشتی و آماده‌سازی سالن انجام گرفت. در این آزمایش، تعداد ۱۰۸ قطعه جوجه یک‌روزه گوشتی مرغ و خروس سویه راس ۳۰۸ استفاده شد. جوجه‌ها به ۳ تیمار ۳۶ قطعه‌ای با ۳ تکرار

۱۲ تایی تقسیم شدند. دمای سالن پرورش تا ۳ روزگی روی ۳۲ درجه سانتی‌گراد ثابت و از روز ۴ تا پایان هفته اول به ۲۹ درجه سانتی‌گراد رسید. از ابتدای هفته دوم (روز ۸)، روزانه ۲ درجه سانتی‌گراد دمای سالن کاهش یافت تا در انتهای هفته دوم (روز ۱۴) دما به ۱۵ درجه سانتی‌گراد رسید و تا آخر دوره پرورش (۳۵ روزگی) ثابت ماند. پرندگان تحت شرایط نوری ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی قرار داشتند. آب و خوراک در طول دوره پرورش به طور آزاد در دسترس پرندگان قرار گرفت. با این شرایط پرورش زمینه وقوع آسیت فراهم شد. همه پرندگان مورد آزمایش، طبق برنامه واکسیناسیون منطقه، واکسینه شدند. برگ توت سفید پس از چیدن در فصل بهار به دور از نور آفتاب (زیر سایه) به طور کامل خشک گردید و پس از آسیاب و پودر کردن، جهت عصاره‌گیری به آزمایشگاه فارماکولوژی دانشگاه شهرکرد ارسال شد. فرمولاسیون پایه بر اساس ذرت-سویا بوده و به سه دوره-ی آغازین، رشد و پایانی تقسیم شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه دریافت‌کننده جیره پایه به عنوان کنترل و گروه‌های دریافت-کننده جیره حاوی ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد عصاره الکلی برگ توت سفید بودند. در سن ۳۵ روزگی، سه پرنده از هر تکرار (۹ پرنده از هر تیمار) با وزنی نزدیک به میانگین وزن تیمار برای تعیین شاخص‌های وزن اندام‌ها انتخاب شدند و پس از خون‌گیری، کشتار شدند. پس از تفکیک اندام‌ها، وزن قلب، کبد، طحال و بورس فابریسیوس با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و ثبت شد.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های استفاده شده در سنین مختلف دوره‌ی پرورش (۳۵ - ۱ روزگی)

اقدام جیره‌های آغازین، رشد و پایانی	۱-۱۰ روزگی	۱۱-۲۴ روزگی	۲۵-۳۵ روزگی
ذرت (/.)	۴۴/۸	۴۹/۰۴	۵۸/۹۴
کنجاله سویا (/.)	۴۳/۵	۳۸/۸۱	۳۳/۰۴
صدف (/.)	۱/۱	۰/۹۸	۰/۷۷
دی ال - متیونین (/.)	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۱۷
ال - لیزین (/.)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
مکمل معدنی (/.)*	۰/۳	۰/۳	۰/۳
مکمل ویتامینه (/.)*	۰/۳	۰/۳	۰/۳
نمک (/.)	۰/۴	۰/۳۹	۰/۳۴
روغن (/.)	۷	۸	۴/۴۶
دی کلسیم فسفات (/.)	۲/۱	۱/۷۲	۱/۴۹
انرژی (kcal/kg)	۳۰۰۰	۳۱۰۰	۳۲۰۰
پروتئین (/.)	۲۳	۲۱/۵	۱۹/۵

\* هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل: ۳۶۰۰ واحد بین المللی ویتامین A (ترانس رتینول)، ۸۰۰ واحد بین المللی D3، ۷/۲ میلی گرم ویتامین E، ۱/۶ میلی گرم ویتامین K3، ۰/۷۲ میلی گرم ویتامین B1، ۳/۳ میلی گرم ویتامین B2، ۰/۴ میلی گرم ویتامین B6، ۱/۲ میلی گرم ویتامین B12، ۰/۵ میلی گرم ویتامین فولیک اسید، ۲۰۰ میلی گرم ویتامین کولین کلراید بود.

\* هر کیلوگرم از مکمل معدنی شامل: ۴۰ میلی گرم منگنز، ۲۰ میلی گرم آهن، ۴۰ میلی گرم روی، ۴ میلی گرم مس، ۰/۶۴ میلی گرم ید، ۰/۰۸ میلی گرم سلنیوم بود.

برای تعیین نسبت وزن بطن راست به وزن کل بطن‌ها (RV/TV) قلب‌ها برداشته شده، بطن راست با دقت جدا و وزن شد و RV/TV محاسبه گردید. این نسبت به عنوان شاخصی از فشار خون ریوی یا آسیت به کار می‌رود (۲۷). میزان هماتوکریت با استفاده از دستگاه میکروسانتیفریوژ (BMC 24) و خط‌کش مخصوص PCV و نسبت هتروفیل به لنفوسیت با شمارش آن‌ها بر اساس روش Lucas و Jamroz (۱۹۶۱) تعیین شد (۳۸). نمونه‌های سرم برای تعیین کلسترول، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C،

