دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد

اثر سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

از
علیرضا مجاهدطلب

استاد راهنما
دکتر مهرداد محمدی

بهمن ۱۳۹۰

دانشکده علوم کشاورزی

گروه علوم دامی

(گرایش فیزیولوژی دام)

عنوان:

اثر سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

از :

علیرضا مجاهدطلب

استاد راهنما :

دکتر مهرداد محمدی

استاد مشاور :

دکتر محمد روستایی علی‌مهر

بهمن ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

تشکر و قدردانی

نگارش این اثر فرصتی را فراهم آورد تا از تمامی آموزگاران و نقش آفرینان صحنه زندگیم یاد کرده و مراتب سپاس و قدردانی خود را از ایشان اعلام دارم اما پیش از همه باید آفریدگار یکتایی را سپاس گویم که موهبت هستی و مجال اندیشیدن را به من ارزانی فرمود و من همواره او را شاکر و ساجدم.

واجب است از همراهان همیشگی و پشتیبانان خستگی ناپذیرم پدر و مادر عزیزم که وجودم را از ایشان به ودیعت دارم سپاس بگذارم که هدایایشان توان مضاعفی به من بخشید. و امیدوارم که با گفتگوی ذره‌ای از محبت‌های بیدریغشان باشم.

از تلاش ها و راهنمودهای ارزنده و سازنده استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر مهرداد محمدی که در طول انجام تحقیق پیشه یار و یاور بنده بوده و همواره از تجارب ایشان بعنوان گره گشای مشکلات بهره مند بوده ام، کمال تشکر و قدردانی نمایم. از حسن همکاری و مساعدت ها و راهنمایی های بی دریغ مشاور محترم جناب آقای دکتر محمد روستایی علی مهر که در طول انجام تحقیق همواره با صبر و شکیبایی مرا از مساعدهای علمی شان برخوردار نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم. همچنین جادارد از دکتر نوید قوی حسین زاده که علی رغم مشغله کاری زیاد، هیچ سوالی آماری را از جانب بنده بی پاسخ نگذاشته اند، از صمیم قلب سپاسگزاری نمایم.

با امتنان از اساتید بزرگوار داوران محترم جناب آقایان دکتر اردشیر محیط و دکتر نوید قوی حسین زاده که زحمت بازخوانی این پایان نامه را بر عهده داشتند از صمیم قلب تشکر مینمایم. از جناب دکتر هدایت زکی زاده نماینده تحصیلات تکمیلی حاضر در جلسه که مسولیت برگزاری جلسه را بر عهده گرفتند سپاس و قدردانی مینمایم.

از جناب آقای مهندس ابوالقاسمی معاون سابق اداری و مالی دانشکده کشاورزی که در طول انجام تحقیق همواره ما را یاری نمود و از هیچ کمکی نسبت به ما دریغ نکردند کمال تشکر و قدردانی را دارم. از مسئولان زحمتکش آزمایشگاه گروه علوم دامی آقای مهندس ناصرافی و خانم مهندس پورقاسم کمال تشکر را دارم.

در پایان لازم می دانم از آقای مهندس حسن رفیعی که در انجام تمام مراحل پایان نامه یاور بنده بودند تشکر و قدردانی نمایم، از آقای نصرت احمدی و خانم میربابایی که در طول انجام طرح زحمات فراوانی را متحمل شدند تشکر می نمایم، همچنین از دوستان عزیزم آقایان محمد عطایی، صابر کاس آقایی، رسول معتمدی، رضا رجبی، محمد اسدی و تمامی همکلاسی های عزیزم سپاس و قدردانی نموده و برایشان آرزوی موفقیت و توفیق روز افزون دارم.

علیرضا مجاهد طلب

۲۹ بهمن ۱۳۹۰

وصل الله علی محمد و اله اجمعین

چکیده

اثر سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

علیرضا مجاهدطلب

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر مصرف سطوح مختلف سیلی‌مارین بر عملکرد و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۲۸۸ قطعه جوجه یکروزه گوشتی نژاد کاب۵۰۰ در قالب طرح کاملا تصادفی با ٦ تیمار و ٤ تکرار و ۱۲ مشاهده در هر تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمار اول به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد و از جیره پایه استفاده نمود، سایر تیمارها نیز از جیره پایه که بترتیب ۱٦۰، ۲۰۰، ۲٤۰، ۲۸۰ و۳۲۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین به آن اضافه شده بود استفاده کردند. پاسخ‌های سیستم ایمنی سلولی از طریق تزریق فیتوهماگلوتینین (PHA-P) و پاسخ‌های سیستم ایمنی هومورال از طریق اندازه‌گیری تیتر آنتی بادی سرم در واکنش به تزریق گلبول قرمز گوسفندی (SRBC)، تعیین شد. نتایج نشان داد که مصرف سیلی‌مارین موجب کاهش خوراک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها شد (P<۰/۰۵)، ولی بر افزایش وزن جوجه‌ها تاثیری نداشت (P>۰/۰۵). مصرف سیلی‌مارین باعث افزایش وزن بورس شد (p<۰/۰۵) ولی روی سایر اجزای لاشه تاثیر نداشت (P >۰/۰۵). نتایج نشان داد که مصرف سیلی‌مارین موجب افزایش تیتر آنتی‌بادی Total Anti-SRBC و IgG شد (P<۰/۰۵)، ولی بر IgM تاثیری نداشت (P>۰/۰۵). همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مصرف سیلی‌مارین تاثیری بر شاخص تحریک نسبت به PHA-p نداشت (P>۰/۰۵). در نهایت می‌توان بیان کرد که سیلی‌مارین باعث کاهش خوراک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل خوراک شده و سیستم ایمنی هومورال را بهبود بخشید ولی بر سیستم ایمنی سلولی تاثیر نداشت.

