نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۳۹۸؛ ۱۳(۲): ۵۷-۶۹.

بررسی اثرات محافظت کنندگی عصاره الکلی پوست انار در برابر استرس اکسیداتیو متعاقب مسمومیت تجربی کادمیوم در بلدرچین ژاپنی

احمد کشمیری[۱]، شهاب بهادران[۲*]، عبدالکریم زمانی‌مقدم[۳]، عبدالناصر محبی[۲]

۱. دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت و بیماری‌های طیور، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۲. دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۳. استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.

دریافت: ۱۱ تیرماه ۹۷ **پذیرش:** ۱۸ آذرماه ۹۷

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات محافظت کنندگی عصاره الکلی پوست انار در برابر استرس اکسیداتیو متعاقب مسمومیت تجربی کادمیوم در بلدرچین ژاپنی در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۲۰ قطعه جوجه در ۴ تیمار و ۳ تکرار (۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار) به مدت ۳۵ روز، انجام شد. پرنده های تحت تغذیه‌های متفاوت شامل جیره شاهد (گروه ۱)، جیره شاهد به‌همراه ۵۰ppm کادمیوم در آب آشامیدنی (گروه ۲)، جیره شاهد به‌همراه عصاره‌ی الکلی پوست انار با غلظت ۰/۲درصد+ ۵۰ppm کادمیوم در آب آشامیدنی (گروه۳) و جیره شاهد به‌همراه عصاره‌ی الکلی پوست انار با غلظت ۰/۱درصد+۵۰ppm کادمیوم در آب آشامیدنی (گروه ۴) قرار گرفتند. میزان کادمیوم بافتی با دستگاه ICP-OES، فاکتورهای بیوشیمیایی سرم با دستگاه اتوآنالیزر، پراکسیداسیون لیپیدی با روش تی بارس و فاکتورهای رشد به صورت هفتگی و نیز مورفولوژی پرزهای روده مورد سنجش قرار گرفت. کاهش مصرف خوراک در تیمارهای دریافت‌کننده‌ی کادمیوم در هفته ۴ نسبت به تیمار شاهد، مشاهده شد ($P<0/05$). درسایرشاخص‌های عمل‌کرد رشد در تیمارهای گوناگون اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($P>0/05$). در تیمارهای دریافت‌کننده عصاره‌ی الکلی پوست انار افزایش معنی‌دار عرض پرز و ارتفاع پرز بر عمق کریپت نسبت به تیمار کادمیوم مشاهده شد ($P<0/05$). تجمع بافتی کادمیوم در تیمار حاوی عصاره‌ی الکلی پوست انار به میزان ۰/۲ به طور معنی‌داری کمتر از تیمار دریافت کننده‌ی کادمیوم بود. بین گروه‌های مختلف در میزانAST ، اوره، گلوکز، پروتئین تام و کلسترول اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میزان ALT و اوره سرم درتیمارهای دریافت کننده‌ی عصاره‌ی الکلی به میزان معنی‌دار پایین‌تر از تیمار دریافت‌کننده‌ی کادمیوم بود. با توجه به نتایج این مطالعه تا حدودی می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌ی الکلی پوست انار به عنوان یک ماده افزودنی در جیره غذایی موجب بهبود جذب مواد غذایی، کاهش تجمع بافتی و محافظت در برابر اثرات سوء کادمیوم در بلدرچین می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کادمیوم، عصاره الکلی، پوست انار، بلدرچین ژاپنی، فاکتورهای بیوشیمیایی.

مقدمه

مطالعه روی فلز سمی و خطرناک کادمیوم که در انسان و هر موجود زنده‌ای موجب آسیب‌های غیر قابل بازگشت می‌شود، در دهه‌های اخیر افزایش یافته‌است (۱۵). آلودگی محیط زیست و مسمومیت با کادمیوم موجب ایجاد بیماری‌های مزمن و بدخیم با عوارض فراوانی از جمله سرطان، ایمونوتوکسیسیتی و مسمومیت عصبی در پی تغییر در خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیکی بافت‌های بدن، در انسان می‌شود (۱۵)؛ همچنین کادمیوم سبب مهار عمل‌کرد آنزیم‌های کبدی می‌شود که این امر منجر به احتقان کبد، افزایش اکسیداسیون چربی‌ها، آسیب‌های اکسیداتیو بافتی و کاهش عمل‌کرد غشای پلاسمایی می‌شود (۳۲ و ۳۷). علاوه بر انسان سایر پستانداران و پرندگان نیز به مسمومیت با کادمیوم حساس هستند (۲۸). در پرندگان کادمیوم موجب‌کاهش رشد، آسیب کبدی، کلیوی و سیستم ایمنی می‌شود (۴۳).

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول: bahadoran4@yahoo.com

مواجهه و مسمومیت انسان و حیوانات با کادمیوم، از راه‌های مختلف از جمله آلودگی آب و غذا حادث می‌گردد (۱۸، ۲۱ و ۵۲). آلوده بودن آب‌های زیرزمینی منجر به آلودگی بسیاری از منابع غذایی و محصولات دامی می‌شود (۶ و ۴۲). آلودگی با کادمیوم در سبزی‌های مصرفی (۲۷)، تن‌ماهی‌های دریای‌خزر (۱۹)، گوشت گاو در کشتارگاه‌های اصفهان (۳۵) و گوشت مرغ مصرفی گزارش شده است (۴۱ و ۴۶). در سطح جهانی هم گزارش‌های زیادی در خصوص آلوده بودن فرآورده‌های دامی با کادمیوم وجود دارد (۱۶ و ۵۱).

آسیب اکسیداتیو و ایجاد رادیکال‌های آزاد، به عنوان مکانیسم اولیه در مسمومیت با این فلز مطرحند (۲۶). پژوهش‌ها نشان داده است که ترکیباتی مانند ویتامین‌های E، C و سلنیوم که خواص آنتی‌اکسیدانی و به دام اندازی برخی عناصر سنگین هستند، موجب کاهش اثرات سمی کادمیوم می‌شوند (۱۲، ۱۷ و ۵۳). مواد آنتی‌اکسیدان در برخی از گیاهان مانند ریحان‌مقدس (*Ocimum sanctum*) و چای سبز موجب کاهش اثرات منفی کادمیوم می‌گردد (۱۳ و ۳۶).