اسید اوریک و پروتئین تام جدا و توسط دستگاه Auto Analyzer (bs380 mindray) اندازه‌گیری شد. نیتریک اکساید (نیترات + نیتريت) نیز طبق روش Behrooz و همکاران (۲۰۱۲) تعیین گردید (۱۱). سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید (Malondialdehyde) به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از روش Buege و Aust (۱۹۷۸) تعیین شد (۱۳). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم (Total Antioxidant Capacity) با استفاده از کیت تجاری Naxifer™ (شرکت Navand salamat ارومیه- ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن مورد سنجش قرار گرفت. ایمنی سلولی از راه واکنش ازدیاد حساسیت پوستی با تزریق فیتوهماگلوتینین P (Phytohemagglutinin P) به پرده بین پنجه پای پرندگان طبق روش Yousefi و همکاران (۲۰۱۳) مورد ارزیابی قرار گرفت (۵۲). پاسخ ایمنی هومورال نیز به وسیله تزریق سوسپانسیون گلوبول‌های قرمز گوسفند (Sheep Red Blood Cells (SRBC)) که به عنوان معیاری برای ارزیابی پاسخ پادتن اختصاصی است و انجام آزمایش هماگلوتیناسیون (HA) haemagglutinin)) سنجیده شد (۴۱). تلفات نیز جهت تعیین علت مرگ، کالبدگشایی شد و معاینه لاشه‌ها از نظر تجمع مایع در حفره بطنی و نسبت وزن بطن راست به کل بطن‌ها برای تأیید وجود آسیت انجام پذیرفت. تمام داده‌ها جهت تجزیه و تحلیل آماری به نرم افزار Sigma plot نسخه ۱۲ منتقل و با رویه یک‌طرفه ANOVA باهم مقایسه شدند. به منظور مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای Duncan's در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

## نتایج

### وزن نسبی اندام‌ها

وزن کبد در تیمارهای آزمایشی کمتر از گروه کنترل بود ولی این اختلافات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). با مقایسه وزن طحال و بورس هیچ اختلاف آماری معنی‌داری دیده نشد ( $P > 0.05$ ), هر چند وزن طحال و بورس در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه کنترل بیشتر بود و گروه کنترل در هر دو شاخص کمترین میانگین‌ها را به خود اختصاص داد. نسبت RV/TV به عنوان شاخص بروز سندرم فشار خون ریوی به شکل معنی‌داری در گروه کنترل بالا رفته بود ( $P < 0.05$ ). کمترین میزان میانگین نسبت بطن راست به دو بطن در گروه برگ توت ۰/۱ درصد (۰/۲۶۶) بود (جدول ۲).

### شاخص‌های خونی

در میزان PCV اگرچه بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ), اما گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها به مقدار جزئی هماتوکریت بالاتری را نشان داد. نسبت H/L در گروه کنترل بالاتر از سایر گروه‌ها بود و این اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0.05$ ) (جدول ۳).

### شاخص‌های سرمی

میزان نیتریک اکساید سرم در هر دو سطح برگ توت نسبت به گروه کنترل افزایش یافت و این اختلاف بین برگ توت ۰/۱ درصد با کنترل معنی‌داری بود ( $P < 0.05$ ). میزان اسید اوریک و کلسترول تام سرم تیمارهای برگ توت پایین‌تر و پروتئین تام بالاتر از گروه کنترل بود ولی اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). میزان تری‌گلیسرید سرم در گروه برگ توت ۰/۰۵ درصد از نظر آماری پایین‌تر از کنترل بود ( $P < 0.05$ ). هر چند که در گروه برگ توت ۰/۱ درصد نیز این میزان پایین‌تر بود ولی تفاوت معنی‌دار نداشت ( $P > 0.05$ ). در مورد مقادیر HDL-C سرم، این میزان در گروه‌های برگ توت بالاتر از کنترل بود و بین گروه برگ توت ۰/۰۵ درصد و کنترل اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $P < 0.05$ ). میزان LDL-C سرم نیز در هر دو سطح پایین‌تر بود و این اختلافات از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ) (جدول ۳).

جدول ۲- متغیرهای مربوط به وزن اندامها و نسبت RV/TV (Mean± SEM)

متغیرها	کنترل	برگ توت ۰/۱٪	برگ توت ۰/۰۵٪
وزن قلب (بطن‌ها) (%)	۰/۵۴±۰/۰۲	۰/۵۶±۰/۰۲	۰/۵۴±۰/۰۱
وزن بطن راست (%)	۰/۱۷۱±۰/۰۱۶	۰/۱۵۱±۰/۰۱۰	۰/۱۴۹±۰/۰۱۳
RV/TV (%)	۰/۳۱۳±۰/۰۱۲ <sup>a</sup>	۰/۲۶۶±۰/۰۱۰ <sup>b</sup>	۰/۲۷۱±۰/۰۱۴
وزن کبد (%)	۲/۷۳±۰/۱۴	۲/۶۷±۰/۰۴	۲/۶۲±۰/۰۶
وزن طحال (%)	۰/۰۷۰±۰/۰۰۴	۰/۰۹۱±۰/۰۰۸	۰/۱۰۱±۰/۰۱۲
وزن بورس فابریسیوس (%)	۰/۱۷۰±۰/۰۲۶	۰/۲۱۵±۰/۰۱۹	۰/۲۰۷±۰/۰۱۵

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) را نشان می‌دهد.

