Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 16, No.4, 2025, p. 555-570

The Combined Effect of Garlic (*Allium sativum*) and Turmeric (*Curcuma longa*) Extracts to Reduce the Adverse Effects of Aflatoxin B_1 in Rats

Hadi Sarir[1]*, Saeedeh Zakerian[2], Masood Didarkhah[3]

1- and 2- Associate Professor and - M.Sc. Graduate Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, respectively.
3- Assistant Professor, Faculty of Agriculture Sarayan, University of Birjand, Birjand, Iran
*Corresponding Author's Email: hsarir@birjand.ac.ir

Received: 29-06-2023
Revised: 16-10-2024
Accepted: 22-10-2024
Available Online: 22-10-2024

How to cite this article:
Sarir, H., Zakerian, S., & Didarkhah, M. (2025). The combined effect of garlic (*Allium sativum*) and turmeric (*Curcuma longa*) extracts to reduce the adverse effects of aflatoxin B_1 in rats. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(4), 555-570. (in Persian with English abstract).
http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.83186.1157

Introduction: Fungal toxins are also of considerable importance and are always placed next to plant pesticides and heavy metals. Mycotoxins are small molecules that are produced as secondary metabolites by filamentous fungi and yeasts. Aflatoxins, secondary metabolites of various *Aspergillus* spp, commonly contaminate a wide variety of tropical and subtropical food/feedstuffs. Chemically, aflatoxins are difuranocoumarin compounds and include B1, B2, G1, G2, M1, and M2. The removal of aflatoxins from contaminated food is a major problem in livestock and poultry nutrition and the pollution removal methods are based on the decomposition, destruction, inactivation, or removal of aflatoxins through biological, chemical, or physical methods. In recent years, the study of the effect of plants and their extracts and compounds on things such as reducing microbial growth and the effect on microorganisms has increased dramatically. The aim of this research is to investigate the effect of the combination of garlic and turmeric extract on the amount of plasma aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, the amount of triiodothyronine, thyroxine, total antioxidant capacity, and malondialdehyde in rats intoxicated with aflatoxin B1.

Materials and Methods: In this research, 64 male Wistar rats with an average body weight of 250-300 g were used to evaluate the synergistic effect of garlic and turmeric extract against the damage caused by aflatoxin B1 in the form of a completely randomized design as a factorial experiment (2×2×2). Eight groups were tested for 28 days in the animal dissection laboratory of the Faculty of Agriculture of Birjand University, observing all ethical considerations. This study aimed to determine the synergistic effect of garlic and turmeric extracts for possible protection against injury induced by aflatoxin B_1 (AFB_1). Rats were divided into eight groups and treated for 28 days including control (0.2 ml sterile distilled water orally), AFB_1 (100 µg/kg BW orally), garlic extract (GE) (50 mg/kg BW orally), Turmeric extract (TE) (100 mg/kg BW orally), GE plus TE, AFB_1 plus GE, AFB_1 plus TE, AFB_1 plus GE and TE. At the end of the treatment period, blood samples were collected for biochemical study.

Results and Discussion: Daily administration of aflatoxin B1 at a dose of 100 mg/kg body weight for 28 days resulted in increased levels of AST, ALT, ALP, total bilirubin, and malondialdehyde, along with decreased total antioxidant capacity, T3 (triiodothyronine), and T4 (thyroxine). The use of garlic extract (GE), turmeric extract (TE), and their combination showed a positive effect in mitigating aflatoxin B1-induced toxicity. These

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.83186.1157

treatments significantly reduced AST, ALP, total bilirubin, and malondialdehyde levels while significantly increasing total antioxidant capacity and T3 levels.Although GE and TE individually did not show significant effects on the measured parameters, their combination was more effective. Notably, the combination of GE and TE led to a significant increase in T4 levels and a significant decrease in ALT levels compared to the aflatoxin B1 control group. These findings suggest that the combination of garlic and turmeric extracts may have a synergistic protective effect against aflatoxin B1 toxicity. In examining the ALP factor, there was a statistically significant difference between the treatments of garlic or turmeric extract and the combination of these two extracts. One of the possible protective mechanisms of these plants is their antioxidant property, which prevents the activity of free radicals produced by aflatoxin B1.

Conclusion: The results of the present study indicate that the use of garlic extract at the rate of 50 mg/kg of body weight, turmeric extract at the rate of 100 mg/kg of body weight, and their combination reduces the level of toxicity caused by aflatoxin B1. The use of garlic, turmeric extract, and their combination improves liver function indicators and reduces liver enzymes such as AST, ALT, ALP, and total bilirubin. These results show that the extract of garlic, turmeric, and their combination have a protective effect on the liver. The use of turmeric extract, garlic, and the combination of garlic and turmeric extract in the absence of aflatoxin B1 intoxication did not affect the measured variables. In general, the combination of GE and TE may have a synergistic effect in reducing the adverse effects of AFB1.

Key words: Aflatoxin B_1, Garlic, Malondialdehyde, Thyroid hormones, Turmeric

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۵۷۰-۵۵۵

اثر ترکیبی عصاره سیر (*Allium sativum*) و زردچوبه (*Curcuma longa*) بر کاهش اثرات سوء ناشی از آفلاتوکسین B_1 در موش‌های صحرایی

هادی سریر[1*]، سعیده ذاکریان[2]، مسعود دیدارخواه[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۱

چکیده

این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثر هم‌افزایی عصاره سیر و زردچوبه در برابر آسیب ناشی از آفلاتوکسین B_1 روی ۶۴ سر موش صحرایی نر ۱۰-۱۲ هفته، با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به‌صورت آزمایش فاکتوریل (۲ × ۲ × ۲) در هشت گروه و به‌مدت ۲۸ روز انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شاهد (۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به‌صورت خوراکی)، ۲- آفلاتوکسین B_1 (۱۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۳- عصاره سیر (۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۴- عصاره زردچوبه (۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۵- عصاره سیر همراه با عصاره زردچوبه، ۶- آفلاتوکسین B_1 همراه با عصاره زردچوبه، ۷- آفلاتوکسین B_1 همراه با عصاره سیر، ۸- آفلاتوکسین B_1 همراه با عصاره سیر و زردچوبه بودند. در تمام گروه‌ها، آفلاتوکسین و عصاره‌ها به‌صورت خوراکی داده شد. نتایج نشان داد که استفاده از عصاره زردچوبه، سیر و ترکیب آن‌ها بدون آفلاتوکسین اثر معنی‌داری بر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده نداشت. آفلاتوکسین B_1 موجب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های کبدی AST (Aspartate aminotransferase)، ALT (Alanine transaminase)، ALP (Alkaline phosphatase)، بیلی‌روبین تام، مالون‌دی‌آلدهید و کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، T_3 (تری یدوتیرونین) و T_4 (تیروکسین) نسبت به گروه شاهد دارای آفلاتوکسین شد. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره سیر و زردچوبه اثر بالقوه‌ای بر کاهش سطوح ALP، ALT و افزایش سطح T_4 در مقایسه با گروه‌های مسموم شده دریافت‌کننده عصاره سیر یا زردچوبه به‌تنهایی دارد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین B_1، زردچوبه، سیر، مالون‌دی‌آلدهید، هورمون‌های تیروئیدی

مقدمه

آفلاتوکسین یک سم قارچی با سمیت بالا است که اغلب توسط *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تولید می‌شود و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آلوده‌کنندگان محصولات کشاورزی، مسمومیت و آفلاتوکسیکوزیس مطرح است. آفلاتوکسیکوزیس، ناشی از خوردن مواد غذایی حاوی سم آفلاتوکسین است و این سم در گونه‌های مختلف حیوانات و انسان می‌تواند سبب آثار زیان‌بار شود. آثار سم‌زایی، جهش‌زایی، سرطان‌زایی، ناقص‌زایی و سرکوب‌گر ایمنی از جمله مهم‌ترین این عوارض است (Yarru *et al.*, 2009).

بسیاری از مواد جاذب تجاری به‌طور گسترده در خوراک برای اتصال به آفلاتوکسین و جلوگیری از جذب آن در دستگاه گوارش حیوان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Denli *et al.*, 2009). مزیت عمده مواد جاذب، هزینه کم، ایمنی و سهولت در افزودن آن‌ها به خوراک دام می‌باشد (Manafi *et al.*, 2011). ازآن‌جاکه پراکسیداسیون لیپیدی نقش عمده‌ای در سمیت آفلاتوکسین دارد، اثر محافظتی آنتی‌اکسیدان‌ها در برابر آفلاتوکسیکوزیس امکان‌پذیر است (Yarru *et al.*, 2009).