درخت انار با نام علمی پونیکا گراناتوم (*Punica granatum*) از خانواده‌ی پونیکاسه (*Punicaceac*) به‌طور عمده در ایران، نواحی شمالی هندوستان و نواحی مدیترانه کشت می‌شود. میوه‌ی انار به دلیل داشتن ترکیبات مختلفی از جمله اسیدهای آلی، آلکالوئیدها، پلی‌فنل‌ها، تانن، آنتوسیانید و ترکیبات بسیار دیگر خاصیت درمانی فراوانی از جمله آنتی‌اکسیدان قوی، ضدباکتریایی، قدرت جذب فلزات سنگین، ضدسرطانی، ضدالتهابی و خواص درمانی فراوانی در قسمت‌های مختلف از جمله پوست انار دارد (۱۴، ۳۳ و ۴۵).

با توجه به آلودگی بالای محیطی که می‌تواند سبب آلودگی گوشت طیور به عنوان اصلی‌ترین منابع تأمین پروتئین در انسان شود و در نتیجه مصرف آن اثرات نامطلوبی بر مصرف کننده داشته باشد؛ بنابراین به‌کارگیری ترکیباتی کاهنده اثرات سوء اکسیداتیو کادمیوم و تجمع بافتی این فلز سنگین در گوشت از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. تاکنون پژوهشی در زمینه اثرات عصاره‌ی الکلی پوست انار در کاهش مسمومیت کادمیومی در بلدرچین ژاپنی صورت نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات محافظت‌کنندگی عصاره‌ی الکلی پوست انار بر عمل‌کرد، مورفولوژی روده، دفاع آنتی اکسیدانی و تجمع بافتی در جوجه بلدرچین‌های دچار مسمومیت القایی است.

مواد و روش کار

پوست انار از بازار مرکزی شهرکرد تهیه گردید و به منظور عصاره‌گیری از حلال اتانول ۷۰ درصد استفاده شد. بدین منظور ۵۰۰ گرم از پوست انار به صورت کامل خشک گردیده و با آسیاب آزمایشگاهی به قطعات ۰/۵ سانتی‌متر خرد گردید. قطعات خرده شده را داخل پرکولاتور گذاشته و روی آن به قدری اتانول ۷۰ درصد ریخته شد، تا سطح آن را به طور کامل بپوشاند. هر ۲۴ ساعت و برای ۳ بار محلول اتانولی حاوی مواد مؤثره گیاهی، جدا شد و مجدداً اتانول ۷۰ درصد روی گیاه دارویی در دستگاه پرکولاتور به اندازه‌ای که سطح اجزای گیاهی را کامل بپوشاند، ریخته شد و به مدت ۷۲ ساعت ظرف محلول اتانول حاوی مواد مؤثره گیاهی در آون با دمای ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای جداسازی اتانول از عصاره و تغلیظ کردن از دستگاه روتاری در خلاء استفاده شد و از عصاره‌ی الکلی پوست انار به دست آمده در طول آزمایش به مقدار لازم استفاده شد (۴۵).

این آزمایش در مرغداری دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد در تابستان ۱۳۹۶، با استفاده از ۱۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی به مدت ۳۵ روز پرورش روی بستر، در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار، ۳ تکرار و ۱۰ قطعه بلدرجین ژاپنی در هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل ۱)

جیره شاهد ۲) جیره شاهد+۵۰ppm کادمیوم کلرید (شرکت سیگما-الدریچ) در آب آشامیدنی۳) جیره شاهد+عصاره‌ی پوست انار با غلظت ۰/۲ درصد + ۵۰ppm کادمیوم کلرید در آب آشامیدنی ۴) جیره شاهد+عصاره‌ی پوست انار با غلظت ۰/۱ درصد + ۵۰ppm کادمیوم کلرید در آب آشامیدنی بود. جیره غذایی استفاده شده بر اساس مواد مغذی موجود در مواد خوراکی و همچنین احتیاجات غذایی بلدرچین ژاپنی مطابق با جداول انجمن ملی تغذیه (۸) تنظیم شد (جدول ۱). جوجه بلدرچین‌ها تا ۷ روزگی با جیره پایه تغذیه شدند. در ۷ روزگی پس از وزن‌کشی، به گونه‌ای تقسیم‌بندی شدند که میانگین وزن همه پن‌ها یکسان باشد. در طی آزمایش آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار داشت. برنامه نوردهی به صورت پیوسته بود. افزایش وزن و میزان خوراک مصرفی به صورت هفتگی ثبت و محاسبه گردید و با این اطلاعات ضریب تبدیل مواد غذایی هفتگی محاسبه شد.

در روز ۳۵ آزمایش تعداد ۹ قطعه پرنده از هر گروه انتخاب و کشته شد و ۲ میلی‌لیتر خون برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدهید و فاکتورهای بیوشیمیایی در سرم گرفته شد. غلظت مالون دی آلدهید سرم به روشBuege و همکاران در سال ۱۹۸۷، اندازه‌گیری شد (۵). ۴۰۰ میکرولیتر از سرم با ۶۰۰ میکرولیتر آب مقطر رقیق گردید و به هرکدام نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر از شناساگر (محلول ۰/۳۷۵درصد تیوبابیتوریک اسید و ۱۵درصد اسید تری کلرو استیکدر اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال) اضافه شد و در حمام آب گرم با دمای جوش ۱۵ دقیقه قرار گرفتند، سپس در دمای اتاق خنک و با دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. با جداسازی بخش بالایی مایع، اقدام به سنجش میزان جذب در دستگاه اسپکتوفتومتر با طول‌موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل نمونه Blank شد. میزان جذب نمونه‌ها نسبت به Blank سنجیده و غلظت مالون دی آلدهید نمونه‌ها با ضریب خاموشی ۱۰۵×۱،۵۶ M^{-1} cm^{-1} تعیین گردید. با دستگاه اتوآنالایزر Technicon ra-xt میزان آلانین ترانس‌آمیناز (ALT)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، اوره، کلسترول گلوکز و پروتیئن تام در سرم‌ها قرائت گردید. برای اندازه‌گیری مورفولوژی پرز روده بعد از تخلیه احشا، به‌اندازه ۲ سانتی‌متر از بخش میانی دئودنوم، ژئوژنوم و ایلئوم نمونه‌گیری و با فسفات بافر سالین شستو شو شد، سپس در محلول کلارک (متشکل از ۲۵ درصد اسید استیک و ۷۵ درصد الکل اتیلیک) به مدت ۴۵ دقیقه و پس از آن در الکل اتیلیک ۵۰ درصد، گذاشته شد، سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در محلول پریودیک اسید شیف قرار گرفتند. با عدسی مندرج ارتفاع پرز، عرض پرز و عمق کریپت اندازه‌گیری و ثبت گردید. این کارها برای ۱۰ پرنده از هر تیمار و در سه تکرار، انجام گرفت (۴۹). برای اندازه‌گیری میزان تجمع کادمیوم در عضلات سینه در روز ۳۵، نمونه‌گیری به عمل آمد و به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهرکرد انتقال یافت. میزان کادمیوم بافتی به روش خاکسترگیری سنجش شد. به صورت خلاصه قطعات گوشت جداسازی شده به مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس در کوره ۵۰۰-۴۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۶ ساعت به‌طور کامل سوزانده شد و در نهایت با میکرو فیلترهای ۰/۲۲ میکرومتری، نمونه‌ها پالایش گردیدند و با اضافه کردن آب کروماتوگرافی به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شدند، سپس مقدار کادمیوم با دستگاه اتوماتیک ICP-OES بر حسب ppb قرائت شد (۱۶).