کلید واژه‌ها : سیلی‌مارین، ماریتیغال، سیستم ایمنی، جوجه گوشتی

چکیده فارسی ..... چ
چکیده انگلیسی ..... ح
مقدمه ۲

فصل اول- مرور منابع

۱-۱- خصوصیات گیاه شناسی ماریتیغال ۵
۱-۲- پیشینه‌ی استفاده از گیاه دارویی ماریتیغال ٦
۱-۳- ترکیبات موجود در گیاه ماریتیغال ۷
۱-٤- خواص بیوشمیایی و درمانی سیلی‌مارین ۱۰
۱-٤-۱- خواص آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین ۱۰
۱-٤-۲- خواص ضد التهابی سیلی‌مارین ۱۱
۱-٤-۳- سیلی‌مارین بعنوان عامل محافظت کننده کبدی ۱۱
۱-٤-٤- سیلی‌مارین و درمان سرطان ۱۲
۱-٤-۵- اثر سیلی مارین بر کاهش میزان کلسترول ۱٤
۱-٤-٦- خاصیت ایمنی‌زایی سیلی‌مارین ۱٤
۱-۵- کاربرد سیلی مارین در دام ۱۵
۱-٦- عوارض جانبی مصرف سیلی‌مارین ۱٦
۱-۷- طبقه بندی پاسخ ایمنی ۱۷
۱-۷-۱- ایمنی ذاتی ۱۷
۱-۷-۲- ایمنی اکتسابی ۱۷
۱-۷-۲-۱- ایمنی هومورال ۱۸
۱-۷-۲-۲- ایمنی سلولی ۱۸
۱-۸- ویژگی‌های سیستم ایمنی پرندگان ۱۹
۱-۸-۱- بورس فابریسیوس ۱۹
۱-۸-۲- تیموس ۲۰
۱-۹- مکانیسم پاسخ ایمنی ۲۱
۱-۱۰- آنتی‌بادی ۲۱

۱-۱۰-۱- ساختمان ایمونوگلوبولین‌ها ۲۲
۱-۱۰-۲- انواع ایمونوگلوبولین در پرندگان ۲۲
۱-۱۰-۲-۱- ایمونوگلوبولین Y ۲۳
۱-۱۰-۲-۲- ایمونوگلوبولین M ۲۳
۱-۱۰-۲-۳- ایمونوگلوبولین A ۲٤

فصل دوم: مواد وروش‌ها

۲-۱- محل و زمان اجرای تحقیق ۲٦
۲-۲- مدیریت پرورش ۲٦
۲-۲-۱- آماده‌سازی جایگاه ۲٦
۲-۲-۲- دما ۲٦
۲-۲-۳- برنامه نوردهی ۲۷
۲-۲-٤- تهویه سالن ۲۷
۲-۲-۵- دانخوری و آبخوری ۲۷
۲-۲-٦- دوره پرورش ۲۷
۲-۲-۷- برنامه واکسیناسیون ۲۸
۲-۳- پرندگان و تیمارهای آزمایشی ۲۹
۲-٤- جیره غذایی ۳۰
۲-۵- مواد و وسایل مورد نیاز و روش انجام آزمایش ۳۱
۲-۵-۱- طرز تهیه فسفات بافر سالین(PBS) ۳۱
۲-۵-۲- آماده سازی گلبول قرمز گوسفندی(SRBC) ۳۲
۲-٦- روش اندازه‌گیری پاسخ‌های ایمنی سلولی ۳۲
۲-۷- اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال ۳۳
۲-۷-۱- تزریق SRBC به عضله سینه ۳۳
۲-۷-۲- نمونه گیری ۳۳
۲-۷-۳- جداسازی سرم ۳۳
۲-۷-٤- تست هماگلوتیناسیون(HA) برای اندازه‌گیری تیتر Anti-SRBC ۳۳
۲-۸- شاخص‌های مورد اندازه‌گیری ۳۵
۲-۸-۱- خوراک مصرفی روزانه ۳۵
۲-۸-۲- افزایش وزن روزانه ۳۵
۲-۸-۳- ضریب تبدیل خوراک ۳۵

۲-۸-٤- تفکیک لاشه ۳٦
۲-۹- طرح آماری و تجزیه داده‌ها ۳۷

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- عملکرد طیور ۳۹
۳-۱-۱ مصرف خوراک روزانه ۳۹
۳-۱-۲ افزایش وزن روزانه ٤۱
۳-۱-۳ ضریب تبدیل خوراک ٤۲
۳-۲- صفات لاشه ٤٤
۳-۳- تیترهای آنتی‌بادی علیه SRBC تزریق شده ٤٦
۳-٤- پاسخ ایمنی سلولی به تزریق داخل پوستی فیتوهم‌اگلوتینین(PHA-P) ۵۱
۳-۵- نتیجه گیری کلی ۵۳
۳-٦- پیشنهادات ۵٤
منابع ۵٦