در سال‌های اخیر، مطالعه روی اثر گیاهان و عصاره‌ها و ترکیبات آن‌ها بر مواردی چون کاهش رشد میکروبی و تأثیر بر ریزجانداران به‌نحو چشمگیری افزایش یافته است. علت این رویکرد را می توان برخورداری از منشأ طبیعی و نبود تقریبی عوارض جانبی نامطلوب در انسان و نیز در محیط زیست عنوان نمود. در میان گیاهان دارویی، سیر (*Allium sativum*) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان شناخته شده است که خاصیت ضدباکتریایی آن در سال ۱۸۵۸ توسط پاستور

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۳- استادیار، آموزشکده کشاورزی سرایان، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: hsarir@birjand.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.83186.1157

گزارش شد. همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی (Glick *et al.*, 1956) و مهارکننده رشد سلول‌های سرطانی (Gross *et al.*, 1988) گزارش شده است.

گزارش‌ها نشان داده است که ترکیبات ارگانوسولفور سیر (آجوئن و دی آلیل سولفید) آنتی‌موتاژنیک هستند و به‌طور بالقوه ضدسرطانی می‌باشند (Tadi *et al.*, 1991). مصرف جیره‌های حاوی پودر سیر، بروز و اندازه کانون‌های GST-P کبدی را در موش‌های صحرایی آلوده شده با آفلاتوکسین B_1 به‌خصوص در زمان استفاده از بالاترین سطوح آلیسین، کاهش می‌دهد (Berges *et al.*, 2004). افزایش محتوای آلیسین پودر سیر با کاهش متناسب در تعداد و مساحت کانون‌های پری نئوپلاستیک ایجاد شده به‌وسیله آفلاتوکسین B_1 همراه است (Berges *et al.*, 2004).

زردچوبه (*Curcuma longa*) گیاهی علفی و پایا از خانواده زنجبیل است که در نواحی شرقی آسیا (هندوستان و چین) می‌روید. ریزوم زردچوبه حاوی ۵-۳ درصد پیگمان‌های زردرنگ (کورکومینوئید شامل کورکومین و مشتقات آن) است (Gaby *et al.*, 1999). کورکومین یا دی فرولیل متان که عامل ایجاد رنگ زرد در پودر زردچوبه است، بخش فعال بیولوژیکی آن بوده و یک آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب بسیار قوی می‌باشد (Babu and Srinivasan, 1978). از مهم‌ترین خواص درمانی ذکر شده برای زردچوبه می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی (Ramsewak, 2000) و حفاظت کبدی (Luper, 1999) آن اشاره نمود. گزارش‌ها نشان داده‌اند که کورکومینوئیدها یا رنگدانه‌های زرد موجود در پودر ریشه و ریزوم خشک شده زردچوبه دارای اثر محافظتی در برابر آفلاتوکسین B_1 است (Yarru *et al.*, 2009).

بنا به دانش ما تاکنون پژوهشی در رابطه با تأثیر مصرف همزمان عصاره سیر و زردچوبه بر میزان آنزیم‌های کبدی از جمله AST، ALT و ALP و بیلی‌روبین تام، هورمون‌های تیروئیدی از جمله T3 و T4، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدهید ناشی از آفلاتوکسین B_1 انجام نشده است. لذا هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر ترکیب عصاره سیر و زردچوبه بر میزان آسپارتات‌آمینوترنسفراز، آلانین‌آمینوترنسفراز، آلکالین فسفاتاز، میزان تری‌یدوتیرونین، تیروکسین، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدهید در موش‌های صحرایی آلوده شده با آفلاتوکسین B_1 بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۶۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰-۱۲ هفتگی با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم به‌منظور ارزیابی اثر هم‌افزایی عصاره سیر و زردچوبه در برابر آسیب ناشی از آفلاتوکسین B_1 در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به‌صورت آزمایش فاکتوریل (۲ × ۲ × ۲) در هشت گروه به‌مدت ۲۸ روز با رعایت کلیه ملاحظات اخلاقی در آزمایشگاه تشریح دام دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند مورد آزمایش قرار گرفتند.

تیمارهای آزمایشی به‌ترتیب شامل:

گروه ۱- شاهد (۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به‌صورت خوراکی)، گروه ۲- آفلاتوکسین B_1 (۱۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی)، گروه ۳- عصاره سیر (۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی)، گروه ۴- عصاره زردچوبه (۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی)، گروه ۵- عصاره سیر همراه با عصاره زردچوبه (خوراکی)، گروه ۶- آفلاتوکسین B_1 همراه با عصاره زردچوبه (خوراکی)، گروه ۷- آفلاتوکسین B_1 همراه با عصاره سیر (خوراکی)، گروه ۸- آفلاتوکسین B_1 همراه با عصاره سیر و زردچوبه (خوراکی). در تمامی مراحل آزمایش با حیوانات براساس قوانین بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رفتار شد (National Institutes of Health, 1985).

ابتدا قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* سویه (IR111)، (تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) در محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار تکثیر شد (Shotwell *et al.*, 1966; West *et al.*, 1973). سپس قارچ تولید شده به‌منظور تولید سم به ظرف‌های حاوی برنج منتقل و پس از رشد قارچ، برنج‌ها جهت خالص‌سازی سم آفلاتوکسین به‌روش افضلی (Afzali, 1998) مورد استفاده قرار گرفت و توسط کروماتوگرافی لایه نازک میزان سم تولیدی اندازه‌گیری شد. غلظت سم B_1 تولیدی در دانه برنج، ۶۵۵۵۲ نانوگرم بر گرم بود.

موش‌های صحرایی براساس میانگین وزنی و به‌طور تصادفی در جایگاه‌های مخصوص، تحت شرایط کنترل شده، ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۳ ± ۲۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از یک هفته سازگاری با شرایط محیط، موش‌های صحرایی توزین، نشانه‌گذاری و به‌صورت تصادفی بین تیمارها تقسیم شدند. حیوانات به‌طور آزادانه به آب آشامیدنی شهر بیرجند و غذای مخصوص (به‌فرم پلت، تهیه شده از شرکت خوراک جوانه خراسان) در طول مدت بررسی دسترسی داشتند. ترکیب شیمیایی جیره پایه آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. جهت القاء آسیب‌های کبدی در موش‌ها از سم آفلاتوکسین B_1 به‌میزان ۱۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه و به‌مدت ۲۸ روز استفاده شد. برای درمان از عصاره سیر تهیه شده و به‌میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن و عصاره زردچوبه تهیه شده به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد که تمامی مواد روزانه و به‌صورت گاواژ

معدی به گروه‌های مربوطه داده شد. انتخاب دوزهای مصرفی با بررسی پژوهش‌های قبلی صورت گرفت (Rezaei-Nasr, 2014 ; Moghadam *et al*., 2012; Yener *et al*., 2009; El-Agamy, 2010; Pozzi *et al*., 2001).

حیوانات پس از پایان آزمایش در روز بیست و هشتم به‌مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگهداری شدند. سپس توسط دی‌اتیل-اتر بی‌هوش شدند و کالبدگشایی روی آن‌ها انجام شد و از قلب آن‌ها توسط سرنگ‌های هپارینه خون‌گیری به عمل آمد. سپس نمونه‌ها با دستگاه سانتریفیوژ در ۳۰۰۰ دور به‌مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما به‌منظور تعیین میزان آنزیم‌های کبدی از جمله آسپارتات آمینوترنسفراز، آلانین آمینوترنسفراز، آلکالین فسفاتاز و بیلی‌روبین تام، هورمون‌های تیروئیدی از جمله تری یدوتیرونین و تیروکسین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و مالون‌دی‌آلدهید جدا شد. برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین تام از کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون استفاده گردید. آزمایش‌های مربوطه در محل آزمایشگاه تغذیه دام دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Gesan chem, 200) انجام شد.