داده‌ها با آزمون One-way ANOVA و تست تکمیلی Tukey با نرم‌افزار SPSS 21 و سطح معنی‌داری ۵ درصد آنالیز آماری شدند.

نتایج

نتایج مربوط به تأثیر سطوح مختلف عصاره‌ی پوست انار بر عمل‌کرد رشد بلدرچین ژاپنی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن عصاره‌ی

الکلی پوست انار در جیره غذایی جوجه بلدرچین‌های ژاپنی دچار مسمومیت القایی تأثیری روی مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل در هفته‌های مختلف نداشت (P>۰/۰۵). از نظر مصرف خوراک در روزهای ۲۱-۲۸ درمصرف خوراک در تیمارهای دریافت کننده کادمیوم نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (P<۰/۰۵)؛ با این حال در کل دوره بین تیمارهای مطالعه شده اختلافی معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

نتایج مربوط به تأثیر سطوح مختلف عصاره‌ی پوست انار روی مورفولوژی روده ژاپنی در جدول ۳ درج شده است. نتایج بررسی مورفولوژی دئودنوم نشان داد که افزودن عصاره الکلی پوست انار تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع و عرض پرز نداشت (P>۰/۰۵). عمق کریپت در تیمار کادمیوم نسبت به تیمارهای دیگر افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). افزودن عصاره الکلی پوست انار موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع پرز بر عمق کریپت نسبت به تیمار کادمیوم شد (P<۰/۰۵). نتایج بررسی شاخص‌های پرز در ژئوژنوم نشانگر آن است که افزودن عصاره‌ی الکلی پوست انار در سطح ۰/۲ درصد موجب افزایش معنی‌دار عرض پرز نسبت به تیمار شاهد و تیمار کادمیوم می‌شود (P<۰/۰۵). تیمارهای دریافت کننده‌ی کادمیوم نسبت به تیمار شاهد، افزایش معنی‌دار عمق کریپت را نشان دادند (P<۰/۰۵). در اندازه‌ی عرض پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در شاخص‌های مورفولوژیک ایلئوم اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهد نشد (P>۰/۰۵).

نتایج تأثیر افزودن عصاره الکلی پوست انار بر غلظت سرمی مالون دی آلدهید در جدول ۴ درج شده است. نتایج بیانگر آن است که افزودن عصاره‌ی الکلی پوست انار در سطح ۰/۲ موجب کاهش معنی‌دار در غلظت سرمی نسبت به تیمار کادمیوم شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان مالون دی آلدهید سرمی در تیمارهای مختلف در تیمار کادمیوم مشاهده شد.

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره پایه مورد استفاده در مطالعه حاضر

مواد خوراکی	مقدار بر حسب گرم/کیلوگرم
ذرت	۵۰۹/۶
کنجاله سویا	۴۳۸/۴
روغن گیاهی	۲۰/۶
دی کلسیم فسفات	۸/۳
کلسیم کربنات	۱۲/۶
نمک	۱/۶
مکمل معدنی +ویتامین[×]	۵
دی ال، متیونین	۱/۶
ویتامین D3[××]	۱
ویتامین E[×××]	۱/۵
مواد مغذی محاسبه شده	
انرژی قابل متابولیسم (Kcal/kg)	۲۸۵۰
پروتئین خام (درصد)	۲۵/۳
لیزین (درصد)	۱/۳۴
متیونین (درصد)	۰/۵
متیونین+سیستئین (درصد)	۰/۸۴
کلسیم (درصد)	۰/۸
فسفر قابل‌استفاده (درصد)	۰/۳
سدیم	۰/۱۵

[×]هر کیلوگرم پیش مخلوط ویتامینه-معدنی دارای ۲۰۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۸۰۰۰۰ واحد ویتامین D3، ۱۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۳۵ میلی‌گرم ویتامین K3، ۱۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C، ۳۰ میلی‌گرم ویتامین B1، ۱۳۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۷۰۰ میلی‌گرم ویتامین B12، ۱۳۰۰ میلی‌گرم نیکوتینیک اسید، ۲۲۵ میلی‌گرم پانتوتنیک اسید، ۸۲۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۳۳۰۰ میکروگرم بیوتین و ۱۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۸۰۰ میلی‌گرم آهن، ۴۰۰ میلی‌گرم مس، ۸ میلی‌گرم سلنیوم، ۳۸ میلی‌گرم ید و ۱۸۰ گرم کلسیم است.

[××]هر کیلوگرم ویتامین D3 (کله کلسیفرول) دارای ۱۰۰۰۰۰ واحد است.

[×××]هر کیلوگرم ویتامین E (آلفا توکوفرول) دارای ۱۰۰۰۰۰ واحد است.

نتایج تأثیر عصاره الکلی پوست انار بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون در جدول ۴ درج شده است. مقدار آنزیم ALT در تیمار کادمیوم به میزان معنی‌داری بالاتر از

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف عصاره‌ی الکلی پوست انار بر عمل‌کرد رشد بلدرچین ژاپنی در روزهای مختلف متعاقب مسمومیت تجربی کادمیوم بر حسب گرم