جدول ۳- متغیرهای خونی و سرمی محاسبه شده در ۳۵ روزگی (Mean± SEM)

متغیرها	کنترل	برگ توت ۰/۱٪	برگ توت ۰/۰۵٪
(%) PCV	۴۸/۴۴±۱/۰۴	۴۶/۶۲±۰/۶۵	۴۷/۱۲±۰/۹۱
نسبت H/L	۰/۶۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰/۴۸±۰/۰۲ <sup>bc</sup>	۰/۵۹±۰/۰۵ <sup>ac</sup>
نیتریک اکساید (μmol/L)	۴۷/۴۴±۶/۵۰ <sup>a</sup>	۸۸/۳۶±۸/۰۹ <sup>b</sup>	۵۷/۲۸±۶/۴۵ <sup>a</sup>
اسید اوریک (mg/dl)	۶/۰۰±۰/۴۸	۴/۷۷±۰/۴۰	۳/۵۷±۰/۸۹
پروتئین تام (g/dl)	۴/۰۶±۰/۳۹	۴/۷۴±۰/۳۳	۴/۵۲±۰/۳۶
تری گلیسیرید (mg/dl)	۹۴/۰۰±۸/۱۹ <sup>a</sup>	۸۳/۰۰±۵/۸۹	۶۶/۵۰±۴/۲۰ <sup>b</sup>
کلسترول (mg/dl)	۱۲۴/۲۵±۶/۱۴	۱۲۴/۱۴±۶/۹۸	۱۲۱/۱۴±۳/۸۳
HDL-C (μmol/L)	۶۱/۳۳±۲/۷۵ <sup>a</sup>	۶۹/۰۰±۴/۴۴ <sup>ad</sup>	۸۵/۵۷±۲/۴۷ <sup>f</sup>
LDL-C (μmol/L)	۵۷/۷۷±۱/۶۹ <sup>a</sup>	۳۵/۰۰±۱/۲۵ <sup>e</sup>	۳۲/۳۷±۱/۶۲ <sup>f</sup>

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) را نشان می‌دهد.

#### میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم (TAC)

همانطور که در جدول ۴ مشخص است، میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمارهای برگ توت به طور معنی‌داری پایین تر از گروه کنترل بود ( $P < 0.05$ ). و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم در تیمارهای برگ توت بالاتر و این اختلاف بین گروه برگ توت ۰/۰۵ درصد و کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

جدول ۴- میزان مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم (Mean± SEM)

پارامتر / گروه	کنترل	برگ توت ۰/۱٪	برگ توت ۰/۰۵٪
MDA (μmol/L)	۵۸/۳۸۹±۲/۶۰۷ <sup>a</sup>	۳۶/۵۵۴±۳/۵۰۶ <sup>b</sup>	۳۱/۳۵۵±۳/۰۴۰ <sup>b</sup>
TAC (μmol/L)	۰/۵۶۴±۰/۱۲۱ <sup>a</sup>	۱/۲۲۴±۰/۱۷۱	۱/۶۶۵±۰/۲۵۲ <sup>b</sup>

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) را نشان می‌دهد.

## پاسخ ایمنی هومورال و سلولی

پاسخ پادتنی به تزریق SRBC (ایمنی هومورال) و پاسخ ایمنی سلولی به تزریق فیتوهماگلوآنتینین مربوط به تیمارهای مختلف در جدول ۵ آورده شده است و هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ )، هر چند که تیتراژ آنتی‌بادی و شاخص ضخامت پرده پا (Toe web thickness index) در گروه‌های برگ توت از نظر عددی بالاتر از کنترل بود.

جدول ۵- عیار آنتی‌بادی علیه SRBC و شاخص ضخامت پرده پا بر حسب میلی‌متر (Mean±SEM)

پارامتر / گروه	کنترل	برگ توت ۰/۱٪	برگ توت ۰/۰۵٪
تیتراژ HA	۲/۳۷۵±۰/۳۲۴	۳/۴۴۴±۰/۴۷۵	۲/۸۸۹±۰/۵۸۸
ضخامت پرده پا	۰/۱۹۰±۰/۲۴۵	۰/۳۱۰±۰/۰۸۰	۰/۳۴۲±۰/۰۴۸

## تلفات ناشی از آسیت

پرندگان تغذیه شده با برگ توت دارای نرخ پایین‌تری از تلفات ناشی PHS بودند. (جدول ۶).

جدول ۶- درصد تلفات تجمعی ناشی از آسیت در گروه‌های مختلف در کل دوره آزمایش (۳۵-۷ روزگی)

گروه	کنترل	برگ توت ۰/۱٪	برگ توت ۰/۰۵٪
تلفات (%)	۲۷/۲۷	۱۵/۱۵	۱۲/۱۲

## بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی برای یافتن ترکیباتی جهت کاهش خسارات اقتصادی ناشی از سندرم آسیت، خصوصاً در مناطقی با ارتفاع بالا انجام شده است که از جمله این ترکیبات می‌توان به آنتی‌اکسیدان‌ها اشاره نمود. یکی از این منابع آنتی-اکسیدانی گیاهان هستند. مطالعات متعددی در خصوص اثبات وجود ترکیبات قدرتمند آنتی‌اکسیدانی در برگ توت سفید وجود دارد. برگ توت سفید با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی فراوان، از منابع غذایی با ارزش برای سلامتی بدن و پیشگیری از بروز بسیاری از بیماری‌ها به شمار می‌رود (۳۶ و ۵۴).

کاهش وزن کبد در گروه‌های دریافت کننده برگ توت سفید نسبت به گروه کنترل مشاهده شد؛ هر چند که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کبد محل اصلی لیپوژنز در پرندگان است (۱۱). بر اساس تحقیقات Manger و Vollmar در سال ۲۰۰۹ نشان داده شد ۲۰٪ اکسیژن مورد استفاده در بدن صرف فرآیند متابولیسمی کبد می‌شود. بنابراین کاهش لیپوژنز و کاهش نسبی اندازه کبد به نوعی باعث کاهش مصرف اکسیژن در شرایط هایپوکسی همانند مناطقی همچون شهرکرد می‌شود و در نتیجه وقوع آسیت کاهش می‌یابد (۵۰). Mohebbi و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که عصاره آبی برگ توت سفید در سطوح ۰/۰۱۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ درصد و به خصوص سطح ۰/۰۷۵ درصد در کشت هیپاتوسیت‌ها می‌تواند تجمع و ترشح تری‌گلیسرید را از هیپاتوسیت‌های جوجه‌های گوشتی کاهش دهد و منجر به کاهش توده چربی و بهبود کیفیت لاشه گردد (۴۰).