هورمون‌های تری‌یدوتیرونین و تیروکسین به‌روش کمی‌لومینسانس و توسط دستگاه لیایزون (Italy Liaison) تحت لیسانس شرکت دیاسورین در آزمایشگاه بیمارستان امام رضا (ع) بیرجند اندازه‌گیری شدند.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما با استفاده از آزمون FRAP و دستگاه اسپکتروفتومتر مدل CECIL در دانشگاه علوم پزشکی بیرجند اندازه‌گیری شد. این روش براساس توانایی پلاسما در احیای یون‌ها Fe^{+3}(فریک) به Fe^{+2} (فرو) در حضور ماده‌ای به‌نام TPTZ استوار است و کمپلکس Fe^{+2}–TPTZ، کمپلکس آبی‌رنگ با ماکزیمم جذب ۵۹۳ نانومتر است که میزان قدرت احیاکنندگی پلاسما با افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری پتانسیل آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای موش‌ها از روش بنزی و استرین (Benzie and Strain, 1996) استفاده شد. اصل این روش مبتنی بر کاهش کمپلکس فریک تری پیریدیل تری ازین به‌فرم فروس آن است که شکل رنگی در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها است. فعالیت احیاکنندگی نمونه‌های پلاسما با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول آهن در لیتر پلاسما محاسبه شد.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید در دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شد (Satoh, 1978) تحت شرایط اسیدی و دمای بالا یک مولکول MDA با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید (TBA) واکنش داده و مجموعه‌ای (MDA-TBA 2) با رنگ صورتی تشکیل می‌دهد که شدت رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. میزان مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول تیوباربیتوریک اسید در لیتر پلاسما محاسبه شد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی جیره پایه آزمایشی

Table 1- The chemical composition of the basal diet

ترکیبات شیمیایی مواد مغذی محاسبه شده Chemical composition (calculated)	پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم) ME (Mcal/kg)	چربی خام (درصد) Crude fat (%)	فیبر خام (درصد) Crude fiber (%)	خاکستر (درصد) Ash (%)	نمک (درصد) Salt (%)	متیونین (درصد) Methionine (%)	لیزین (درصد) Lysine (%)	نسبت کلسیم به فسفر (درصد) Ca/p (%)
مقدار Amount	20-21	2.75	3-2	6-5	4	0.05	0.05	0.05	1.2-5.5

تجزیه آماری

این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به‌صورت آزمایش فاکتوریل (۲ × ۲ × ۲) با آفلاتوکسین در دو سطح (دارای ۱۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه و بدون آن)، عصاره زردچوبه در دو سطح (دارای ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی و بدون آن) و عصاره سیر در دو سطح (دارای ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی و بدون آن) با هشت تیمار و هشت تکرار در هر تکرار اجرا شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود:

مدل (۱)

$$Y_{ijkl} = \mu + Ai + Gj + Tk + Ai \times Gj + Ai \times Tk + Gj \times Tk + Ai \times Gj \times Tk + Eijkl$$

که در آن، Yijkl: اثر عصاره زردچوبه و سیر بر اثرات سوء ناشی از آفلاتوکسین، μ: میانگین، Ai: آفلاتوکسین، Gj: عصاره سیر، Tk: عصاره زردچوبه، Ai × Gj: اثر متقابل بین آفلاتوکسین و عصاره سیر، Ai × Tk: اثر متقابل بین آفلاتوکسین و عصاره زردچوبه، Gj × Tk: اثر متقابل بین عصاره سیر و زردچوبه، Ai × Gj × Tk: اثر متقابل بین آفلاتوکسین، عصاره سیر و زردچوبه و Eijkl: باقی‌مانده بودند.

تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS (۲۰۰۵، نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی در سطح پنج درصد

انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به عملکرد آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین تام

نتایج مربوط به اثرات آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترنسفراز، آسپارتات آمینوترنسفراز، آلکالین فسفاتاز و بیلی‌روبین تام در جدول ۲ نشان داده شده است.

آلانین آمینوترنسفراز

در بررسی اثرات متقابل سه طرفه، در گروه موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 سطح پلاسمای آنزیم آلانین‌آمینوترنسفراز در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت ($P< ۰/۰۵$). درمان موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 با عصاره آبی–الکلی زردچوبه و عصاره آبی سیر، مقدار آنزیم ALT پلاسما را کاهش داد که از نظر آماری معنی‌دار نبود، جالب اینکه درمان با ترکیب عصاره سیر و زردچوبه موجب کاهش معنی‌دار ALT در مقایسه با گروه شاهد آفلاتوکسین B_1 شد ($P< ۰/۰۵$). در واقع، استفاده از ترکیب عصاره سیر و زردچوبه به همراه هم باعث هم‌افزایی اثر درمانی در مقایسه با عصاره سیر یا زردچوبه به‌تنهایی گردید. اثر کاهش سطح ALT در گروه‌های درمانی عصاره سیر و عصاره زردچوبه تقریباً مشابه بود.

در بررسی اثرات متقابل دوطرفه، آفلاتوکسین B_1 موجب افزایش معنی‌دار ALT در مقایسه با گروه شاهد سالم شد و درمان با عصاره سیر موجب کاهش معنی‌دار ALT در مقایسه با گروه شاهد آفلاتوکسین B_1 شد ($P< ۰/۰۵$).

آنزیم ALT که واسطه تبدیل آلانین به پیروات و گلوتامات است، مختص کبد و یک شاخص مناسب آسیب کبدی است. افزایش سطح پلاسمای ALT به آسیب یکپارچگی ساختاری کبد نسبت داده شده است، چراکه این آنزیم سیتوپلاسمی بوده و در نتیجه تجزیه خودبه‌خودی یا نکروز سلولی به پلاسما و پس از آسیب سلولی به گردش خون آزاد می‌شود (Recknagel *et al*., 1989).

علاوه‌براین افزایش این آنزیم نشان‌دهنده اختلال فیلتراسیون و عملکرد سلولی غشاء سلولی کبد می‌باشد (Drotman and Lawhorn, 1978). افزایش ALT می‌تواند ناشی از نکروز سلولی، تغییرات در نفوذپذیری غشاء سلولی و یا اختلال در دفع صفرا (انسداد مجاری صفراوی) باشد (Pozzi *et al*., 2001). اثرات محافظتی عصاره سیر و زردچوبه در برابر سمیت کبدی آفلاتوکسین B_1 ممکن است به‌دلیل محافظت غشاء سلول و ممانعت از نشت آنزیم‌های داخل آن باشد (Thabrew *et al*., 1987). کاهش قابل توجهی در میزان ALT نشان‌دهنده تعدیل کردن ایمنی سلول‌های کبدی در گروه‌های درمانی می‌باشد (Drotman and Lawhorn, 1978).

نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج پوزی و همکاران (Pozzi *et al*., 2001)، متوریا و ورما (Mathuria and Verma, 2008)، ال–اگامی (El-Agamy, 2010)، قدسی و بغشانی (Ghodsi and Baghshani, 2011)، نصر (Nasr, 2014)، شارما و همکاران (Sharma *et al*., 2011)، السید و الکامی (Elsaid and Elkomy, 2006) و رضایی مقدم و همکاران (Rezaei-Moghadam *et al*., 2012) مطابقت داشت. پوزی و همکاران (Pozzi *et al*., 2001) نشان دادند که استفاده از ۷۲ میکروگرم آفلاتوکسین به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در موش صحرایی مقادیر پلاسمای ALT را به‌طور معنی‌دار ($P< ۰/۰۵$) افزایش می‌دهد.

آسپارتات آمینوترنسفراز

نتایج این تحقیق نشان داد که در گروه موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1، سطح پلاسمای آنزیم آسپارتات آمینوترنسفراز در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت ($P< ۰/۰۵$). درمان موش‌های مسموم شده توسط آفلاتوکسین B_1 با عصاره آبی–الکلی زردچوبه و عصاره آبی سیر، میزان آنزیم AST پلاسما را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P<۰/۰۵$). علاوه‌براین ترکیب این دو عصاره نیز موجب کاهش AST گردید که نسبت به موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 کاهش معنی‌داری داشت ($P< ۰/۰۵$).

اثر کاهش سطح AST در گروه‌های درمانی با عصاره سیر و عصاره زردچوبه تقریباً مشابه بود. در بررسی اثرات متقابل دوطرفه، استفاده از ترکیب عصاره سیر و زردچوبه موجب کاهش معنی‌دار AST در مقایسه با گروه شاهد سالم شد ($P< ۰/۰۵$).

افزایش سطح پلاسمای AST صدمات کبدی شبیه به هپاتیت ویروسی، انفارکتوس و صدمات عضلانی را نشان می‌دهد (Drotman and Lawhorn, 1978). در این تحقیق، آفلاتوکسین B_1 باعث افزایش معنی‌دار مقادیر پلاسمای آنزیم آسپارتات آمینوترنسفراز در مقایسه با گروه شاهد سالم شد. تغییرات معنی‌دار در مقادیر پلاسمای پارامتر مذکور متعاقب تیمار با آفلاتوکسین B_1 نشان‌دهنده آسیب کبد می‌باشد (Pozzi *et al*., 2001). گروهی از پژوهشگران گزارش کردند که استفاده از ۷۲ میکروگرم آفلاتوکسین به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در موش صحرایی، مقادیر پلاسمای AST را افزایش می‌دهد. افزایش AST می‌تواند ناشی از نکروز سلولی، تغییرات در نفوذپذیری غشاء سلولی و یا اختلال در دفع صفرا (انسداد مجاری صفراوی) باشد (Pozzi *et al*., 2001).

نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج متوریا و ورما (Mathuria and Verma, 2008)، ال–اگامی (El-Agamy, 2010)، نصر (Nasr, 2014)، شارما و همکاران (Sharma *et al*., 2011)، السید و

الکامی (Elsaid and Elkomy, 2006) و رضایی مقدم و همکاران (Rezaei-Moghadam *et al*., 2012) مطابقت داشت.

شارما و همکاران (Sharma *et al*., 2011) نشان دادند که میزان آنزیم AST با گنجاندن ۲ میکروگرم آفلاتوکسین B_1 به‌ازای هر ۳۰ گرم وزن بدن در جیره موش‌های سوری به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و با مصرف عصاره گودوچی، آنزیم مذکور به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و تقریباً به حالت عادی برمی‌گردد.

آلکالین فسفاتاز

در بررسی اثرات متقابل سه طرفه، در گروه موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1، سطح پلاسمای آنزیم آلکالین فسفاتاز در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت ($P<$ ۰/۰۵). درمان موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 با عصاره آبی–الکلی زردچوبه و عصاره آبی سیر، میزان آنزیم ALP پلاسما را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P<$۰/۰۵). علاوه‌براین ترکیب این دو عصاره نیز موجب کاهش ALP گردید که نسبت به موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 کاهش معنی‌داری داشت ($P<$ ۰/۰۵). جالب اینکه میان تیمارهای درمانی عصاره سیر یا زردچوبه با ترکیب این دو عصاره اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<$۰/۰۵). در واقع، استفاده از ترکیب عصاره سیر و زردچوبه به همراه هم باعث هم‌افزایی اثر درمانی در مقایسه با عصاره سیر یا زردچوبه به‌تنهایی گردید.

ترکیب عصاره سیر و زردچوبهٔ سطح پلاسمای آنزیم ALP را نسبت به عصاره سیر یا زردچوبه به‌تنهایی از نظر عددی به‌میزان بیشتری کاهش داد، ولی این کاهش معنی‌دار نبود ($P<$۰/۰۵). در بررسی اثرات متقابل دوطرفه در جدول ۲، استفاده از ترکیب عصاره سیر و زردچوبه موجب کاهش معنی‌دار ALP در مقایسه با گروه شاهد سالم شد ($P<$۰/۰۵).

افزایش آنزیم ALP می‌تواند ناشی از نکروز سلولی، تغییرات در نفوذپذیری غشاء سلولی و یا اختلال در دفع صفرا (انسداد مجاری صفراوی) و اختلال فیلتراسیون و عملکرد سلولی غشاء سلولی کبد باشد (Drotman and Lawhorn, 1978). اثرات محافظتی عصاره سیر و زردچوبه در برابر سمیت کبدی آفلاتوکسین B_1 ممکن است به‌دلیل محافظت غشاء سلول و ممانعت از نشت آنزیم‌های داخل آن و تعدیل کردن ایمنی در گروه‌های درمانی باشد (Thabrew *et al*., ۱۹۸۷; Drotman and Lawhorn, 1978).

نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج پوزی و همکاران (Pozzi *et al*., 2001)، قدسی و بغشانی (Ghodsi and Baghshani, 2011)، شارما و همکاران (Sharma *et al*., 2011) و رضایی مقدم و همکاران (Rezaei-Moghadam *et al*., 2012) مطابقت داشت.

پوزی و همکاران (Pozzi *et al*., 2001) نشان دادند که استفاده از ۷۲ میکروگرم آفلاتوکسین به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در موش صحرایی، مقادیر پلاسمای ALP را افزایش می‌دهد.

قدسی و بغشانی (Ghodsi and Baghshani, 2011) نشان دادند که ALP افزایش یافته در اثر سیانید، در گروه پودر سیر + سیانید به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد ($P<$۰/۰۵) و نزدیک به حالت طبیعی می‌شود. شارما و همکاران (Sharma *et al*., 2011) نشان دادند که میزان آنزیم ALP با گنجاندن ۲ میکروگرم آفلاتوکسین B_1 به‌ازای هر ۳۰ گرم وزن بدن در جیره موش‌های سوری به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و با مصرف عصاره گودوچی آنزیم مذکور به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و تقریباً به حالت عادی برمی‌گردد.

بیلی‌روبین تام

در بررسی اثرات متقابل سه طرفه، در گروه موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1، سطح پلاسمای بیلی‌روبین تام در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت ($P<$ ۰/۰۵). درمان موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 توسط عصاره آبی–الکلی زردچوبه، عصاره آبی سیر و ترکیب آن‌ها، مقدار بیلی‌روبین تام پلاسما را به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P<$۰/۰۵).

یکی از محصولات تجزیه هموگلوبین، بیلی‌روبین است. میزان بیلی‌روبین با عملکرد سلول‌های کبدی مرتبط است (Muriel *et al*., 1992). در این تحقیق، آفلاتوکسین B_1 باعث افزایش معنی‌دار مقادیر پلاسمای بیلی‌روبین تام در مقایسه با گروه شاهد سالم شد. اثرات محافظتی عصاره سیر و زردچوبه در برابر سمیت کبدی آفلاتوکسین B_1 ممکن است ناشی از تعدیل کردن ایمنی سلول‌های کبدی در گروه‌های درمانی باشد (Drotman and Lawhorn, 1978). علاوه‌براین ممکن است به‌دلیل محافظت غشاء سلول و ممانعت از نشت آنزیم‌های داخل آن، کاهش قابل توجهی در میزان بیلی‌روبین تام مشاهده شود (Thabrew *et al*., 1987).

نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج نصر (Nasr, 2014)، السید و الکامی (Elsaid and Elkomy, 2006) و رضایی مقدم و همکاران (Rezaei-Moghadam *et al*., 2012) مطابقت داشت.

السید و الکامی (Elsaid and Elkomy, 2006) گزارش کردند که مقادیر پلاسمای بیلی‌روبین تام افزایش یافته در اثر سیانید در تیمار سیر + سیانید کاهش می‌یابد. تیمار سیر + سیانید + تیوسولفات در مقایسه با تیمار سیر + سیانید، مقادیر پلاسمای بیلی‌روبین تام را به‌میزان بیشتری بهبود می‌بخشد.

جدول ۲- مقایسه آماری میانگین سطوح ترکیبی آفلاتوکسین B_1، زردچوبه و سیر بر میزان آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین تام

Table 2- Statistical comparison of average combined levels of aflatoxin B_1, turmeric extract and garlic extract on liver enzymes and total bilirubin

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			فراسنجه‌ها Parameters			
میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن mg/kg body weight			آلانین آمینوترنسفراز ALT[4] (U/l)	آسپارتات آمینوترنسفراز AST[5] (U/l)	آلکالین فسفاتاز ALP[6] (U/l)	بیلی‌روبین تام Total Bilirubin (mg/dl)
اثرات متقابل دو طرفه Two-way interactions						
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره زردچوبه Turmeric extract				
0		0	84.57	142.67 ^{b}	502.93 ^{c}	0.34
0		100	82.00	135.96 ^{b}	421.25 ^{c}	0.33
100		0	107.31	183.61 ^{a}	958.56 ^{a}	0.38
100		100	92.33	145.05 ^{b}	592.37 ^{b}	0.33
	SEM[1]		3.61	6.50	22.15	0.01
	P-value[2]		0.0917	0.0174	0.0001	0.0865
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره سیر Turmeric extract				
0		0	83.16 ^{b}	138.45 ^{b}	440.06 ^{c}	0.34
0		50	83.41 ^{b}	140.19 ^{b}	484.12 ^{c}	0.33
100		0	107.50 ^{a}	181.58 ^{a}	981.56 ^{a}	0.38
100		50	92.14 ^{b}	147.08 ^{b}	569.36 ^{b}	0.33
	SEM		3.61	6.50	22.15	0.01
	P-value		0.0352	0.0072	0.0001	0.2233
عصاره سیر Garlic extract	×	عصاره زردچوبه Turmeric extract				
0		0	100.16	179.02 ^{a}	860.56 ^{a}	0.38
0		100	90.50	141.01 ^{b}	561.06 ^{c}	0.33
50		0	91.72	147.27 ^{b}	600.93 ^{b}	0.33
50		100	83.83	140.00 ^{b}	452.56 ^{d}	0.32
	SEM		3.61	6.50	22.15	0.01
	P-value		0.8076	0.0216	0.0012	0.1293
اثرات متقابل سه طرفه Three -way interactions						
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره سیر Garlic extract × عصاره زردچوبه Turmeric extract				
0		0 0	84.32 ^{b}	140.07 ^{b}	456.62 ^{d}	0.34^{b}
0		0 100	82.00 ^{b}	134.82 ^{b}	423.50 ^{d}	0.34^{b}
0		50 0	84.82 ^{b}	143.28 ^{b}	549.25 ^{cd}	0.33^{b}
0		50 100	82.00 ^{b}	137.11 ^{b}	419.00 ^{d}	0.32^{b}
100		0 0	116.00 ^{a}	215.97 ^{a}	1264.5 ^{a}	0.42^{a}
100		0 100	99.00 ^{ab}	147.20 ^{b}	698.62 ^{b}	0.33^{b}
100		50 0	98.62 ^{ab}	151.26 ^{b}	652.62 ^{bc}	0.34^{b}
100		50 100	85.66 ^{b}	142.90 ^{b}	486.12 ^{d}	0.33^{b}
	SEM		5.11	9.19	31.33	0.01
	P-value		0.0001	0.0001	0.0001	0.0040

[۱] اعداد با حروف متفاوت در هر ستون با هم تفاوت معنی دار دارند (P<۰/۰۵).