فهرست جداول

جدول (۲-۱) برنامه واکسیناسیون استفاده شده در دوره پرورش جوجه‌های گوشتی ۲۸
جدول (۲-۲) اجزا و ترکیب شیمیایی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین، رشد و پایانی..... ۳۰
جدول (۲-۳) مقادیر مورد نیاز جهت ساخت فسفات بافر سالین..... ۳۱
جدول (۳-۱) اثر مصرف سیلی‌مارین بر مصرف خوراک روزانه..... ۳۹
جدول (۳-۲) اثر مصرف سیلی‌مارین بر افزایش وزن روزانه ٤١
جدول (۳-۳) اثر مصرف سیلی‌مارینبر ضریب تبدیل خوراک ٤٢
جدول (۳-٤) اثر سطوح مختلف سیلی‌مارین بر صفات لاشه ٤٤
جدول (۳-٥) اثر سطوح مختلف سیلی‌مارین بر میزان تیتر **Total Anti-SRBC**و **IgG** و **IgM** ٤٦
جدول (۳-٦) اثر سطوح مختلف مصرف سیلی‌مارین بر میانگین تیتر **Total Anti-SRBC** ٤٧
جدول (۳-۷) اثر سطوح مختلف مصرف سیلی‌مارین بر میانگین تیتر **IgG**..... ٤٨
جدول (۳-۸) اثر سطوح مختلف مصرف سیلی‌مارین بر میانگین تیتر **IgM**..... ٤٨
جدول (۳-۹) اثر سطوح مختلف سیلی‌مارین بر پاسخ پوست بال به تزریق **PHA-P**..... ٥١

مقدمه

نیاز به منابع غذایی، با توجه به افزایش روزمره جمعیت، بسیار پر اهمیت است. از جمله مهمترین منابع پروتئینی قابل استفاده برای انسان می‌توان به گوشت سفید اشاره کرد که در این رابطه، طیور به دلیل توانایی در هضم و جذب مواد خوراکی، سلامت گوشت، سهولت تغذیه، سرعت رشد بالا و صرفه جویی در جایگاه دارای نقش ویژه‌ای است.

تحقیقات در دهه‌های اخیر، صنعت پرورش طیور را متحول ساخته است. این صنعت به دلیل مقرون به صرفه بودن آن در مقایسه با سایر محصولات پروتئینی تولید شده در بسیاری از کشورها از اهمیت خاصی برخوردار بوده و بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. از جمله مهمترین عوامل شناخته شده که می‌تواند از پتانسیل رشد جوجه‌ها جلوگیری کند، اجرام عفونت‌زا است. عوارض ناشی از باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها و ترکیبات سمی لزوماً بصورت بیماری بروز نکرده و ممکن است روی سیستم ایمنی تأثیر گذاشته و موجب اختلال در رشد حیوان شود [Bendich, 1993].

ایجاد شرایط بهداشتی و استفاده از مواد تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن حیوانات مزرعه‌ای در مقابل عوامل عفونی، از عوامل موثر در بهبود شرایط پرورش است. بدین ترتیب استفاده از محرک‌های ایمنی از جمله مواد آنتی‌اکسیدان برای تقویت سیستم ایمنی مورد توجه است.

با توجه به اینکه برخی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در تولید مرغ گوشتی با آنتی‌بیوتیک‌های انسانی مشترک هستند، امکان انتقال سویه‌های باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک از طریق محصولات طیور به انسان وجود دارد. این موضوع باعث می‌شود برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان انسان موثر واقع نشوند، بعلاوه باقی ماندن آنتی‌بیوتیک در محصولات طیور استفاده از این مکمل در جیره طیور را مورد تردید قرار داده است. استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌های حاصل از آنها، عوارض سوء ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک روی سلامت انسان را نداشته و نیز می‌تواند باعث تقویت سیستم ایمنی طیور شوند. با برخی اصلاحات در جیره‌های غذایی می‌توان قدرت مقابله حیوان را به بیماری‌ها افزایش داد [تیموری‌زاده، ۱۳۸۸].

رویکرد جدید علم به سمت گیاهان دارویی و مواد طبیعی به جای استفاده از مواد شیمیایی ومصنوعی، اهمیت کشت و فرآوری این گیاهان را روشن می سازد و بازگشت به سوی طب سنتی سبب شده است که بیش از ۸۰ درصد تحقیق در مراکز دارویی دنیا به استفاده از مواد گیاهی و طبیعی معطوف شود. پیشرفت علم پزشکی و گیاه شناسی، یافته‌های جدیدی را از

اهمیت و خواص گیاهان در درمان بیماریها معرفی می کند و استفاده از آنها عوارض نامطلوب داروهای شیمیایی را کاهش می-دهد [Agarwar, 2006].