وزن نسبی بورس و طحال به عنوان ارگان‌های ایمنی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج بیانگر افزایش وزن نسبی طحال و بورس در تیمارهای آزمایشی نسبت به کنترل بود هر چند که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. گزارش شده است که استرس‌های مختلف منجر به ترشح هورمون کورتیکواستروئید و در نتیجه اختلال در سیستم ایمنی و لنفوئیدی شده و باعث کوچک شدن

ارگان‌های دخیل در ایمنی می‌شود. لذا مصرف منابع آنتی‌اکسیدانی علاوه بر حفظ غشاهای سلولی و افزایش ایمنی بدن با کاهش ترشح کورتکوستروئیدها همراه بوده و بنابراین از کوچک شدن ارگان‌های لنفوئیدی مثل بورس، تیموس و طحال جلوگیری می‌کنند (۴۷ و ۲۲). در مطالعه صیداصلی و همکاران در سال ۱۳۹۵ نشان داده شد که عصاره هیدروالکلی برگ توت سفید وزن طحال را تحت تاثیر قرار نداد ولی وزن بورس و تیموس در سطوح ۶ و ۸ درصد افزایش داشت (۵).

نسبت RV/TV شاخصی برای تعیین فشار خون ریوی در مرغ‌های گوشتی است. چنانچه این نسبت از ۰/۲۵ بالاتر رود، نشان دهنده این است که جوجه‌های گوشتی درگیر عارضه فشار خون ریوی هستند (۳۱). در این مطالعه برگ توت ۰/۱٪ سبب کاهش معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) نسبت RV/TV در جوجه‌های گوشتی که در شرایط مستعد کننده فشار خون ریوی پرورش یافتند، شد. در شرایط آسیت ثابت شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها احتقان را در قلب‌ها و ریه‌ها کاهش می‌دهند و در پی آن سندرم هیپرتانسیون ریوی کاهش می‌یابد (۲۰ و ۳۴). دمای پایین با افزایش متابولیسم بدن و نیاز بیشتر به اکسیژن منجر به ایجاد آسیت می‌شود. از طرفی استرس اکسیداتیو باعث تولید رادیکال‌های آزاد از الکترون‌های آزاد شده از میتوکندری‌ها می‌شود که این رویداد یکی از دلایل مهم بروز سندرم آسیت در جوجه‌های گوشتی می‌باشد (۱۲ و ۱۸). به همین خاطر استفاده از جیره‌های حاوی منابع آنتی-اکسیدانی می‌تواند با حفظ پایداری غشاهای سلولی بافت‌های بدن و جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد به پیشگیری از بروز این سندرم کمک نماید. Nemati و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که ویتامین C می‌تواند تلفات آسیت ناشی از افزایش نسبت RV/TV را کاهش دهد (۴۲). مطالعات اندکی در زمینه تاثیر گیاهان دارویی بر سیستم قلبی-عروقی و سندرم آسیت انجام شده است و با توجه به اینکه هیچ مطالعه‌ای در خصوص اثرات برگ توت سفید بر سندرم افزایش فشار خون ریوی وجود ندارد؛ می‌توان به این نکته اشاره نمود که توجه کمی به نقش گیاهان دارویی در زمینه سیستم قلبی-عروقی-ریوی شده است. احمدپور و همکاران طی دو مطالعه خود در سال‌های ۱۳۹۲ و ۲۰۱۵ بیان کردند که پودر کرفس کوهی در جیره جوجه‌های گوشتی تحت استرس سرمایی و ارتفاع بالا می‌تواند با کاهش نسبت RV/TV، فشار خون و تلفات از بروز سندرم افزایش فشار خون ریوی جلوگیری نماید (۱ و ۸).

مساله دیگر در خصوص کاهش رخداد این سندرم، افزایش فعالیت سنتاز نیتریک اکساید اندوتلیومی (Endothelial Nitric oxide synthase (eNOS)) و تشکیل نیتریک اکساید (NO) است. NO، یک گشاد کننده آندوژنوس قوی برای عروق است. در جوجه‌ها، NO مقاومت عروقی ریوی را از طریق اتساع عروقی و نیز کاهش عکس‌العمل آن‌ها نسبت به عوامل منقبض کننده وابسته به اندوتلیال از قبیل اندوتلین-۱ و ترومبوکسان A2 کاهش می‌دهد (۴۳). بنابراین انبساط عروق منجر به کاهش فشار خون و برون‌ده قلبی و نهایتاً کاهش فشار بر بطن راست قلب می‌شود (۴۶). مطالعه Hasanpour و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان می‌دهد که غلظت NO پلاسمایی در جوجه‌های درگیر با فشار خون ریوی کاهش پیدا می‌کند (۲۳). در مطالعه حاضر غلظت NO سرم در همه گروه‌ها نسبت به کنترل افزایش نشان داد و این اختلاف در گروه برگ توت ۰/۱٪ معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). خواص درمانی برگ توت سفید در کاهش فشار خون (hypotention)، کاهش چربی خون (hypolipidemic)، کاهش قند خون (hypoglycemic)، ادرارآوری (diuretic) و آنتی‌اکسیدانی (antioxidant) در مطالعات متعدد به اثبات رسیده است (۲ و ۳). لذا می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت NO در گروه‌های برگ توت (خصوصاً سطح ۰/۱٪) در این مطالعه و از طرفی خواص ادرارآوری، کاهش قند و چربی خون توسط برگ توت سفید که در مطالعات دیگر ثابت شده است خود گواهی بر کاهش فشار خون و در نهایت جلوگیری از رخداد سندرم افزایش فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی است. بنابراین با توجه به مطالب ذکر شده کاهش نرخ تلفات مشاهده شده در تیمارهای این آزمایش نسبت به گروه کنترل نیز می‌تواند بیانگر اثرات مثبت ترکیبات برگ توت سفید بر کنترل سندرم آسیت باشد.