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌دار شدن

[1].Means within same column with different superscripts differ significantly (P<0.05) .

[4]. Alanine aminotransferase

[5]. Aspartate aminotransferase

[6]. Alkaline phosphatase

قدسی و بغشانی (Ghodsi and Baghshani, 2011) نشان دادند که بیلی‌روبین تام افزایش یافته در اثر سیانید، در گروه پودر سیر + سیانید به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (P<۰/۰۵) و نزدیک به حالت طبیعی می‌شود. در تحقیقی که رضایی مقدم و همکاران (Rezaei-Moghadam *et al*., 2012) روی اثر عصاره زردچوبه به‌میزان ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش صحرایی بر میزان بیلی‌روبین تام به‌مدت یک ماه انجام دادند، نشان داده شد که میزان بیلی‌روبین تام در گروه تحت درمان با زردچوبه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌طور معنی‌داری در سطح (P< ۰/۰۵) کاهش پیدا کرد.

نتایج مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و مالون‌دی‌آلدهید

نتایج مربوط به اثرات متقابل و اصلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما و مالون‌دی‌آلدهید در جدول ۳ نشان داده شده است.

مالون‌دی‌آلدهید

در بررسی اثرات متقابل سه طرفه، در موش‌های گروه مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 میزان مالون‌دی‌آلدهید پلاسما در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت (P<۰/۰۵). درمان موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 با عصاره آبی–الکلی زردچوبه و عصاره آبی سیرُ میزان مالون‌دی‌آلدهید را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P< ۰/۰۵). علاوه‌براین ترکیب این دو عصاره نیز موجب کاهش مالون‌دی‌آلدهید گردید که نسبت به موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 کاهش معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵).

اثر کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید در گروه‌های درمانی عصاره سیر و عصاره زردچوبه تقریباً مشابه بود. اثر کاهشی ترکیب عصاره سیر و زردچوبه بر میزان مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با عصاره سیر یا زردچوبه به‌تنهایی به لحاظ عددی بیشتر بود، ولی این کاهش معنی دار نبود (P< ۰/۰۵). در بررسی اثرات متقابل دوطرفه، استفاده از ترکیب عصاره سیر و زردچوبه موجب کاهش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با گروه شاهد سالم شد (P< ۰/۰۵).

در موش‌های مسموم شده توسط آفلاتوکسین B_1، رادیکال‌های آزاد از طریق اثر بر لیپیدهای غشایی و اسیدهای چرب غیر اشباع شبکه داخل سیتوپلاسمی و پراکسیده کردن آن‌ها سبب تشکیل پراکسیدهای لیپیدی مانند مالون‌دی‌آلدهید می‌شوند و این حالت سبب می‌شود که غشاء یکپارچگی خود را از دست داده و در نتیجه، منجر به آسیب کبدی شود. افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید منجر به ضعف سازوکارهای تدافعی آنتی‌اکسیدانی شده و در نتیجه، از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد جلوگیری نخواهد شد (Naik, 2003). روند افزایشی این شاخص به‌دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها و همچنین تولید آلدهیدها از محصولات ثانویه حاصل از تجزیه‌ی هیدروپراکسیدها است (Gomes *et al*., 2003).

مطالعه حاضر، کاهش معنی‌دار در محتوای MDA را در گروه تغذیه شده با عصاره زردچوبه نشان داد. این نشان می‌دهد که وضعیت آنتی‌اکسیدانی میزبان می‌تواند با مصرف عصاره زردچوبه از طریق جیره افزایش یابد. کاهش میزان تیوباربیتیوریک اسید ممکن است به‌دلیل کاهش هیدروپراکسیدها و واکنش بین مالون‌دی‌آلدهید و پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه یا گلیکوژن باشد (Gomes *et al*., 2003).

توجه به این نکته مهم است که طبق گزارش ابورگ و همکاران (Auburg *et al*., 1993)، ممکن است مقدار تیوباربیتیوریک اسید نشان دهنده درجه واقعی اکسید شدن چربی‌ها نباشد، به‌ویژه زمانی‌که مالون آلدهیدها بتوانند با سایر ترکیبات بدن واکنش انجام دهند. چنین ترکیباتی می‌توانند شامل آمین‌ها، نوکلئوتیدها و اسید نوکلئیک، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و دیگر آلدهیدهای تولیدی در پایان اکسیداسیون چربی باشند (Chytiri *et al*., 2004).

نتایج بررسی حاضر، افزایش سطح TBARS را در تیمار آفلاتوکسین B_1 نشان داد که با نتایج مکی و همکاران (Meki *et al*., 2004) در موش صحرایی، و با نتایج ناز و همکاران (Naaz *et al*., 2007) و اوزن و همکاران (Ozen *et al*., 2009) در موش سوری مطابقت داشت. نتایج بررسی مالون دی آلدهید با یافته‌های راستوجی و همکاران (Rastogi *et al*., 2001)، کواک و همکاران (Kwak *et al*., 1994)، نصر (Nasr, 2014)، السید و الکامی (Elsaid and Elkomy, 2006) و رضایی مقدم و همکاران (Rezaei-Moghadam *et al*., 2012) نیز مطابقت داشت.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

در بررسی اثرات متقابل سه طرفه، در موش‌های گروه مسموم شده با آفلاتوکسین B_1، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار کاهش یافت (P< ۰/۰۵). درمان موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 توسط عصاره آبی–الکلی زردچوبه و عصاره آبی سیر، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P< ۰/۰۵). همچنین ترکیب این دو عصاره نیز موجب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما گردید که نسبت به موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 کاهش معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵).

اثر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما در گروه‌های درمانی عصاره سیر و عصاره زردچوبه تقریباً مشابه بود. اثر افزایشی ترکیب عصاره سیر و زردچوبه بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما در مقایسه با عصاره سیر یا زردچوبه به‌تنهایی به لحاظ عددی بیشتر بود، ولی این افزایش معنی‌دار نبود.

در بررسی حاضر، کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما متعاقب مواجهه با آفلاتوکسین B_1 نشان داد که تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد، یکی از سازوکارهای احتمالی در پاتوفیزیولوژی سمیت کبدی آفلاتوکسین B_1 می‌باشد. اندازه‌گیری پاسخ آنتی‌اکسیدانی تام منعکس‌کننده وضعیت تعادل پلاسما است که نشان دهنده اجزاء آنتی‌اکسیدان پلاسما می‌باشد (Erel., 2004). با توجه به مطالعات انجام شده، سطح وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما در برخی از بیماری‌ها از جمله سرطان و آرتریت روماتوئید کم است (Altindag *et al*., 2007). دلیل کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌هم خوردن توازن بین تولید و برداشت رادیکال‌های آزاد که در شرایط طبیعی در بدن وجود دارد، می‌باشد و انتشار واکنش‌های رادیکالی باعث غیر فعال شدن یا تخریب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Zhou *et al*., 2000).

سازوکار پیشنهاد شده در رابطه با اثرات مکمل‌سازی سیر و فرآورده‌های آن در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام به این صورت است که سیر با افزایش ضداکسایندهای درون سلولی مانند گلوتاتیون، اسید اوریک و بیلی‌روبین و بیان بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون سلولی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌تواند ظرفیت و توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای را بالا ببرد (Duda *et al*., 2007; Durak *et al*., 2004; Morihara *et al*., 2006; Bork *et al*., 2001). در تحقیق رضایی مقدم و همکاران (Rezaei-Moghadam *et al*., 2012)، روی اثر عصاره زردچوبه به‌میزان ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش صحرایی بر میزان وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما به‌مدت یک ماه، نشان داده شد که تجویز عصاره زردچوبه به‌طور معنی‌داری میزان وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام را در هر دو دوز در مقایسه با دیگر گروه‌های تحت درمان (عصاره زردچوبه به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، عصاره دانه هویج به‌میزان ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) کاهش داد ($P<۰/۰۵$).