بی‌شک، تمایل به استفاده از مواد غذایی طبیعی و ترکیباتی که به سلامتی انسان و دام کمک می‌کند، رو به افزایش است. در این ترکیبات به پلی‌فنل‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها توجه خاصی شده است که به دلیل نقش آنها به عنوان مواد تقویت کننده سیستم ایمنی و پیشگیری کننده بیماری‌های مزمن در انسان و دامهای اهلی، قابل توجه هستند.

عصاره بذر گیاه ماریتیغال حاوی یک ترکیب فلاوونوئیدی بنام سیلی‌مارین است که علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی قوی دارای خواص ضد باکتریایی و ضد سرطانی نیز هست. سیلی‌مارین دارای خواص مسمومیت‌زدایی در مقابل عوامل مختلف از جمله آفلاتوکسین نیز بوده و می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب و یا مکمل غذایی و یک ماده آنتی‌اکسیدان طبیعی استفاده شود [Valenzuela, 1989]. لذا در این تحقیق اثر مصرف سطوح مختلف سیلی‌مارین بر عملکرد تولیدی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

۱-۱- خصوصیات گیاه شناسی ماریتیغال

ماریتیغال یا خارمریم با نام علمی *Silybum marianum* L. Gaertn و نام انگلیسی Milk thistle متعلق به خانواده-ی *Asteraceae* (گل‌ستاره‌ای) است [زرگری، ۱۳۷٦]. گیاهی است دوساله به رنگ سبز مات، خاردار و با ساقه های ایستاده که ارتفاع ساقه‌ها متفاوت بوده و بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ سانتی‌متر متغیر است. این گیاه ساده یا کمی منشعب و دارای شاخه های نسبتا ضخیمی است که به یک کپه سبز رنگ که دارای شیارهای طولی است منتهی می‌شوند، دارای برگهای پهن و شکننده‌ای با لکه‌های سفید که در اطراف رگبرگ‌ها قرار دارند. گل‌های این گیاه تا حدودی تخم‌مرغی شکل هستند که به رنگ صورتی مایل به ارغوانی و به ندرت سفید رنگ در کپه‌های انتهایی قرار می‌گیرند [قهرمان، ۱۳٦۲].

میوه [دانه] گیاه فندقه‌ای به طول ۷- ٦ میلی‌متر و ضخامت ٤ میلی‌متر، دارای سطح صاف با ناف قاعده‌ای است. رنگ آن عموماً قهوه‌ای تیره و براق است، اما قسمت تحتانی آن به رنگ قهوه‌ای روشن دیده می‌شود. وزن هزار دانه‌ی آن بین ۲۳ تا ۳۱ گرم متغیر است. طول دوره‌ی رویش ماریتیغال بین ۱۱۰ تا ۱٤۰ روز است. ماریتیغال در مناطق سردسیر در فصل بهار و در مناطق گرمسیر به صورت یک محصول پاییزه کشت می‌شود [امیدبیگی، ۱۳۷٦].

ماریتیغال اصالتاً بومی منطقه مدیترانه است. این گیاه امروزه در سرتاسر نقاط دنیا از اروپا تا آسیا و از آفریقا تا آمریکای شمالی گسترده شده است. در ایران هم تقریبا در تمام مناطق می‌روید ولی پراکندگی عمده آن در نواحی شمال، شمال غربی، غرب، جنوب غرب و جنوب کشور است [زرگری، ۱۳۷٦].

۱-۲- پیشینه‌ی استفاده از گیاه دارویی ماریتیغال

تاریخ استفاده‌ی درمانی این گیاه به ۲۰۰۰ سال پیش بر می‌گردد و در منابع یونانی از آن به عنوان یک داروی محافظت کننده‌ی کبد نام برده‌اند. عصاره‌ی حاصل از برگ و بخصوص دانه‌ی آن که سیلی‌مارین نامیده می‌شود بیش از ۲۰۰۰ سال است که بعنوان دارو در درمان بیماری‌های کبدی مصرف می‌شود. الدر[1] نویسنده‌ی رومی قرن اول بعد از میلاد می‌نویسد: گیاه خـار مریم برای ترشح و انتقـال صفرا مفید است. در گذشتـه، مردم برای مداوای بیماری‌های صفراوی و بیماری‌های مربوط به دستگاه گوارش از برگ‌های ماریتیغال استفاده می‌کردند. از قرن ١٦ میلادی به بعد، مصرف آن در تغذیه و درمان بیماری‌ها بین مردم متداول شد، بطوری که از برگ‌های سبز آن به صورت خام در تهیه سالاد و ریشه‌ی آن در تهیه غذا و مربا مورد استفاده قرار گرفت [Luper, 1998].