میزان هماتوکریت با بروز آسیت رابطه مستقیمی دارد. در ارتفاع بالا هیپوکسی منجر به تولید اریتروپویتین از کلیه‌ها شده که باعث پلی‌سایتمی و افزایش هماتوکریت می‌شود. افزایش هماتوکریت موجب افزایش ویسکوزیته خون شده که به نوبه خود باعث افزایش فشار خون ریوی می‌شود (۲۷). هرچند که در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در میزان هماتوکریت بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد؛ که این نتایج با یافته‌های Kojima و همکاران در سال ۲۰۱۰ مطابقت دارد (۳۳).

نسبت هتروفیل به لنفوسیت نشان دهنده‌ی شاخصی از میزان تنش در پرندگان است. هیپوکسی و سرما به عنوان عوامل تنش‌زا می‌توانند سبب افزایش مقدار ترشح کورتیکواستروئیدها در این جوجه‌ها گردند. افزایش هورمون‌های استروئیدی در خون از یک طرف سبب کاهش تولید لنفوسیت می‌شود و از طرف دیگر با اثر بر گیرنده‌ی سلول‌های هتروفیل سبب آزاد شدن آن‌ها در خون گشته که این امر موجب افزایش درصد هتروفیل در جریان خون می‌شود (۳۰). بر اساس مطالعه Maxwell و همکاران در سال ۱۹۹۰ نسبت H/L در شرایط آسیت و هیپوکسی افزایش می‌یابد (۳۹). لذا می‌توان بیان کرد که کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت ( $P < 0/05$ ) در جوجه‌های تغذیه شده با برگ توت ۰/۱ درصد به نوعی با کاهش استرس‌های اکسیداتیو تطابق دارد. این نتایج با یافته‌های دیگر محققین که منابع آنتی‌اکسیدانی را به کار بردند نیز همخوانی دارد؛ Ahmadpour و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی اثر کرفس کوهی بر کاهش سندرم آسیت کاهش هماتوکریت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت را گزارش نمودند (۸). Lohakare و همکاران در سال ۲۰۰۵ کاهش نسبت H/L را در جوجه‌های گوشتی که ۱۰ و ۲۰۰ ppm ویتامین C در جیره مصرف نمودند، گزارش کردند (۳۷).

در مورد سایر پارامترهای بیوشیمیایی سرم در این مطالعه، تفاوت معنی‌داری در میزان اسید اوریک، پروتئین تام و کلسترول سرم مشاهده نگردید؛ اما میزان تری‌گلیسرید در گروه برگ توت ۰/۰۵ درصد کاهش ( $P < 0/05$ ) و میزان HDL-C که به عنوان کلسترول مفید نیز مطرح است، در گروه برگ توت ۰/۰۵ درصد افزایش معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). همچنین در میزان LDL-C سرم که به عنوان کلسترول مضر مطرح است، در گروه‌های برگ توت ۰/۱ و ۰/۰۵ درصد کاهش معنی‌دار مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ). ساز و کار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در کاهش کلسترول به‌وسیله مهار بیوسنتز کلسترول است؛ همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها با افزایش جذب تری‌گلیسرید و کاهش فعالیت آنزیم کبدی تری‌استیل‌گلیسرول لیپاز سبب کاهش میزان تری‌گلیسرید می‌شوند (۸ و ۱۰). نتایج به دست آمده از میزان تری‌گلیسرید سرم در پرندگان نیز تأییدکننده این اصل است و گروه کنترل بالاترین مقادیر تری‌گلیسرید ( $P < 0/05$ ) و کلسترول را داشت. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانین می‌توانند با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد، مهار اکسیداسیون LDL-C، و کاهش سطح تری‌گلیسرید و کلسترول خون از ایجاد بیماری‌های مزمن قلبی و آترواسکلروز پیشگیری نمایند. Panja و همکاران در سال ۲۰۱۳ کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول سرم جوجه‌های گوشتی و تخم‌گذار را با اضافه نمودن سطوح ۰/۵ تا ۲ درصد برگ توت به جیره گزارش نمودند (۴۴). Islam و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی سطوح ۲/۵ تا ۴/۵ درصد عصاره برگ توت در جیره جوجه‌های گوشتی کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول تام سرم را در سن ۲۲ تا ۴۲ روزگی مشاهده کردند (۲۵). بنابراین با توجه به این تحقیقات، برگ توت می‌تواند از طریق مکانیسم‌های دیگر مثل کم کردن چربی خون و کاهش مقاومت عروقی به کاهش فشار خون و بیماری‌های قلبی-عروقی و درنهایت جلوگیری از سندرم آسیت کمک نماید (۴۹).

مالون‌دی‌آلدهید (MDA) ترکیب حاصل از پراکسید شدن لیپیدها در بدن می‌باشد و شاخصی از استرس‌های اکسیداتیو است. نشان داده شده که مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species ROS) یا به‌دام انداختن ROS، موجب مهار پرولیفراسیون القا شده از هیپوکسی در عروق ریوی و افزایش فشار ریوی متعاقب آن می‌شود (۸ و ۲۹). همچنین گزارش شده است که افزایش پراکسیداسیون لیپیدی متعاقب کم شدن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌ها می‌تواند منجر به دژنراسیون بافت قلبی و



هیپرتروفی بطن راست شود (۲۴). عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاهان پلی‌فنولی چندگانه است و می‌توانند به عنوان عوامل احیاء کننده، دهنده هیدروژن و رقیق کننده اکسیژن آزاد عمل کنند (۳۶). در مطالعه حاضر، برگ توت سفید در هر دو سطح (۰/۱ و ۰/۰۵ درصد) توانست غلظت MDA سرم را به طور معنی‌داری کاهش دهد ( $P < 0/05$ ). که این یافته‌ها با مطالعات Lin و همکاران (۲۰۱۷) و صیداصلی و همکاران (۱۳۹۵) در تطابق است (۵ و ۳۶).