نتایج مربوط به هورمون‌های تیروئیدی

نتایج مربوط به اثرات متقابل و اصلی هورمون‌های تیروئیدی شامل تیروکسین و تری یدوتیرونین در جدول ۴ نشان داده شده است.

هورمون تری‌یدوتیرونین

در بررسی اثرات متقابل سه طرفه، میزان هورمون تری‌یدوتیرونین در موش‌های گروه مسموم شده توسط آفلاتوکسین B_1 در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار کاهش یافت ($P< ۰/۰۵$). در گروه موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 همراه با عصاره زردچوبه و عصاره سیر، میزان T3 در مقایسه با گروه شاهد مسموم، به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P< ۰/۰۵$). ترکیب این دو عصاره نیز موجب افزایش میزان T3 گردید که نسبت به موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 افزایش معنی‌داری داشت ($P< ۰/۰۵$).

هورمون‌های تیروئیدی در میان هورمون‌های اصلی، نقش مهمی در حفظ تعادل فیزیولوژیکی بدن دارند (Nakamura and Nakao *et al*., 1993). اختلال در عملکرد این هورمون‌ها به‌طور مستقیم بر وضعیت عمومی موجود زنده تأثیر می‌گذارد (Rose, 2000).

کاهش سطوح هورمون‌های تیروئیدی نشان‌دهنده گسترش اختلالات متابولیکی می‌باشد. ارتباط بین کیفیت غذا و غلظت هورمون‌های تیروئیدی خون به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. عملکرد اساسی این هورمون‌ها در تنظیم رشد، استفاده از انرژی و تعدادی از کارهای حیاتی گزارش شده است (Carew *et al*., 1998). علاوه‌براین تغییر غلظت هورمون T3 را می‌توان به اختلال مورفولوژی غده نسبت داد. ایجاد مسمومیت با پاتولین در موش‌های صحرایی منجر به اختلال مورفولوژی غده تیروئید می‌شود (Selmanoglu and Kockaya, 2004).

آسیب ناشی از آفلاتوکسین B_1 می‌تواند موجب کاهش جذب ید خوراک از اپیتلیوم دستگاه گوارش شود (Johri *et al*., 1990). بنابراین، سطح ید پلاسما خون کاهش می‌یابد که این کاهش به‌طور غیرمستقیم می‌تواند ساخت T3 در تیروئید را تحت تأثیر قرار دهد. کاهش پروتئین‌های پلاسمایی که در انتقال T3 شرکت دارند، نیز دلیلی برای پایین بودن سطوح خونی هورمون مورد مطالعه می‌باشد (Graczyk *et al*., 2002).

السید و الکامی (Elsaid and Elkomy, 2006) گزارش کردند که سیانید، مقادیر پلاسمای T3 را کاهش می‌دهد و عصاره آبی سیر به‌میزان ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن همراه با سیانید در مدت ۳۰ روز، مقادیر پلاسمای T3 را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد ($P< ۰/۰۰۱$). تیمار سیر + سیانید در مقایسه با تیمار سیر + سیانید + تیوسولفات، مقادیر پلاسمای T3 را به‌میزان بیشتری افزایش می‌دهد.

هورمون تیروکسین

در بررسی اثرات متقابل سه طرفه، کاهش معنی‌داری در میزان T4 در گروه‌هایی که آفلاتوکسین به‌تنهایی دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P< ۰/۰۵$). نتایج نشان داد که T4 ممکن است تا حد زیادی توسط آفلاتوکسین تحت تأثیر قرار گیرد.

جدول ۳- مقایسه آماری میانگین سطوح ترکیبی آفلاتوکسین B_1، زردچوبه و سیر بر میزان مالون‌دی‌آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی‌تام پلاسما

Table3- Statistical comparison of the average combined levels of aflatoxin B_1, turmeric extract and garlic extract on the amount of malondialdehyde and total plasma antioxidant capacity

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			فراسنجه‌ها Parameters	
میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن mg/kg body weight			مالون دی آلدهید Malondialdehyde (µmol/l)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام Total plasma antioxidant capacity (µmol/l)
اثرات متقابل دو طرفه Two-way interactions				
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره زردچوبه Turmeric extract		
0		0	6.88 [b]	409.37
0		100	6.28 [b]	429.75
100		0	9.99 [a]	339.57
100		100	7.28 [b]	396.19
	SEM[1]		0.48	11.65
	P-value[2]		0.0324	0.1255
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره سیر Garlic extract		
0		0	6.90 [b]	414.15 [a]
0		50	6.26 [b]	424.97 [a]
100		0	9.96 [a]	336.26 [b]
100		50	7.31 [b]	399.50 [a]
	SEM		0.48	11.65
	P-value		0.0412	0.0285
عصاره سیر Garlic extract	×	عصاره زردچوبه Turmeric extract		
0		0	9.85 [a]	344.38
0		100	7.01 [b]	406.06
50		0	7.03 [b]	404.56
50		100	6.55 [b]	419.90
	SEM		0.48	11.65
	P-value		0.0172	0.0517
اثرات متقابل سه طرفه Three -way interactions				
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	× عصاره سیر Garlic extract	× عصاره زردچوبه Turmeric extract		
0	0	0	7.27 [a]	400.55 [a]
0	0	100	6.53 [a]	427.25 [a]
0	50	0	6.50 [a]	418.20 [a]
0	50	100	6.03 [a]	431.75 [a]
100	0	0	12.42 [b]	288.21 [b]
100	0	100	7.50 [a]	384.32 [a]
100	50	0	7.56 [a]	390.93 [a]
100	50	100	7.07 [a]	408.06 [a]
	SEM		0.67	16.47
	P-value		0.0001	0.0001

[۱] اعداد با حروف متفاوت در هر ستون با هم تفاوت معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

۲ میانگین خطای استاندارد

[۳]سطح احتمال معنی‌دار شدن

[1].Means within same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ٤- مقایسه آماری میانگین سطوح ترکیبی آفلاتوکسین B_1، زردچوبه و سیر بر میزان هورمون‌های تیروئیدی

Table 4- Statistical comparison of the average combined levels of aflatoxin B_1, turmeric extract and garlic extract on the amount of thyroid hormones

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			فراسنجه‌ها Parameters	
میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن mg/kg body weight			T3 (ng/dl)	Thyroxine (µg/dl)
اثرات متقابل دو طرفه Two-way interactions				
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره زردچوبه Turmeric extract		
0		0	112.66 [b]	10.52 [a]
0		100	111.13 [a]	10.49 [a]
100		0	100.17 [b]	7.90 [b]
100		100	114.10 [a]	10.09 [a]
		SEM[1]	2.79	0.36
		P-value[2]	0.0076	0.0034
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره سیر Garlic extract		
0		0	115.01 [a]	10.85 [a]
0		50	108.78 [ab]	10.17 [a]
100		0	99.01 [b]	8.10 [b]
100		50	115.26 [a]	9.89 [a]
		SEM	2.79	0.36
		P-value	0.0002	0.0012
عصاره سیر Garlic extract	×	عصاره زردچوبه Turmeric extract		
0		0	103.52	9.12
0		100	110.50	9.83
50		0	109.31	9.30
50		100	114.72	10.75
		SEM	2.79	0.36
		P-value	0.7794	0.3158
اثرات متقابل سه طرفه Three -way interactions				
آفلاتوکسین B_1 Aflatoxin B_1	×	عصاره سیر Garlic extract × عصاره زردچوبه Turmeric extract		
0		0 0	118.02 [a]	11.23 [a]
0		0 100	112.01 [a]	10.48 [ab]
0		50 0	107.31 [a]	9.82 [ab]
0		50 100	110.25 [a]	10.51 [ab]
100		0 0	89.03 [b]	7.02 [c]
100		0 100	109.00 [a]	9.19 [abc]
100		50 0	111.32 [a]	8.79 [bc]
100		50 100	119.20 [a]	10.99 [ab]
		SEM	3.94	0.51
		P-value	0.0001	0.0001

[۱] اعداد با حروف متفاوت در هر ستون با هم تفاوت معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

۲ میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌دار شدن

[1].Means within same column with different superscripts differ significantly (P<0.05) .