کول پیپر[2] اولین گیاه‌شناس دارویی در انگلستان، این گیاه را برای رفع انسداد کبد و طحال و درمان زردی مفید گزارش کرد. در قرن نوزدهم و اوایل قرن بیستم، از دانه‌ی این گیاه برای درمان وریدهای واریسی ناشی از احتقان کبد و طحال، التهاب لوزالمعده و سنگ کیسه‌ی صفرا استفاده می‌کردند [فلاح حسینی و همکاران، ۱۳۸۳]. مشتقات این گیاه حدود ۲۰۰ سال است که مورد استفاده قرار می‌گیرد. این فرآورده‌ها از سال ١٩٦٩ در اروپا مصرف بالینی پیدا کرد. ریشه و اندام هوایی این گیاه طعم تلخ و اشتهاآور داشته و در طب سنتی در درمان انواع بیماری‌های طحال، کبد، یرقان، یبوست‌های مزمن، دفع رسوبات و سنگ‌های صفراوی، اشکال وقوع حالت قاعدگی و ... استفاده می‌شود. ماریتیغال در طب سنتی چین و اکثر کشورهای اروپایی به طور گسترده‌ای در درمان اختلالات کبدی و صفراوی استفاده می‌شود [Morazzoni and Bombardelli, 1995].

بررسی‌های بن[3] در سال ۱۹۲۷ نشان داد که مصرف فرآورده‌های این گیاه در درمان بیماری‌های کبدی که بصورت یرقان بروز نموده باشد و همچنین در رفع دردهای مربوط به طحال اثر مفیدی دارد. گزارش شده که فرآورده‌های دانه‌ی این گیاه در درمان پایین بودن دائمی فشارخون، رفع سردردهای یکطرفه (میگرن) و کهیر ناشی از آنافیلاکسی، بیماری‌های کبدی و عدم ترشح و دفع صفرا، خستگی‌های ناشی از کار زیاد، سل ریوی ، اختلالات هاضمه، فراخ شدن سیاهـرگ‌های جمجه و دریا

[1]. Alder
[2]. Culpeper
[3]. Ben

گرفتگی اثرات مفید داشته و از محاسن فرآورده‌های این گیاه آن است که هیچ‌گونه سمیتی ندارد و می‌تواند بصورت مداوم مصرف شود [به نقل از فلاح حسینی و همکاران، ۱۳۸۳].

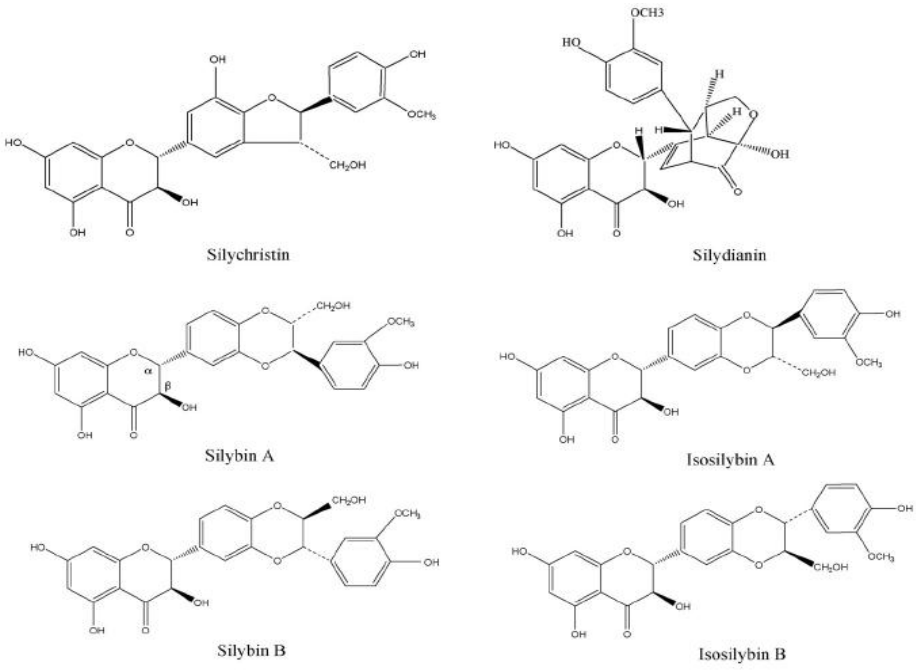
بررسی‌های جدید نیز اثرات درمانی عصاره‌ی ماریتیغال در درمان اختلالات کلیوی، بیماری‌های کبدی (درمان کبد چرب به دلیل مواد شیمیایی و الکل، سیروز کبدی و ...)، چربی خون بالا، التهاب مجرای صفرا، اختلالات سیستم عصبی، غدد درون‌ریز، اثرات هماتولوژی، سیستم ایمنی، درمان سرطانی، دیابت، پوکی استخوان، آب مروارید و سمیت‌های حاد و مزمن گزارش شده است. این اثرات به دلیل خواص آنتی‌اکسیدان، آنتی‌لیپید پراکسیداز، آنتی‌فیبروتیک، ضد قارچی، ضدالتهاب، تنظیم ایمنی بدن، اثر بازسازی سلولی کبد، کاهش متابولیسم کلسیم و به دام انداختن آهن توسط سیلی‌مارین است [Agarwar et al., 2006].