شاخص عمل‌کردی	تیمارها*				خطای استاندارد	P value
	۱	۲	۳	۴		
افزایش وزن						
۷-۱۴	۴۷۱/۳۷	۴۰۲/۹۴	۴۳۴/۳۱	۴۰۸/۰۳	۱۴/۱۹	۰/۳۳۳
۱۴-۲۱	۶۳۱/۳۷	۵۴۶/۷۰	۵۶۸/۶۲	۵۷۲/۵۴	۱۴/۴۳	۰/۳۴۳
۲۱-۲۸	۵۶۸/۶۲	۴۷۰/۵۸	۵۵۶/۸۶	۵۱۹/۶۰	۱۵/۹۰	۰/۰۹۸
۲۸-۳۵	۳۹۸/۰۳	۳۵۶/۸۶	۳۹۸/۰۳	۳۵۴/۹۰	۱۰/۹۴	۰/۳۲۳
۷-۳۵	۵۱۷/۳۵	۴۴۸/۷۷	۴۸۹/۴۶	۴۶۳/۷۷	۱۳/۶۶	۰/۳۰۹
مصرف خوراک						
۷-۱۴	۸۳۱/۳۷	۷۴۱/۱۷	۸۲۷/۴۵	۷۴۹/۰۱	۱۹/۱۲	۰/۱۷۵
۱۴-۲۱	۱۲۰۳/۹۲	۱۳۰۹/۸۰	۱۱۸۴/۳۱	۱۳۱۳/۷۲	۲۹/۸۳	۰/۲۸۹
۲۱-۲۸	۱۵۹۴/۱۱[a]	۱۴۰۷/۸۴[b]	۱۴۳۵/۲۹[b]	۱۳۸۸/۲۳[b]	۲۷/۷۱	۰/۰۵۰
۲۸-۳۵	۱۷۳۷/۲۵	۱۶۶۲/۷۴	۱۶۵۲/۹۴	۱۶۹۴/۱۱	۲۴/۴۰	۰/۶۷۶
۷-۳۵	۱۳۴۱/۶۶	۱۲۸۰/۳۹	۱۲۷۵/۰۰	۱۲۸۶/۲۷	۴۹/۸۸	۰/۹۶۵
ضریب تبدیل						
۷-۱۴	۱/۷۸	۱/۸۳	۱/۹۰	۱/۸۵	۰/۰۳	۰/۷۶۵
۱۴-۲۱	۱/۹۱	۲/۳۳	۲/۰۸	۲/۳۰	۰/۰۷	۰/۰۹۱
۲۱-۲۸	۲/۸۱	۳/۰۰	۲/۵۸	۲/۶۸	۰/۰۶	۰/۱۲۲
۲۸-۳۵	۴/۳۹	۴/۶۵	۴/۲۸	۴/۷۸	۰/۱۱	۰/۲۶۰
۷-۳۵	۲/۷۲	۲/۹۵	۲/۶۸	۲/۹۰	۰/۱۵	۰/۹۱۴

جدول ۳- اثرات عصاره‌ی الکلی پوست انار بر مورفولوژی پرزهای روده در مسمومیت القایی با کادمیوم بر حسب میلی‌متر

	تیمارها×				خطای استاندارد	P value
	۱	۲	۳	۴		
دئودنوم						
ارتفاع پرز	۵۰/۲۳	۴۸/۲۳	۵۳/۳۵	۵۰/۳۳	۸/۸۶	۰/۲۴۰
عرض پرز	۱۶/۹۳	۱۹/۸۳	۱۷/۶۹	۱۹/۴۰	۰/۷۷	۰/۴۸۲
عمق کریپت	۳۶/۸۱[b]	۴۲/۴۶[a]	۳۳/۶۴[b]	۳۴/۰۶[b]	۰/۸۶	۰/۰۰۱
ارتفاع پرز/عمق کریپت	۱/۳۶[ab]	۱/۱۵[b]	۱/۶۴[a]	۱/۵۰[a]	۰/۰۴	۰/۰۰۱
ژئوژنوم						
ارتفاع پرز	۲۲/۱۳	۲۱/۹۳	۲۷/۳۳	۲۳/۱۳	۰/۹۵	۰/۱۵۴
عرض پرز	۱۳/۹۰[b]	۱۴/۴۰[b]	۲۱/۸۰[a]	۱۸/۴۰[ab]	۰/۹۰	P<۰/۰۰۱
عمق کریپت	۳۰/۱۸[b]	۳۵/۹۲[a]	۳۶/۵۸[a]	۳۹/۴۱[a]	۰/۸۳	P<۰/۰۰۱
ارتفاع پرز/عمق کریپت	۰/۷۵	۰/۶۱	۰/۷۵	۰/۵۸	۰/۰۳	۰/۰۶۰
ایلئوم						
ارتفاع پرز	۱۸/۶۶	۱۹/۸۶	۱۸/۶۰	۱۸/۵۳	۰/۷۰	۰/۸۷۲
عرض پرز	۱۵/۸۶	۱۴/۱۳	۱۴/۷۳	۱۴/۴۶	۰/۶۴	۰/۷۹۲
عمق کریپت	۳۱/۸۴	۳۱/۱۳	۳۵/۶۶	۳۵/۴۶	۰/۷۶	۰/۰۳۴
ارتفاع پرز/عمق کریپت	۰/۵۹	۰/۶۴	۰/۵۲	۰/۵۳	۰/۰۲	۰/۱۲۴

× ۱. جیره شاهد ۲. جیره شاهد + ppm ۵۰ کادمیوم از طریق آب آشامیدنی ۳. جیره شاهد + عصاره‌ی الکلی پوست با انار غلظت ۰/۲ درصد+ ppm ۵۰ کادمیوم از طریق آب آشامیدنی ۴. جیره شاهد + عصاره‌ی الکلی پوست انار غلظت ۰/۱ درصد+ ppm ۵۰ کادمیوم از طریق آب آشامیدنی

[a,b] تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

جدول ۴- تأثیر عصاره‌ی الکلی پوست انار بر تجمع بافتی، فاکتورهای بیوشیمیایی، پراکسیداسیون لیپیدی سرم بلدرچین ژاپنی متعاقب مسمومیت تجربی کادمیوم

شاخص	تیمارها[x]				خطای استاندارد	P value
	۱	۲	۳	۴		
ALT (u/l)	۸/۱۶[b]	۱۱/۴۲[a]	۱۲/۲۸[a]	۱۰/۵۷[ab]	۰/۴۶	۰/۰۰۷
AST (u/l)	۲۳۵	۲۷۸/۸۵	۲۵۸/۴۲	۲۴۹/۲۸	۷/۲۷	۰/۱۸۹
اوره (mg/dl)	۲/۳۳[b]	۷/۷۱[a]	۲/۳۳[b]	۳/۳۳[b]	۰/۵۵	۰/۰۰۱
گلوکز (mg/dl)	۳۴۹/۶۶	۳۴۳/۴۲	۳۱۶/۳۷	۳۲۰/۵۵	۶/۶۶	۰/۲۷۱
کلسترول (mg/dl)	۱۶۰/۴۲	۱۸۷/۲۸	۱۷۲/۱۲	۱۶۷/۶۲	۵/۸۷	۰/۴۷۲
پروتئین تام (mg/dl)	۲/۸۳	۳/۰۸	۳/۰۴	۳/۱۴	۰/۰۸	۰/۶۸۸
مالون دی آلدهید (µm)	۱۲۴/۹۱[ab]	۱۴۲/۵۵[a]	۸۸/۶۳[b]	۱۰۷/۲۳[ab]	۶/۹۸	۰/۰۱۶
کادمیوم در عضلات (ppb/g)	۵/۸۴[c]	۴۴/۹۹[a]	۲۸/۲۰[b]	۳۶/۴۷[ab]	۳/۵۲	۰/۰۰۰