درمان موش‌های مسموم شده با آفلاتوکسین B_1 با عصاره آبی- الکلی زردچوبه و عصاره آبی سیرُ میزان T4 پلاسما را افزایش داد که از نظر آماری معنی‌دار نبود، جالب اینکه درمان با ترکیب عصاره سیر و زردچوبه موجب افزایش معنی‌دار T4 در مقایسه با گروه شاهد آفلاتوکسین B_1 شد (P< ۰/۰۵). در واقع، استفاده از ترکیب عصاره سیر و زردچوبه به همراه هم باعث هم‌افزایی اثر درمانی در مقایسه با

عصاره سیر یا زردچوبه به‌تنهایی گردید. افزایش T4 نشان داد که عصاره‌ها در دستگاه گوارش به آفلاتوکسین متصل شده‌اند. آفلاتوکسین B_1 در سیتوکروم P-450(CYP) در میتوکندری سلول کبدی توسط آنزیم اکسیداز متابولیزه شده و به‌فرم اپوکسید که شکل فعال آن است، تبدیل می‌شود. فرم اپوکسید آفلاتوکسین قابلیت بسیار زیادی جهت اتصال به DNA و پروتئین را دارد (Deshpande , 2002; Montville and Matthews, 2005; James, 2000). گزارش شده است که زردچوبه موجب کاهش متابولیسم موادی می‌شود که از طریق سیتوکروم P450 متابولیزه می‌شوند (Sharma *et al.*, 2007)، لذا ممکن است زردچوبه با اثر بر سیتوکروم P-450 از تشکیل شکل فعال آفلاتوکسین B_1 ممانعت کند یا موجب خنثی سازی شکل اپوکسید آن شود.

در بررسی اثرات متقابل دوطرفه، آفلاتوکسین B_1 موجب کاهش معنی‌داری در میزان T4 در مقایسه با گروه شاهد سالم شد و درمان با عصاره سیر موجب افزایش معنی‌دار میزان T4 شد ($P< ۰/۰۵$). درمان با عصاره زردچوبه نیز موجب افزایش معنی‌دار میزان T4 در مقایسه با گروه شاهد آفلاتوکسین B_1 شد ($P< ۰/۰۵$).

نتایج بررسی هورمون تیروکسین با یافته‌های السید و الکامی (Elsaid and Elkomy, 2006) و والچو و همکاران (Valchev *et al.*, 2014) مطابقت دارد. نتایج والچو و همکاران (Valchev *et al.*, 2014) حاکی از آن است که با گنجاندن آفلاتوکسین B_1 به‌میزان ۰/۵ و ۰/۸ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خوراک در اردک در مدت ۲۱ روز، میزان هورمون T4 به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر بیانگر آن است که استفاده از عصاره سیر به‌میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، عصاره زردچوبه به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن و ترکیب آن‌ها، از میزان سمیت ناشی از آفلاتوکسین B_1 می‌کاهد. استفاده از عصاره سیر، زردچوبه و ترکیب آن‌ها موجب بهبود شاخص‌های عملکرد کبدی و کاهش آنزیم‌های کبدی نظیر AST، ALT، ALP و بیلی-روبین تام می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره سیر، زردچوبه و ترکیب آن‌ها اثر محافظتی بر کبد دارد. استفاده از عصاره زردچوبه، سیر و ترکیب عصاره سیر و زردچوبه به‌تنهایی بر متغیرهای اندازه‌گیری شده اثری نداشت ($P< ۰/۰۵$). استفاده از آفلاتوکسین B_1 به‌میزان ۱۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه و به‌مدت ۲۸ روز موجب افزایش AST، ALT، ALP، بیلی‌روبین تام، مالون‌دی‌آلدهید و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، T_3 و T_4 شد. عصاره سیر، زردچوبه و ترکیب آن‌ها بر مسمومیت ناشی از آفلاتوکسین B_1 تأثیر مثبت داشت و موجب کاهش معنی‌دار میزان AST، ALP، بیلی‌روبین تام، مالون‌دی‌آلدهید و افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و T_3 شد. تنها در گروه درمانی ترکیب عصاره سیر و زردچوبه، افزایش معنی‌دار T_4 و کاهش معنی‌دار ALT در مقایسه با شاهد آفلاتوکسین B_1 مشاهده شد. در بررسی فاکتور ALP، میان تیمارهای درمانی عصاره سیر یا زردچوبه با ترکیب این دو عصاره اختلاف وجود داشت که از نظر آماری معنی‌دار بود ($P< ۰/۰۵$). یکی از سازوکارهای حفاظتی احتمالی این گیاهان، ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها بوده که از فعالیت رادیکال‌های آزاد تولید شده به‌وسیله آفلاتوکسین B_1 ممانعت می‌کند.

Refrences

1. Altindag, O., Karakoc, M., Kocyigit, A., Celik, H., and Soran, N. (2007). Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical Biochemistry*, 40(3), 167-171. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2006.10.006
2. Aubourg, S. P. (1993). Interaction of malondialdehyde with biological molecules—new trends about reactivity and significance. *International Journal of Food Science and Technology*, 28: 323-335. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01278.x
3. Babu, P. S., & Srinivasan, K. (1997). Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (Curcuma longa) in streptozotocin induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 166, 169-175. https://doi.org/10.1023/A:1006819605211
4. Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292
5. Berges, R., Siess, M. H., Arnault, I., Auger, J., Kahane, R., Pinnert, M. F., Vernevaut, M.-F. & Le Bon, A. M. (2004). Comparison of the chemopreventive efficacies of garlic powders with different alliin contents against aflatoxin B1 carcinogenicity in rats. *Carcinogenesis*, 25, 1953-1959. https://doi.org/10.1093/carcin/bgh200
6. Carew, L., Evarts, K. and Alster, F. (1998). Growth, feed intake, and plasma thyroid hormone levels in chicks fed dietary excesses of essential amino acids. *Poultry Science*,77: 295-298. https://doi.org/10.1093/ps/77.2.295
7. Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I. and Kontominas, M. (2004). Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*, 21: 157-165. https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00059-5

8. Denli, M., Blandon, J., Guynot, M., Salado, S., & Perez, J. (2008). Efficacy of a new ochratoxin-binding agent (OcraTox) to counteract the deleterious effects of ochratoxin A in laying hens. *Poultry Science*, 87, 2266-2272. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00024
9. Deshpande, S. (2002). Handbook of Food Toxicology. *CRC Press, pp*, 387-457. https://doi.org/10.1201/9780203908969
10. Devegowda, G., Raju, M., Afzali, NA., Swamy, H., (1998). Mycotoxin picture worldwide: novel solutions for their counteraction. 241-255.
11. Drotman, R. B., and Lawhorn, G. T. (1978). Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug and Chemical Toxicology*, 1: 163-171. https://doi.org/10.3109/01480547809034433
12. Duda, G., Suliburska, J. and Pupek-Musialik, D. (2007). Effects of short-term garlic supplementation on lipid metabolism and antioxidant status in hypertensive adults. *Pharmacological Reports*: *PR*,60: 163-170.
13. Durak, I., Kavutcu, M., Aytaç, B., Avcı, A., Devrim, E., Ozbek, H. and Öztürk, H. S. (2004). Effects of garlic extract consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in humans with high blood cholesterol. The *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15: 373-377. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.01.005
14. El-Agamy, D. S. (2010). Comparative effects of curcumin and resveratrol on aflatoxin B1-induced liver injury in rats. *Archives of Toxicology*, 84, 389-396. https://doi.org/10.1007/s00204-010-0511-2
15. Elsaid, F. G., and Elkomy, M. M. (2006). Aqueous garlic extract and sodium thiosulphate as antidotes for cyanide intoxication in albino rats. Research Journal Medicine and Medicine, Science, 1: 50-56.
16. Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37: 112-119.
17. Gaby, A. R. (1999). Q10-Textbook of Natural Medicine. NY: *Churchill Livingstone*, 663-671.
18. Ghodsi, V. and Baghshani, H. (2011). Evaluation of sublethal cyanide exposure on plasma biochemical profile in rats and possible protective effect of garlic. *Human and Veterinary Medicine*, 5. 66-67.
19. Glick, B., Chang, T. S., & Jaap, R. G. (1956). The bursa of Fabricius and antibody production. *Poultry Science*, 35, 224-225. https://doi.org/10.3382/ps.035022
20. Gomes, H. d. A., Silva, E. N. d., Nascimento, M. R. L. d. and Fukuma, H. T. (2003). Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry*. 80: 433-437.
21. Graczyk, S., Zawadzki, W., Malicki, A., and Orda, J. (2002). The thyroxine level and blood serum profiles in ducklings, after chronic aflatoxin B1 administration. *Acta Scientiarum Polonorum-Medicina Veterinaria*, 1: 21-29.
22. Gross, W. B., Jones, D., & Cherry, J. (1988). Effect of ascorbic acid on the disease caused by Escherichia coli challenge infection. *Avian Diseases*, 3, 407-409. https://doi.org/10.2307/1590904
23. James, M. J. (2000). Modern food microbiology. An Aspen Publication. Gaithersburg., *Maryland*., 635.
24. Johri, T. S., Sadagopan, V. R., Shrivastava, H. P., and Majumdar, S. (1990). Effect of dietary aflatoxin on the performance of purebred broiler chicks. *Indian Journal of Animal Sciences*, 60: 1246-1248.
25. Kwak, M. K., Kim, S. G., Kwak, J. Y., Novak, R. F. and Kim, N. D. (1994). Inhibition of cytochrome P4502E1 expression by organosulfur compounds allylsulfide, allylmercaptan and allylmethylsulfide in rats. *Biochemical Pharmacology*, 47: 531-539. https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90185-6
26. Luper, S. (1999). A review of plants used in the treatment of liver disease: Part two. *Alternative Medicine Review*: *A Journal of Clinical Therapeutic*, 4, 178-188.
27. Manafi, M. (2011). Counteractive effects of mycotoxin adsorbent and Aspergillus parasiticus on broilers performance traits. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 6, 567-571.
28. Mathuria, N. and Verma, R. J. (2008). Ameliorative effect of curcumin on aflatoxin-induced toxicity in serum of mice. Acta Pol. Pharmaceut. *Drug Research*, 65: 339-343.
29. Meki, A.-R., Esmail, E. E.-D. F., Hussein, A. A., and Hassanein, H. M. (2004). Caspase-3 and heat shock protein-70 in rat liver treated with aflatoxin B1: *effect of melatonin. Toxicon*, 43: 93-100. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.10.026
30. Montville, T. J. & Matthews, K. R., (2005). Food Microbiology: An Introduction. ASM Press. Washington, DC., USA., 528.
31. Morihara, N., Ushijima, M., Kashimoto, N., Sumioka, I., Nishihama, T., Hayama, M. and Takeda, H. (2006). Aged garlic extract ameliorates physical fatigue. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29: 962-966. https://doi.org/10.1248/bpb.29.962
32. Muriel, P., Garciapiña, T., Perez-Alvarez, V., and Mourelle, M. (1992). Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *Journal of Applied Toxicology*, 12: 439-442. https://doi.org/10.1002/jat.2550120613
33. Naaz, F., Javed, S., and Abdin, M. Z. (2007). Hepatoprotective effect of ethanolic extract of Phyllanthus amarus Schum. et Thonn. on aflatoxin B1–induced liver damage in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 113: 503-509.