۱-۳- ترکیبات موجود در گیاه ماریتیغال

در میوه‌های ماریتیغال فلاونوئیدهای مختلفی ساخته و ذخیره می‌شوند که مقدار آن‌ها متفاوت بوده و بسته به شرایط اقلیمی محل رویش و نوع گیاه بین ۲ تا ۵ درصد متغیر است. فلاونوئیدهای ماریتیغال اساساً شامل فلاونول‌ها[1] و فلاونولیگنان‌ها[2] است که فلاونول‌ها جزء کوچکی از فلاونوئیدهای گیاه را تشکیل می‌دهند. غلظت فلاولیگنان‌ها بیشتر بوده و از آن‌ها به عنوان یک نشانگر میزان فلاونوئیدها در ماریتیغال استفاده می‌شود. فلاونوئیدهای میوه‌ی گیاهانی که گل آن‌ها به رنگ قرمز است در مقایسه با فلاونوئیدهای میوه‌ی گیاهانی که گل‌های سفید دارند، کیفیت بهتری دارند. این فلاونوئیدها در مجموع سیلی-مارین نامیده می‌شوند که در آب غیرمحلول و در الکل محلول هستند [Basiglio et al., 2009]. قبلاً تصور می‌شد که سیلی-مارین ترکیب خالصی با ساختار ۷-کرومانول-۳- متیل- تاکسی‌فولین است، اما با ابداع روش‌های دقیق‌تر برای تجزیه و جداسازی سیلی‌مارین مشخص شد که سیلی‌مارین شامل مخلوطی از شش ترکیب فنولیک است که بصورت ایزومر هستند و سیلی‌بین[3] A و B، ایزوسیلی‌بین[4] A و B، سیلی‌کریستین[5] و سیلی‌دیانین[6] نامیده می‌شوند [Kvasnicka et al., 2003].

[1]. Flavonols
[2]. Flavnolignans
[3]. Silybin
[4]. Isosilybin
[5]. Silychristin
[6]. Silydianin

سیلی‌مارین با فرمول شیمیایی $C_{25}H_{22}O_{10}$ و با وزن مولکولی ٤٨٢/٤٣ نخستین بار توسط واگنر و همکاران از دانه‌های ماریتیغال استخراج شد [Wagner et al., 1974].



شکل ۱-۱- ساختار شیمیایی مهم‌ترین ترکیبات سیلی‌مارین

سیلی‌بین جزء اصلی سیلی‌مارین است که ۳۰-۲۰ درصد از کل فلاولیگـنان‌ها را شامل می‌شود. سیلی‌بین بعنوان آنتی‌اکسیدان و محافظ کبدی شناختـه شده که غلظت آن در صفرا ٦٠ برابر خون است و ترکیب مؤثرتری در درمان بیماری‌های کبدی محسوب می‌شود. سیلی‌بین از مدت‌ها قبل شنـاخته شده و دو ایزومر آن به نسبت تقریبـی ۱:۱ (SA:SB → 1:1) وجود دارند. دو ایـزومر ایزوسیلی‌بین (IS) نیـز به نسبت تقریبـی ۷:۳ یافت می شـوند (ISA: ISB → 7:3). امروزه سیلی‌بین و ایزوسیلی‌بین بطور تجاری و بصورت ترکیبی از SA/SB و ISA/ISB در دسترس هستند. سیلی‌دیانین به یک شکل وجود دارد و با SD نشان داده می‌شود. سیلی‌کریستین از فلاونوئیدهای تازه شناخته شده است که ساختارهای چندگانه کاملاً مشخصی دارد. سیلی‌کریستین دو نوع ایزومرمتفاوت دارد که بصورت سیلی‌کریستین A و B نشان داده می‌شود [Basiglio et al., 2009].

علاوه بر ترکیبات ذکر شده، فلاولیگنان‌های دیگری نیز در بذر ماریتیغال وجود دارد که عبارتند از: دهیدروکسی‌سیلی‌بین[1]، دزوکسی‌سیلی‌کریستین[2]، دزوکسی‌سیلی‌دیانین[3]، سیلاندرین[4]، سیلی‌بینوم[5] و سیلی‌هرمین[6]. دانه‌ی ماریتیغال حاوی بتائین، تری متیل گلیسین و ماده‌ی تلخی است که منشأ آن ترکیبات رزینی و روغنی است[Kvasnicka et al. 2003]. مقدار روغن دانه حدود ۲۵-۲۰ درصد است که مهم‌ترین اجزای آن عبارتند از: اسید لینولئیک (۵۰ تا ٦۰ درصد)، اسید اولئیک (۲۰ تا ۳۵ درصد) که دارای اثرات ضدالتهابی و ضدهپاتیتی هستند. میزان اسیدهای چرب پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و لینولنیک را در روغن دانه‌ی ماریتیغال به ترتیب ۸/۷۷، ۵/۰۵، ۲۸/۸٤، ۵۱/۲۷ و ۳/٦۵ درصد گزارش شده و بیان نمودند با توجه به ضروری بودن اسید لینولئیک و اسید لینولنیک برای انسان (اسیدهای چرب ضروری) و میزان بالای آنها در روغن دانه‌ی ماریتیغال، می‌توان گفت که این روغن از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار است [گلی و همکاران، ۱۳۸٦].