در مطالعه حاضر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم در گروه برگ توت ۰/۰۵ درصد نسبت به کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ )، که این اثر را می‌توان به خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات که به طور مفصل ذکر شد نسبت داد. اثبات شده است که برگ توت دارای ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی از قبیل (Gallic Acid)، (Caffeic Acid)، (Epicatechin) و (Galocatechin Gallate) است که دارای فعالیت قدرتمند آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی توسط برگ توت ناشی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و به دام اندازی رادیکال‌های آزاد است (۳۶).

شاخص ضخامت پرده پا قدرت ایمنی سلولی را در ماکیان منعکس می‌کند (۱۹). در مطالعه حاضر هرچند شاخص ضخامت پرده پا در تیمارهای آزمایش نسبت به کنترل بالاتر بود ولی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ که این نتایج با یافته‌های صیداصلی و همکاران (۱۳۹۵) مطابقت دارد و بیان شد که احتمالاً می‌تواند تا حدودی ناشی از خاصیت ضدالتهابی ترکیبات موجود در برگ توت باشد (۵). تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC نیز در تیمارهای برگ‌توت بیشتر از کنترل بود ولی معنی‌دار نبود. در مطالعه شریفی و همکاران در سال ۱۳۹۰ نیز بیان شد که ۴ گیاه دارویی نعناع، زیره، بومادران و کلپوره اثر معنی‌داری بر ایمنی هومورال نداشتند (۴).

#### نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزودن برگ توت سفید به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی و ارتفاع بالا، با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و نیتریک‌اکساید سرم و کاهش نسبت وزن بطن راست به وزن دو بطن (به عنوان شاخص نشان دهنده‌ی آغاز سندرم فشار خون ریوی)، سبب کاهش تلفات و پیشگیری از بروز سندرم فشار خون ریوی می‌شود.

#### منابع

- ۱- احمدی پور بهنام؛ خواجعلی فریبرز؛ حسن پور حسین؛ اسدی خشویی، ابراهیم و خواجعلی فریدون؛ تأثیر کرفس کوهی بر جلوگیری از وقوع سندرم فشار خون ریوی در مرغ‌های گوشتی؛ نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۳۹۳؛ ۷: ۳۱-۲۳.
- ۲- خزاعی، محمد حسن؛ حسین زاده، حسن و کاظمی، لادن؛ کارآزمایی اثر ضد دیابتی برگ شاه توت؛ مجله علوم پایه پزشکی ایران؛ ۱۳۸۱؛ ۵: ۳۴-۲۴.
- ۳- زرگری علی؛ گیاهان دارویی؛ چاپ ششم؛ انتشارات دانشگاه تهران؛ ۱۳۷۵؛ جلد سوم؛ صفحه ۹۷-۸.
- ۴- شریفی، سید داود؛ حسنی، سعیده؛ خادم، علی اکبر و صالحی عبدالرضا؛ بررسی اثر چهار گیاه دارویی (نعناع، زیره سبز، بومادران، کلپوره) بر سیستم ایمنی و جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه‌های گوشتی؛ پژوهش و سازندگی؛ ۱۳۹۰؛ ۹۲: ۷-۱.
- ۵- صید اصلی مریم و روستایی محمد؛ اثر مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی برگ توت سفید (*Morus alba L.*) بر پاسخ‌های ایمنی، پراکسیداسیون چربی‌های سرم و گوشت جوجه‌های گوشتی؛ تحقیقات تولیدات دامی؛ ۱۳۹۵؛ ۵: ۴۵-۵۷.
- ۶- نصیبی، فاطمه و کلانتری، خسرو؛ کاربرد باندهای مختلف اشعه ماوراءبنفش در بالا بردن میزان برخی ترکیب‌های ثانویه در دو گونه بنگ دانه؛ فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران؛ ۱۳۸۵؛ ۲۲: ۱۴۵-۱۴۰.

7- Abman, SH; Pathogenesis and treatment of neonatal and postnatal pulmonary hypertension. Current Opinion in Pediatrics; 1994; 6: 239-247.