[x]۱. جیره شاهد، ۲. جیره شاهد + ۵۰ ppm کادمیوم از طریق آب آشامیدنی، ۳. جیره شاهد + عصاره‌ی الکلی پوست انار با غلظت ۰/۲ درصد+ ۵۰ ppm کادمیوم از طریق آب آشامیدنی و ۴ . جیره شاهد + عصاره‌ی الکلی پوست انار با غلظت ۰/۱ درصد + ۵۰ ppm کادمیوم از طریق آب آشامیدنی
[a,b]تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). مقدار این آنزیم در تیمار دریافت کننده‌ی عصاره الکلی پوست انار در سطح ۰/۱ اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (P>۰/۰۵). از نظر سطح اوره سرم، افزودن سطوح ۰/۱ و ۰/۲ عصاره‌ی الکلی پوست انار نسبت به تیمار کادمیوم موجب کاهش معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). افزودن عصاره‌ی الکلی پوست انار تأثیری روی AST، گلوکز، کلسترول و پروتئین تام نداشت هر چند در تیمارهای دریافت‌کننده میانگین این فاکتورها پایین‌تر بود (P>۰/۰۵).

بحث

نتایج عمل‌کرد رشد این مطالعه هم‌سو با نتایج Sant'Ana و همکاران (۲۰۰۵) بود آنان گزارش کردند اثرات سوءکادمیوم بر شاخص‌های تولیدی ارتباط مستقیم با دوز کادمیوم دارد (۴۳). در این پژوهش بیشترین اثرات سوءکادمیوم بر شاخص‌های تولیدی در دوز ۱۰۰ ppm دیده شد. در نقطه مقابل کادمیوم در دوز ۵۰ ppm کمترین اثر سوء بر شاخص‌های تولیدی را، نشان داد. پژوهش‌های اندکی در مورد مکانیسم انتروپاتوژنیک کادمیوم انجام گرفته و مکانیسم کاهش اشتها از سوی این فلز تا به امروز مشخص نیست و نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد.

نتایج تأثیر کادمیوم بر شاخص‌های مورفولوژیک ارتفاع، عرض و عمق کریپت موافق با نتایج Teshfam و همکاران (۲۰۰۶) بود (۴۹). سلامت دستگاه گوارش در گرو سلامت بافتی روده‌هاست. فاکتورهای عرض پرز، طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت، جزء شاخص‌های سلامت روده و دستگاه گوارش است. افزایش در عرض، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع به عمق کریپت موجب بهبود و عمل‌کرد دستگاه گوارش می‌شود(۲۲ و ۳۴). خاصیت انتروپاتوژنیک کادمیوم را Richardson و همکاران (۱۹۷۴) در بلدرچین ژاپنی اثبات کردند (۴۰). Cigánková و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که کادمیوم از طریق تجمع در داخل انتروسیت‌ها موجب آسیب به ارگانل‌های داخلی سلول (میتوکندری و شبکه اندوپلاسمیک) می‌شود که در نهایت موجب مرگ سلول‌های روده‌ای و اختلال در عمل‌کرد روده می‌شود (۷). علت تجمع کادمیوم در داخل انتروسیت‌ها به خاطر ترشح متالوتیونین است که به عنوان مکانیسم دفاعی به فلزات سنگین شلاته شده و موجب تجمع کادمیوم در داخل

سلول‌ها می‌گردد (۷). مطابق گزارش Berzina و همکاران (۲۰۰۷) اشباع شدن متالوتیونین در مسمومیت مزمن با کادمیوم در نهایت موجب پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو در روده و در نهایت موجب ایجاد آسیب و مرگ سلولی می‌شود (۴). به نظر می‌رسد عصاره‌ی الکلی پوست انار به دلیل داشتن مواد فنولیکی فراوان از جمله کاتاچین، اپی‌کاتچین، اپیگالوکاتچین، هیدروکسی‌سینامیک اسید و هیدروکسی بنزوئیک اسید که خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها اثبات شده است (در شرایط استرس اکسیداتیو ایجاد شده با کادمیوم)، موجب حفاظت پرزهای روده و نیز موجب بهبود عمل‌کرد بلدرچین می‌گردد (۲۴، ۳۸ و ۴۷). در برخی از مطالعات نشان داده شد که مواد گیاهی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط استرس اکسیداتیو روده‌ای موجب بهبود و عمل‌کرد بلدرجین می‌گردند (۱). بخش دیگری از نحوه عملکرد عصاره‌ی الکلی پوست انار در بهبود شاخص‌های مورفولوژیک روده، از طریق کاهش مرگ سلول‌های انتروسیت و باکتری‌های مضر به علت خاصیت ضدالتهابی وآنتی‌بیوتیکی انار (به علت وجود استرکنین، گراناتین B، گالیک اسید، پونیکالاژین، الژیک اسید و پونیکالین) است و نیز موجب افزایش ارتفاع پرز روده و کاهش عمق کریپت می‌شود (۱۰، ۲۳ و ۳۸).

نتایج حاصل از غلظت مالون دی آلدهید در نتیجه افزودن کادمیوم، هم‌سو با نتایج Nair و همکاران (۲۰۱۳) بود (۳۱). مالون دی آلدهید محصول اصلی پراکسیداسیون لیپیدی و شاخص استرس اکسیداتیو در مسمومیت با کادمیوم است (۳ و ۴۸). کادمیوم از طریق ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی که در آن رادیکال‌های آزاد، الکترون‌ها را از لیپیدهای اجزای سلولی می‌ربایند با ایجاد تغییراتی در سیالیت، نفوذپذیری، انتقال یون و مهار فرایندهای متابولیک، به اجزای سلولی آسیب می‌رسانند (۱۲). به نظر می‌رسد که دلیل کاهش غلظت مالون دی آلدهید در تیمارهای دارای عصاره‌ی الکلی پوست انار، به دلیل وجود مواد آنتی‌اکسیدانی فراوان در این فرآورده باشد. مطالعه‌ی Moralesa و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که گیاهانی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی ادرند، موجب کاهش مالون دی آلدهید در مسمومیت کادمیوم از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند (۳۰).