قسمت‌های مختلف این گیاه دارای تانن، نوعی ماده‌ی تلخ، رزین و دانه‌ی آن علاوه بر روغن حاوی آمیدون[7] و مواد آلبومینوئیدی[8] است. بر اساس نظریه شولتز[9] این مواد در آلبومن دانه و در زیر پوسته‌ی خارجی آن وجود دارد. از این رو برای درمان بیماری‌ها، مصرف دانه‌ی ساییده شده‌ی آن توصیه می‌شود. همچنین بررسی‌ها نشان‌دهنده‌ی وجود ماده‌ای به نام کنی-سین[10] در برگ‌ها و تیرامین[11] در دانه‌های آن است. تیرامین از اسید آمینه‌ی تیروزین و بر اثر جدا کردن کربوکسیل از آن بدست می‌آید که فرمول مولکولی آن $C_{18}H_{11}NO$ و وزن مولکولی آن ۱۳۷/۱۸ است [زرگری، ۱۳۷٦].

1. Dehedroxy Silybin
2. Desoxy Silychristin
3. Desoxy Silydianin
4. Silanidrin
5. Silybinum
6. Silyhermin
7. Amidon
8. Albuminoid
9. Schultz
10. Cnicin
11. Tyramine

۱-٤- خواص بیوشمیایی و درمانی سیلی‌مارین

۱-٤ -۱- خواص آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین

در شرایط عادی سیستم دفاعی بدن رادیکالهای آزاد را خنثی می‌کند، آنتی‌اکسیدان‌ها موجب تقویت سیستم دفاعی بدن علیه استرس‌های اکسیداسیون و در نتیجه کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکالهای آزاد می‌شوند. مواد آنتی‌اکسیدان همچنین از پراکسیداسیون چربی‌های غشاء سلول جلوگیری کرده و از این طریق مانع از تضعیف سیستم ایمنی بدن می‌شوند [Bendich, 1993]. تاکنون بیش از ٦۰۰۰۰ نوع آنتی‌اکسیدان گیاهی شناخته شده است. درمیان آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده معروف که از جمله آنها می‌توان کاروتنوئیدها، توکوفرول، ویتامین C و ویتامین E را نام برد گروهی از ترکیبات شیمیایی کاملاً متفاوت با نام عمومی پلی‌فنل‌ها نیز وجود دارند که سیلی‌مارین در زمره‌ی آن‌ها قرار دارد [Basaga, et al. 1997] .

سیلی‌مارین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی که حتی تا چند برابر خواص آنتی‌اکسیدانی ویتامین E گزارش شده است [Vogle, 1979]. ثابت شده که سیلی‌مارین یک پالایش کننده موثر برای رادیکالهای آزاد مختلف مانند رادیکالهای پراکسیل و هیدروکسیل و یون هیپوکلریت است که در نوتروفیل‌ها بوجود می‌آید. سیلی‌مارین با مهار پراکسیداسیون لیپیدها بخصوص در سلولهای کبد، از اختلالات متابولیسمی این سلول‌ها پیشگیری می‌کند. سیلی‌مارین از طریق تثبیت غشای گلبول-های قرمز و افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداسیون و سوپراکسیدودسموتاز (SOD) شرایط حفاظتی برای گلبول-های قرمز را فراهم می‌کند. اثرات تثبیتی روی غشای گلبول قرمز خون بوسیله افزایش در زمان همولیز کامل آن نشان داده شده است [Muzes et al., 1991; Lang et al., 1993].

سیلی‌مارین از پراکسیداسیون کلسترول LDL[1] در محیط آزمایشگاهی جلوگیری می‌کند[Fiebrich and Koch, 1979] و لوکوسیت‌های انسانی را در برابر اثر هیدروژن پراکسید که باعث آسیب DNA می‌شود، محافظت می‌کند[Locher et al., 1998]. سیلی‌مارین همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی در پلاکت‌های انسانی دارد و در میکروزوم‌های کبدی و ریوی انسان، بصورت آنتی‌اکسیدان و زداینده‌ی رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند که در نتیجه عمل حفاظتی در برابر پراکسیداسیون چربی القا شده توسط مواد شیمیایی را فراهم می‌آورد [Muzes et al., 1991]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین شرایطی را فراهم می‌سازد که کبد را از سمیت ناشی از آهن حفظ کند. داده‌های حیوانی حاکی از آن است که در موش صحرایی، افزایش

[1]. Low Density Lipoprotein

مزمن بارآهن موجب استرس اکسیداسیون وآسیب کبدی شده که سیلی‌مارین موجب مهار این مسمومیت شد[Psotova et al., 2002]. مطالعات در انسان مشخص کرد که در بیماران با سیروز الکلی، سیلی‌مارین، سطوح سوپر اکسید دسموتاز RBC و لنفوسیت‌ها را افزایش داده و در نتیجه میزان اثرات آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد[Feher et al., 1987].

۱-٤-۲- خواص ضد التهابی سیلی‌مارین

سیلی‌مارین تولید نیتریک اکساید(NO) را مهار می‌کند [Kang et al., 2002]. نیتریک اکساید در مقادیر بیش از حد می-تواند مخرب باشد و باعث بروز التهاب مزمن و تحریک تولید مقادیر زیاد رادیکال آزاد شود. سیلی‌مارین تشکیل پروستاگلاندین‌های پیش التهابی[مانندPGE_2] را مهار می‌کند[Kang et al., 2004]، البته این عمل در کبد در غلظتهای بالا رخ می‌دهد. از طرف دیگرسیلی‌مارین از طریق مهار لیپواکسیژناز نیز باعث می‌شود که تولید ترکیبات التهابی مضر که لوکوترین نام دارند کاهش یابد [Dehmlow et al., 1996].