- 8- Ahmadipour, B; Hassanpour, H; Asadi, E. and et al; *Kelussia odoratissima* Mozzaf—A promising medicinal herb to prevent pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude. *J Ethnopharmacol*; 2015; 159: 49-54.
- 9- Arab, H; Jamshidi, R; Rassouli, A; Shams, G. and Hassanzadeh, M; Generation of hydroxyl radicals during ascites experimentally induced in broilers. *British poultry science*; 2006; 47: 216-222.
- 10- Asgary, S; Naderi, G; Dashti, G. and et al; Effect of *Amirkabiria odoratissima* Mozaffarian on the development and progression of fatty streaks in hypercholesterolemic rabbits. *Phytother Res*; 2004; 18: 370-372.
- 11- Behrooj, N; Khajali, F. and Hassanpour, H; Feeding reduced-protein diets to broilers subjected to hypobaric hypoxia is associated with the development of pulmonary hypertension syndrome. *British poultry science*; 2012; 53: 658-664.
- 12- Bendheim, U; Berman, E. and Zadikov, I; The effects of poor ventilation, low temperatures, type of feed and sex of bird on the development of ascites in broilers. Production parameters. *Avian Pathology*; 1992; 21: 383- 388.
- 13- Buege, J. A. and Aust, S. D; [30] Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*; 1978; 52: 302-310.
- 14- Chen, F; Nakashima, N; Kimura, I. and Kimura, M; Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves (*folium mori*) and cortex *mori radidis* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*; 1995; 115: 476-482.
- 15- Choi, E. M. and Hwang, J. K; Effects of *Morus alba* leaf extract on the production of nitric oxide, prostaglandin E 2 and cytokines in RAW264. 7 macrophages. *Fitoterapia*; 2005; 76: 608-613.
- 16- Chu, Q; Lin, M; Tian, X. and Ye, J; Study on capillary electrophoresis—amperometric detection profiles of different parts of *Morus alba* L. *Journal of Chromatography A*; 2006; 1116: 286-290.
- 17- Cook, N. C. and Samman, S; Flavonoids—chemistry, metabolism, cardio protective effects, and dietary sources. *The Journal of nutritional biochemistry*; 1996; 7: 66-76.
- 18- Currie, RJW; Ascites in poultry: recent investigations. *Avian Pathology*; 1999; 28:313-326.
- 19- Corrier, DE. and Deloach, JR; Evaluation of cellmediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. *Poultry Science*; 1990; 69: 403-408.
- 20- Enkvetchakul, B; Bottje, W; Anthony, N. and et al. Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. *Poultry Science*; 1993; 72: 2272-2280.
- 21- Fang, Y-Z; Yang, S. and Wu, G; Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*; 2002; 18: 872-879.
- 22-Gross, W. B; Siegel, P. B. and Dubose, R. T; Some effects of feeding corticosterone to chickens. *Poultry Science*; 1980; 59: 516–522.
- 23- Hassanpour, H; Yazdani, A; Khabir Soreshjani, K. and et al. Evaluation of endothelial and inducible nitric oxide synthase genes expression in the heart of broiler chickens with experimental pulmonary hypertension. *British poultry science*; 2009; 50: 725-732.
- 24- Hassanzadeh Ladmekhi, M; A study of factors predisposing for ascites syndrome in broiler chickens at low altitude. *Doctoraatproefschrift aan de Faculteit der Landbouwwetenschappen van de KU Leuven*; 1997.
- 25- Islam, M. R; Siddiqui, M. N; Khatun, A; Siddiky, M. N A; Rahman, M. Z; Bostami, A. B. M. R. and Selim, A. S. M; Dietary effect of mulberry leaf (*Morus alba*) meal on growt performance and serum cholesterol level of broiler chickens. *SAARC Journal of Agriculture*; 2015; 12: 79-89.
- 26- Julian, RJ; Ascites in poultry. *Avian pathology*; 1993; 22: 419-454.
- 27- Julian, RJ; Physiological, management and environmental triggers of the ascites syndrome: A review. *Avian Pathology*; 2000; 29: 519-527.

- 28- Katsube, T; Imawaka, N; Kawano, Y; Yamazaki, Y; Shiwaku, K. and Yamane, Y; Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food chemistry*, 2006; 97: 25-31.
- 29- Kelley, NS; Yoshida, Y. and Erickson, KL; Do n-3 polyunsaturated fatty acids increase or decrease lipid peroxidation in humans? *Metabolic Syndrome and Related Disorders*; 2014; 12: 403-415
- 30- Khajali, F; Saedi, M. and Slominski, B; 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 für Geflügelkunde*; 2011; 75: 235-238.
- 31- Khajali, F; Tahmasebi, M; Hassanpour, H; Akbari, M; Qujeq, D. and Wideman, R; Effects of supplementation of canola meal-based diets with arginine on performance, plasma nitric oxide, and carcass characteristics of broiler chickens grown at high altitude. *Poultry Science*; 2011; 90: 2287-2294.
- 32- Kim, D. S; Kang, Y. M; Jin, W. Y; Sung, Y. Y; Choi, G. and Kim, H. K; Antioxidant activities and polyphenol content of *Morus alba* leaf extracts collected from varying regions. *Biomedical reports*; 2014; 2: 675-680.
- 33- Kojima, Y; Kimura, T; Nakagawa, K; Asai, A; Hasumi, K; Oikawa, S. and Miyazawa, T; Effects of mulberry leaf extract rich in 1-deoxynojirimycin on blood lipid profiles in humans. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*; 2010; 47: 155-161.
- 34- Ladmakhi, MH; Buys, N; Dewil, E. and et al. The prophylactic effect of vitamin C supplementation on broiler ascites incidence and plasma thyroid hormone concentration. *Avian Pathology*; 1997; 26: 33-44.
- 35- Li, L. N; Biologically active components from traditional Chinese medicines. *Pure and applied chemistry*; 1998; 70: 547-554.
- 36- Lin, W. C; Lee, M. T; Chang, S. C; Chang, Y. L; Shih, C. H; Yu, B. and Lee, T. T; Effects of mulberry leaves on production performance and the potential modulation of antioxidative status in laying hens. *Poultry science*; 2017; 96: 1191-1203.
- 37- Lohakare, J. D; Ryu, M. H; Hahn, T. W; Lee, J. K. and Chae, B. J; Effects of supplemental ascorbic acid on the performance and immunity of commercial broilers. *Journal of applied poultry research*; 2005; 14: 10-19.
- 38- Lucas, AM. and Jamroz, C; *Atlas of Avian Hematology*. Agriculture Monograph 25. 320 USDept. Agric., Washington, DC, 1961.
- 39- Maxwell, M.H; Spence, S; Robertson, G.W. and Mitchell, M.A; Haematological and morphological responses of broiler chicks to hypoxia. *Avian Pathology*; 1990; 19: 23-40.
- 40- Mohebbi, A; Khaki, Z; Asadi, F; Pourkabir, M. and Modirsanei, M; Effect of mulberry (*Morus alba* L.) leaves extract on the secretion and content of triglyceride in the chicken hepatocytes primary culture. *International Journal of Pharmacology*; 2007; 3: 116-119.
- 41- MUNNS PLLamont S; Research Note. Effects of Age and Immunization Interval on the Anamnestic Response to T-Cell–Dependent and T-Cell Independent Antigens in Chickens. *Poultry Science*; 1991; 70: 2371-2374.
- 42- Nemati, M. H; Shahir, M. H; Harakinezhad, M. T. and Lotfalian, H; Cold-Induced Ascites in Broilers: Effects of Vitamin C and Coenzyme Q10. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*; 2017; 19: 537-544.
- 43- Odom, T; Martinez-Lemus, L; Hester, R. and et al. In vitro hypoxia differentially affects constriction and relaxation responses of isolated pulmonary arteries from broiler and leghorn chickens. *Poultry science*; 2004; 83: 835-841.
- 44- Panja, P; The effects of dietary mulberry leaves (*Morus alba* L.) on chicken performance, carcass, egg quality and cholesterol content of meat and egg. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*; 2013; 10: 121-129.