اولین اندام‌هایی که در مسمومیت با کادمیوم دچار آسیب می‌شوند و تغییرات بیوشیمیایی در خون را نشان می‌دهند کلیه و کبدند (۴۳ و ۴۴). اوره، گلوکز، کلسترول، پروتئین تام و آنزیم‌های ALT و AST سرم شاخص‌های سلامت کبد وکلیه‌اند، که به عنوان فاکتورهای خونی شاخص در مسمومیت با کادمیوم اندازه‌گیری می‌شوند (۲۵ و ۵۰). نتایج فاکتورهای بیوشیمیایی خون با نتایج پژوهش Lisunova و همکاران (۲۰۰۸) و Abou-Kassem و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت (۲ و ۲۵). این پژوهشگران نشان دادند که کادمیوم از طریق تجمع در کبد وکلیه موجب آسیب و تغییر فاکتورهای بیوشیمیایی مربوط به این اندام‌ها شده و موجب آسیب به بلدرچین می‌گردد و حفاظت از کبد و کلیه موجب کاهش عوارض مسمومیت با کادمیوم می‌گردد. نتایج این پژوهش نشانگر حفاظت کبدی و کلیوی عصاره‌ی الکلی پوست انار در مسمومیت با کادمیوم است. مکانیسم اثرات محافظت‌کنندگی عصاره‌ی پوست انار از کبد و کلیه، در برابر کادمیوم می‌تواند از دو طریق توجیه گردد. یکی از مکانیسم‌های ایجاد آسیب کبد و کلیه توسط کادمیوم، از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است (۹). در استرس اکسیداتیو شرایطی رخ می‌دهد که تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و توانایی بدن برای غیرفعال کردن آن‌ها از بین می‌رود. اکسی رادیکال‌های ایجاد شده بسیار فعال، متحرک و کوچک هستندکه بعد از تشکیل، واکنش‌های زنجیره‌ای را آغاز می‌کنند و به پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA آسیب می‌رسانند (۳). بسته به جایگاه سلول‌های آسیب‌دیده، ممکن است مسمومیت کبدی، گوارشی و یا کلیوی در حیوان مسموم رخ دهد. در برخی

از مطالعات تأثیر موادی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند در کاهش اثرات سوء کادمیوم نشان داده شد (۲۹ و ۴۴). عصاره‌ی الکلی پوست انار با داشتن مواد فنولیکلی، که خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها اثبات گردیده، با شرایط استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط کادمیوم مقابله می‌کند و موجب کاهش عوارض سوء در مسمومیت با کادمیوم می‌گردد (۴۵). در مطالعه‌ی Renugadevi و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده شد که گیاهان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، موجب کاهش عوارض سوءکادمیوم می‌گردند (۳۹). مکانیسم دیگری که برای اثرات محافظت‌کنندگی پوست انار مطرح می‌گردد، جذب کمتر کادمیوم و تجمع کمتر کادمیوم در بدن در نتیجه تولید کمتر کمپلکس متالوتیونین-کادمیوم وآسیب کمتر در تیمارهای دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی الکلی پوست انار باشد. توانایی پوست انار در جذب فلزات سنگین و حذف از چرخه غذایی از سوی Ozcan و همکاران (۲۰۱۱) اثبات گردیده است (۳۳). متالوتیونین پروتئین‌های سبک وزنی هستند که در بدن در پاسخ به مسمومیت به فلزات از جمله کادمیوم تولید می‌گردند. این پروتئین‌ها از طریق باند شدن و ایجاد کمپلکس متالوتیونین -کادمیوم موجب کاهش اثرات سمی آن‌ها می‌شود. این کمپلکس‌ها بعد از تشکیل در کبد رسوب می‌گردند. این کمپلکس موجب ایجاد التهاب در محل رسوب، از طریق فعال کردن سلول‌های کوپفر کبد و آزادسازی سایتوکین‌هایی مثل IL1 و IL6 موجب آسیب به کبد می‌گردد. متأسفانه ظرفیت کبد برای کمپلکس ایجادشده کم می‌باشد. با افزایش این کمپلکس و اشباع ظرفیت کبدی این کمپلکس‌ها وارد جریان گردیده و در بافت‌های مختلف به‌ویژه در قسمت کورتکس کلیه و لوله جمع‌کننده‌ی نزدیک نفرون‌ها رسوب و موجب آسیب مکانیکی به کلیه می‌گردد (۲۰). توانایی این قابلیت در پوست انار را می‌توان به وجود ترکیبات کربنی فعال فراوان در ترکیب آن که خاصیت باند شدن به فلزات سنگین دارد، ارتباط داد (۱۱)، بنابراین عصاره‌ی پوست انار در تیمارهای دریافت‌کننده‌ی آن از طریق کاهش تجمع بافتی کادمیوم و در نهایت تشکیل کمتر کمپلکس متالوتیونین-کادمیوم می‌تواند موجب اثرات محافظت‌کنندگی کبد و کلیه در مسمومیت با کادمیوم گردد.

به طور کلی نتایج حاصل این مطالعه تا حدودی می‌توان نتیجه گرفت که افزودن عصاره‌ی الکلی پوست انار به عنوان ماده افزودنی در جیره غذایی بلدرچین تحت شرایط مسمومیت القایی کادمیوم موجب بهبود عمل‌کرد کبد،کلیه و کاهش تجمع بافتی کادمیوم شد. با توجه به شرایط آلودگی منابع آب و خاکی به نظر می‌رسد استفاده از افزودنی‌هایی همانند عصاره‌ی الکلی پوست انار در مناطق با شدت آلودگی بالا توصیه شود.

قدردانی و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه شهرکرد و در قالب پایان‌نامه تخصصی در بخش بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی انجام شده است که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1- Abd El-Galil, K. and Mahmoud, H. A; Effect of ginger roots meal as feed additives in laying Japanese quail diets. Am J Sci; 2015; 2: 233-234.
2- Abou-Kassem, D; Mahrose, K. M. and Alagawany, M; The role of vitamin E or clay in growing Japanese quail fed diets polluted by cadmium at various levels. Animal; 2016; 10(3): 508-519.
3- Bagchi, D; Bagchi, M; Hassoun, E. and Stohs, S; Cadmium-induced excretion of urinary lipid metabolites, DNA

damage, glutathione depletion, and hepatic lipid peroxidation in Sprague-Dawley rats. Biol Trace Elem Res; 1996; 52(2): 143.