https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.017
34. Naik, S. R. (2003). Antioxidants and their role in biological functions: An overview. *Indian drugs*, 40: 501-516.
35. Nakamura, H., and Nakao, K. 1993. [Mechanism of regulation of TSH--biosynthesis and secretion]. Nihon rinsho. *Japanese Journal of Clinical Medicine*, 51: 2611-2617.
36. Nasr, A. Y. (2014). Protective effect of aged garlic extract against the oxidative stress induced by cisplatin on blood cells parameters and hepatic antioxidant enzymes in rats. *Toxicology Reports*, 1, 682-692. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.09.003
37. Nasr, A. Y. (2014). Protective Effect of Aged Garlic Extract Against the Oxidative Stress Induced by Cisplatin on Blood Cells Parameters and Hepatic Antioxidant Enzymes In Rats. Toxicology Reports. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.09.003
38. National Institutes of Health. (1985). Guide for the care and use of laboratory animals: *National Academies. Washington, DC*., USA., 220.
39. Ozen, H., Karaman, M., Cigremis, Y., Tuzcu, M., Ozcan, K., and Erdag, D. (2009). Effectiveness of melatonin on aflatoxicosis in chicks. *Research in Veterinary Science*, 86: 485-489. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.09.011
40. Pozzi, C. R., Correa, B., Xavier, J. G., Direito, G. M., Orsi, R. B., & Matarazzo, S. V. (2001). Effects of prolonged oral administration of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in rats. *Mycopathologia*, 151, 21-27. https://doi.org/10.1023/A:1010954119980
41. Ramsewak, R. S., DeWitt, D. L., & Nair, M. G. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Curcumins III from Curcuma longa. *Phytomedicine*, 7, 303-308. https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80048-3.
42. Rastogi, R., Srivastava, A. K., and Rastogi, A. K. (2001). Long term effect of aflatoxin B1 on lipid peroxidation in rat liver and kidney: effect of picroliv and silymarin. *Phytotherapy Research*, 15: 307-310. https://doi.org/10.1002/ptr.722
43. Recknagel, R. O., Glende Jr, E. A., Dolak, J. A. and Waller, R. L. (1989). Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacology and therapeutics*, 43: 139-154. https://doi.org/10.1016/0163-7258(89)90050-8
44. Rezaei-Moghadam, A., Mohajeri, D., Rafiei, B., Dizaji, R., Azhdari, A., Yeganehzad, M., Shahidi, M., & Mazani, M. (2012). Effect of turmeric and carrot seed extracts on serum liver biomarkers and hepatic lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total antioxidant status in rats. *BioImpacts: BI*, 2, 151. https://doi.org/10.5681/bi.2012.020
45. Ricky, A. S., Steward, W. P,. & Gescher, A. J., (2007). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin. *The molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, 595, 453-470. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46401-5_20
46. Rose, S. R. (2000). Disorders of thyrotropin synthesis, secretion, and function. *Current Opinion in Pediatrics*, 12: 375-381. https://doi.org/10.1097/00008480-200008000-00017
47. SAS Institute Inc. (2005). User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
48. Satoh, K. (1978). Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 90, 37-43. https://doi.org/10.1016/0009-8981(78)90081-5.
49. Satoh, K. (1978). Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clinica Chimica Acta, 90: 37-43. https://doi.org/10.1016/0009-8981(78)90081-5
50. Selmanoglu, G., and Kockaya, E. A. (2004). Investigation of the effects of patulin on thyroid and testis, and hormone levels in growing male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 721-727. https://doi.org/ 10.1016/j.fct.2003.12.007
51. Sharma, Ricky A., William P. Steward, and Andreas J. Gescher. (2007). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin. *The molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, 453-470. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46401-5_20
52. Sharma, V., Gupta, R. and Sharma, S. (2011). Preventive effects of tinospora cordifolia extract against aflatoxin-b1 induced oxidative stress in swiss albino mice. *Asian Journal Pharmaceutical Clinical Research*, 4: 149-155. https://doi.org/ 10.4103/0971-6580.84259
53. Shotwell, O. L., Hesseltine, C., Stubblefield, R. and Sorenson, W. (1966). Production of aflatoxin on rice. *Applied Microbiology*,14: 425-428. https://doi.org/ 10.1128/am.14.3.425-428.1966
54. Tadi, P. P., Teel, R. W., & Lau, B. H. (1991). Organosulfur compounds of garlic modulate mutagenesis, metabolism, and DNA binding of aflatoxin B1. *Nutrition and Cancer*, 15, 87-95. https://doi.org/10.1080/01635589109514116
55. Thabrew, M. I., Joice, P. D. and Rajatissa, W. (1987). A comparative study of the efficacy of Pavetta indica and Osbeckia octandra in the treatment of liver dysfunction. *Planta Med*, 53: 239-241. https://doi.org/10.1055/s-2006-962691
56. Valchev, I., Lazarov, L., Hristov, T., and Kanakov, D. (2014). Blood Triiodothyronine, Thyroxine And Thyroid-Stimulating Hormone Concentrations In MULARD Ducks With Experimental Aflatoxicosis. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*,13-20.

57. West, S., Wyatt, R., & Hamilton, P. (1973). Improved yield of aflatoxin by incremental increases of temperature. *Applied Microbiology*, 25, 1018-1019. https://doi.org/10.1128/am.25.6.1018-1019.1973
58. Yarru, L. P., Settivari, R. S., Gowda, N. K. S., Antoniou, E., Ledoux, D. R., & Rottinghaus, G. E. (2009). Effects of turmeric (Curcuma longa) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant, and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. *Poultry Science*, 88, 2620-2627. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00204
59. Yener, Z., Celik, I., Ilhan, F., & Bal, R. (2009). Effects of Urtica dioica L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. Food and Chemical Toxicology, 47, 418-424. https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.031
60. Zhou, J., Yan, X., Guo, F., Sun, N., Qian, Z. and Ding, D. (2000). Effects of cigarette smoking and smoking cessation on plasma constituents and enzyme activities related to oxidative stress. *Biomedical and Environmental Sciences*, 13: 44-55.