- 45- Piao, X; Kim, H.Y; Yokozawat, L.Y.A; Piao, X.S. and Cho, E.J. Protective effects of broccoli (*Brassica oleracea*) and its active components against radical-induced oxidative damage. *Journal of nutritional science and vitaminology*; 2005; 51: 142-147.
- 46- Ruiz-Feria, C. A; M. T. Kidd. and R. F. Wideman; Plasma levels of arginine, ornithine, and urea and growth performance of broilers fed supplemental L-arginine during cool temperature exposure; *Poultry Sciences*; 2001; 80: 358–369.
- 47- Sahin, K; Sahin, N. and Yaralioglu, S; Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation, blood serum metabolites, and mineral concentrations of laying hens reared at high ambient temperature. *Biological Trace Element Research*; 2002a; 85: 35-45.
- 48- Srivastava, S; Kapoor, R; Thathola, A. and Srivastava, R. P; Nutritional quality of leaves of some genotypes of mulberry (*Morus alba*). *International journal of food sciences and nutrition*; 2006; 57: 305-313.
- 49- Ustundag, A. O. and Ozdogan, M; Usage possibilities of mulberry leaves in poultry nutrition. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*; 58; 2015.
- 50- Vollmar, BMenger MD; The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol Rev*; 2009; 89: 1269-1339.
- 51- Yang, Z. G; Matsuzaki, K; Takamatsu, S. and Kitanaka, S; Inhibitory effects of constituents from *Morus alba* var. *multicaulis* on differentiation of 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW264. 7 cells. *Molecules*; 2011; 16: 6010-6022.
- 52- Yousefi, A; Khajali, F; Hassanpour, H. and Khajali, Z; Dietary L-carnitine improves pulmonary hypertensive response in broiler chickens subjected to hypobaric hypoxia. *The Journal of Poultry Science*; 2013; 50: 143-149
- 53- Zhang, D. and Hamauzu, Y; Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*; 2004; 88: 503-509.
- 54- Zhishen, J; Mengcheng, T. and Wu, J; The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*; 1999; 64: 555-559.

# **Evaluation the effect of mulberry (*Morus alba*) leaf ethanoic extract on blood, serum and antioxidant parameters of broiler chickens under cold stress**

## **summary**

In this study, the effect of mulberry leaf ethanoic extract on blood, serum and antioxidant parameters of broiler chickens with ascites syndrome was investigated. A total of 108 one-day old broiler chickens (Ross 308) were randomly divided into 3 groups and Each group included of 36 chicks with 3 replicates. Experimental treatments were: control group and two levels of mulberry leaf ethanoic extract, which respectively were fed with basal diet and levels of 0.05% and 0.1% of mulberry leaf ethanoic extract. Malondialdehyde and total antioxidant capacity of serum, PCV, H/L ratio, RV/TV ratio, serum biochemical factors and humoral and cellular immune responses were evaluated. The results of this study showed that RV/TV ratio was lower in mulberry leaf ethanoic extract, and this difference was statistically significant in the group 0.1% of mulberry leaf ethanoic extract ( $P<0.05$ ). The H/L ratio was reduced in the level 0.1% of mulberry leaf ethanoic extract ( $P<0.05$ ). PCV levels decreased in mulberry leaf treatments but were not statistically significant. Serum nitric oxide increased in 0.1% of mulberry leaf group ( $P<0.05$ ). Triglyceride level decreased significantly in the group 0.05% and LDL-C level decreased significantly at both levels of 0.05 and 0.1% of mulberry leaf ( $P<0.05$ ). HDL-C increased significantly at the level 0.05% of mulberry leaf ( $P<0.05$ ). Serum malondialdehyde decreased significantly in mulberry leaf treatments and total antioxidant capacity of serum increased significantly at the level 0.05% of mulberry leaf ( $P<0.05$ ). There was no statistically significant difference in uric acid, total protein and serum cholesterol level. Although humoral and cellular immunity increased, it was not statistically significant. In conclusion the present study showed that the addition of mulberry leaf ethanoic extract to broiler chickens diet improved the antioxidant parameters and increased nitric oxide, decreased RV/TV ratio, blood lipid levels and mortality, so can be effective in preventing ascetic syndrome.

**Keywords:** Broiler chicken, Cold stress, Ascites syndrome, Mulberry leaf.