4- Berzina, N; Markovs, J; Isajevs, S; Apsite, M. and Smirnova, G; Cadmium-Induced Enteropathy in Domestic Cocks: A biochemical and histological study after subchronic exposure. Basic Clin Pharmacol Toxicol; 2007; 101(1): 29-34.

5- Buege, J. A. and Aust, S. D; Microsomal lipid peroxidation; Methods Enzymol. 1978; 52: 302-310.

6- Charkhabi, A. H; Sakizadeh, M. and Rafiee, G; Seasonal Fluctuation in Heavy Metal Pollution in Iran´ s Siahroud River-A Preliminary Study. ESPR; 2005; 12(5): 264-270.

7- Cigánková, V; Almášiová, V. and Holovská, K; Morphological Changes in duodenal epithelium of Japanese quail after chronic cadmium exposure. Pol J Environ Stud; 2010; 19(2).

8- Council, N. R; Nutrient Requirements of Poultry:9th edd: N A P;1994; 88-89

9- Cuypers, A; Plusquin, M; Remans, T; Jozefczak, M; Keunen, E; Gielen, H; Opdenakker, K; Nair, A. R; Munters, E. and Artois, T. J; Cadmium stress: an oxidative challenge. Biometals; 2010; 23(5): 927-940.

10- Deschepper, K; Lippens, M; Huyghebaert, G. and Molly, K; The effect of aromabiotic and GALI D'OR on technical performances and intestinal morphology of broilers. in Proccedings of 14th European Symposium on Poultry Nutrition August. Lillehammer, Norway; 2003; 21-23

11- El-Ashtoukhy, E. S; Amin, N. K. and Abdelwahab, O; Removal of lead (II) and copper (II) from aqueous solution using pomegranate peel as a new adsorbent. Desalination; 2008; 223(1-3): 162-173.

12- El-Demerdash, F. M; Yousef, M. I; Kedwany, F. S. and Baghdadi, H. H; Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and β-carotene. Food Chem Toxicol; 2004; 42(10): 1563-1571.

13- El-Shahat, A. E. R; Gabr, A; Meki, A. R. and Mehana, E. S; Altered Testicular Morphology and Oxidative Stress Induced by Cadmium in Experimental Rats and Protective Effect of Simultaneous Green Tea Extract. Int. J. Morphol; 2009; 27(3): 757-764

14- Gil, M. I; Tomás-Barberán, F. A; Hess-Pierce, B; Holcroft, D. M. and Kader, A. A; Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and

processing. J Agric Food Chem; 2000; 48(10): 4581-4589.

15- Godt, J; Scheidig, F; Grosse-Siestrup, C; Esche, V; Brandenburg, P; Reich, A. and Groneberg, D. A; The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. J Occup Med Toxicol; 2006; 1(1): 22.

16- González-Weller, D; Karlsson, L; Caballero, A; Hernández, F; Gutiérrez, A; González-Iglesias, T; Marino, M. and Hardisson, A; Lead and cadmium in meat and meat products consumed by the population in Tenerife Island, Spain. Food Addit Contam; 2006; 23(8): 757-763.

17- Gupta, R. S; Gupta, E. S; Dhakal, B. K; Thakur, A. R. and Ahnn, J; Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. Mol. cells; 2004; 17(1): 132-139.

18- Hogervorst, J; Plusquin, M; Vangronsveld, J; Nawrot, T; Cuypers, A; Van Hecke, E; Roels, H. A; Carleer, R. and Staessen, J. A; House dust as possible route of environmental exposure to cadmium and lead in the adult general population. Environ Res; 2007; 103(1): 30-37.

19- Khansari, F. E; Ghazi-Khansari, M. and Abdollahi, M; Heavy metals content of canned tuna fish. Food Chem; 2005; 93(2): 293-296.

20- Klaassen, C. D. and Liu, J; Role of metallothionein in cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. Drug Metab Rev; 1997; 29(1-2): 79-102.

21- Kostial, K; Šimonović, I; Rabar, I; Blanuša, M. and Landeka, M; Age and intestinal retention of mercury and cadmium in rats. Environ Res; 1983; 31(1): 111-115.

22- Kuzmuk, K. N; Swanson, K. S; Tappenden, K. A; Schook, L. B. and Fahey Jr, G. C; Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. J Nutr; 2005; 135(8): 1940-1945.

23- Lee, C. J; Chen, L. G; Liang, W. L. and Wang, C. C; Anti-inflammatory effects of Punica granatum Linne in vitro and in vivo. Food Chem; 2010; 118(2): 315-322.

24- Lin, C. C; Hsu, Y. F; Lin, T. C. and Hsu, H. Y; Antioxidant and hepatoprotective effects of punicalagin and punicalin on acetaminophen-induced liver damage in rats. Phytother Res; 2001; 15(3): 206-212.

25- Lisunova, L; Tokarev, V. and Konstantinova, N; Physiological effect of cadmium on Japanese quail

(Coturnix japonica). Russ Agric Sci; 2008; 34(1): 58-60.

26- Liu, J; Qu, W. and Kadiiska, M. B; Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. Toxicol Appl Pharmacol; 2009; 238(3): 209-214.

27- Maleki, A. and Zarasvand, M. A; Heavy metals in selected edible vegetables and estimation of their daily intake in Sanandaj, Iran. Southeast Asian J Trop Med Public Health; 2008; 39(2): 335-40

28- Martelli, A; Rousselet, E; Dycke, C; Bouron, A. and Moulis, J. M; Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals. Biochimie; 2006; 88(11): 1807-1814.

29- Mittler, R; Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci; 2002; 7(9): 405-410.

30- Morales, A; Vicente-Sanchez, C; Sandoval, J. S; Egido, J; Mayoral, P; Arevalo, M; Fernandez-Tagarro, M; Lopez-Novoa, J. and Perez-Barriocanal, F; Protective effect of quercetin on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats is based on its antioxidant properties. Food Chem Toxicol; 2006; 44(12): 2092-2100.

31- Nair, A. R; DeGheselle, O; Smeets, K; Van Kerkhove, E. and Cuypers, A; Cadmium-induced pathologies: where is the oxidative balance lost (or not)?. I Int J Mol Sci; 2013; 14(3): 6116-6143.

32- Nwokocha, C. R; Owu, D. U; Nwokocha, M. I; Ufearo, C. S. and Iwuala, M. O; Comparative study on the efficacy of Allium sativum (garlic) in reducing some heavy metal accumulation in liver of wistar rats. Food Chem Toxicol; 2012; 50(2): 222-226.

33- Ozcan, M. M; Dursun, N. and Sağlam, C; Heavy metals bounding ability of pomegranate (Punica granatum) peel in model system. Int J Food Prop; 2011; 14(3): 550-556.

34- Pluske, J. R; Thompson, M. J; Atwood, C. S; Bird, P. H; Williams, I. H. and Hartmann, P. E; Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cows' whole milk after weaning. Br J Nutr.; 1996; 76(3): 409-422.

35- Rahimi, E. and Rokni, N; Measurement of cadmium residues in muscle, liver and kidney of cattle slaughtered in Isfahan abattoir using grafite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS): a preliminary study. IJVR; 2008; 9(2): 174-177.

36- Ramesh, B. and Satakopan, V; Antioxidant activities of hydroalcoholic

extract of Ocimum sanctum against cadmium induced toxicity in rats. Indian J Clin Biochem.; 2010; 25(3): 307-310.

37- Rani, A. U; Babu, D. K. and Obaiah, J; Effect of combinations of four trace elements on cadmium bioaccumulation in a few tissues of male albino rats. IJANS; 2010; 2(1): 66-69.

38- Reddy, M. K; Gupta, S. K; Jacob, M. R; Khan, S. I. and Ferreira, D; Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from Punica granatum L. Planta Med; 2007; 53(05): 461-467.

39- Renugadevi, J. and Prabu, S. M; Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. Toxicology; 2009; 256(1-2): 128-134.

40- Richardson, M. E. and Fox, M. S; Dietary cadmium and enteropathy in the Japanese quail: histochemical and ultrastructural studies. Lab. Invest.; (United States); 1974; 31(6).

41- Salar-Amoli, J. and Ali-Esfahani, T; Determination of hazardous substances in food basket eggs in Tehran, Iran: A preliminary study. Vet Res Forum; 2015; 6(2): 155–159.

42- Salati, S. and Moore, F; Assessment of heavy metal concentration in the Khoshk River water and sediment, Shiraz, Southwest Iran. Environ Monit Assess; 2010; 164(1-4): 677-689.

43- Sant'Ana, M; Moraes, R. and Bernardi, M; Toxicity of cadmium in Japanese quail: Evaluation of body weight, hepatic and renal function, and cellular immune response. Environ Res; 2005; 99(2): 273-277.

44- Shaikh, Z. A; Vu, T. T. and Zaman, K; Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. Toxicol Appl Pharmacol; 1999; 154(3): 256-263.

45- Singh, R; Chidambara Murthy, K. and Jayaprakasha, G; Studies on the antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel and seed extracts using in vitro models. J. Agric Food Chem; 2002; 50(1): 81-86.

46- Sinkakarimi, M.H.; Mansouri, B.; Azadi, N.A.; Maleki, A. and Davari, B.; Assessment of heavy metals in chicken meat distributed in Sanandaj, Iran, and calculating the food consumption risk. J Mazandaran Univ Med Sci; 2017; 26(146): 128-138.

47- Sreekumar, S; Sithul, H; Muraleedharan, P; Azeez, J. M. and Sreeharshan, S; Pomegranate fruit as a rich source of biologically active

compounds. BioMed research international; 2014; 686921, 12

48- Stohs, S. J; Bagchi, D; Hassoun, E. and Bagchi, M; Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. J Environ Pathol TOX; 2001; 20(2): 77-88

49- Teshfam, M; Gharagozlou, M; Salaramoli, J. and Hassanpour, H; Morphological alterations of the small intestine mucosa following oral administration of cadmium in broiler chickens. J. Appl. Anim. Res. 29(2006): 65-68

50- Thrall, M. A; Weiser, G; Allison, R. and Campbell, T. Veterinary hematology and clinical chemistry. John Wiley & Sons; 2012; 582-587

51- Tyokumbur, E. T; Evaluation of cadmium (Cd) in domestic chicken meat and offal and associated health risk assessment in Ibadan. IJPAZ; 2016; 4(2): 203-209

52- Van Bruwaene, R; Kirchmann, R. and Impens, R; Cadmium contamination in agriculture and zootechnology. Experientia; 1984; 40(1): 43-52.

53- Zhou, Y. J; Zhang, S. P; Liu, C. W. and Cai, Y. Q; The protection of selenium on ROS mediated-apoptosis by mitochondria dysfunction in cadmium-induced LLC-PK1 cells. Toxicol in Vitro; 2009; 23(2): 288-294.

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2019; 13(2): 57-69.

Evaluation of Protective Effects of ethanolic extract of *Punica granatum* peel against Oxidative Stress Following cadmium poisoning in *Japanese quail*

Kashmiri, A.[1]; Bahadoran[*], SH.[2]; Zamani-moghadam, A. K.[3]; Mohebbi, A. N.[2]

1. MSCS student of Poultry Hygiene and Diseases, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
2. Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
3. Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.

Received: 2 July 2018 ***Accepted:*** 9 December 2018

Summary

This study was conducted to investigate protective effects of ethanolic extract of *Punica granatum* peel against Oxidative stress following cadmium poisoning in *Japanese quail* in a completely randomized design with 4 with 3 replicates (10 birds in each replicate). The treatments were: 1. basal diet, 2. Basal diet + 50ppm cadmium (through drinking water), 3. Basal diet + ethanolic extract pomegranate peel 0.2%+50 ppm Cadmium (through drinking water), and 4. Basal diet + ethanolic extract pomegranate peel 0.2%+50 ppm Cadmium (through drinking water). At the end of the experiment, the level of cadmium in the muscles, Serum biochemical and growth factors weekly and intestinal morphology were measured by ICP-OES, auto-analyzer and by histology, respecity. The accumulation of cadmium in the muscles of the various groups showed a significant reduction ($P<0.05$) in the group receiving the ethanolic extract pomegranate peel 0.2%. There was no significant difference in AST, glucose, cholesterol, total protein between different treatments ($P>0.05$). Serum ALT levels were significantly lower in the group receiving 0.1% alcoholic extract of pomegranate peel compared to the cadmium group ($P<0.05$). Serum urea levels in the recipient groups of ethanolic extract was significantly lower than cadmium group ($P <0.05$). There were no significant differences ($P>0.05$) in growth factors ($P>0.05$) among different groups. In groups receiving extract, a significant increase in height and width of villous was observed ($P<0.05$). *Punica granatum* peel extract an additive in quail diet can reduce cadmium accumulation, protect against side effects of cadmium, and improve the performance of *Japanese quail*.

Keywords: Cadmium, Ethanolic extract, *Punica granatum peel*, Japanese quail, Biochemical parameters.

* Corresponding Author E-mail: bahadoran4@yahoo.com