در سلولهای پوستی، فلاونوئید موجود در سیلی‌مارین خاصیت مهار آنزیم سیلکو اکسیژناز II [1] را دارند که در پی آن تولید پروستاگلاندین‌های التهابی کاهش می‌یابد [Zhao et al., 2000]، مهار کننده سیلکواکسیژناز بیش از پیش توجه را در جلوگیری و درمان سرطان بویژه در جلوگیری از پیشرفت تومور به خود جلب کرده است.

۱-٤-۳- سیلی‌مارین بعنوان عامل محافظت کننده کبدی

سیلی‌مارین سلول‌های کبدی انسان و حیوانات را در مقابل بسیاری از سموم کبدی محافظت می‌کند. مطالعات آزمایشگاهی و بالینی متعدد حاکی از آن است که سیلی‌مارین کبد را در برابر مسمومیت ناشی از تتراکلریدکربن، استامینوفن و تتراکلرومتان محافظت می نماید [Muriel and Mourelle, 1990; Letteron et al., 1990]. بیان شده که سیلی‌مارین با مکانیسم‌های متعدد از جمله تحریک DNA پلیمراز، تثبیت غشای سلولی، تغییر ساختمان غشای سلولی، مهار رادیکال های آزاد، خواص آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضد التهابی و افزایش غلظت گلوتاتیون سلولی اثر محافظت کبدی از خود نشان می‌دهد[Valenzuela et al., 1989]. تحریک DNA پلی‌مراز توسط سیلی‌مارین موجب افزایش سنتز RNA ریبوزمی[2] و در نتیجه بازسازی سلول های کبدی می‌شود. افزایش غلظت گلوتاتیون نیز موجب تثبیت سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز سلولی می‌شود که

[1]. Cycloxygenase II (COX_2)
[2]. rRNA

نتیجه آن افزایش توانایی سم زدایی کبد است. نشان داده شده است که سیلی‌مارین باعث افزایش ۳۵ درصدی میزان گلوتاتیون کبدی می‌شود [Campos et al., 1989]. سیلی‌مارین ساختمان غشای سلولی را تغییر داده و از نفوذ سموم به داخل سلول جلوگیری می‌کند. سیلی‌مارین همچنین با مهار چرخه لیپواکسیژناز و مهار تولید لوکوترین و رادیکال های آزاد در سلول های کوپفر کبد موش موجب کاهش التهاب کبدی می‌شود [Dehmlow et al., 1996].

همچنین سیلیبین که جزء اصلی سیلی‌مارین است در سلول‌های هپاتوسیت از تولید لیپید پراکسیداسیون و آسیب سلولی پیشگیری می‌کند [Fiebrich and Koch, 1979]. تحقیقات متعدد روی حیوانات زنده حاکی از آن است که سیلی‌مارین، سلول های کبد را در برابر انواع آسیب ها از جمله ویروس، مواد شیمیایی، مواد سمی طبیعی مانند سم قارچ آمانیتا[1] و الکل محافظت می‌نماید [Valenzuela et al., 1985]. سیلی‌مارین فیبروز کبدی ناشی از انسداد مجاری صفراوی در موش را مهار می‌کند [Valenzuela et al., 1985].

۱-٤ -٤- سیلی‌مارین و درمان سرطان

سرطان به عنوان یکی از علل اصلی مرگ و میر در جوامع امروزی شناخته شده و داروهای متعددی جهت درمان این بیماری معرفی شده ولی اکثر سرطان‌های شایع هنوز قابل کنترل نیست. آنتی‌اکسیدان‌ها به سه طریق در پیش‌گیری و درمان سرطان می‌توانند موثر باشند:

۱- نابودی رادیکالهای آزاد

۲- تقویت سیستم ایمنی جهت نابودی سلول‌های سرطانی

۳- پیشگیری از چسبندگی سلول‌های سرطانی به دیگر سلول‌ها و پیشگیری از تکثیر این سلول‌ها [Martinez et al., 2002; Ohigashi and Murakami, 2004].

مکانیسم‌های متعددی برای اثر سیلی‌مارین در مهار رشد سلول‌های سرطانی پیشنهاد شده است. گزارش تحقیقات حاکی از آن است که سیلی‌مارین موجب مهار کپی سازی در سلول‌های سرطانی، مهار تحریک کننده‌های سلولی، اختلال در انتقال پیام سلولی و همچنین موجب تحریک فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تنظیم چرخه سلولی می‌شود [Katiyar, Vinh et al., 2002; Ahmadi, 1998; 1997].

[1]. Amanita

نتایج آزمایشگاهی مشخص کرد که سیلی‌مارین دارای اثرات باز دارنده شیمیایی در سلولهای سرطانی اپیدرمی، پروستات و پستان در موش و حیوانات دیگر بوده است[Mukhtar and Agarwal, 1997]. سیلی‌مارین اثر محافظت سلولی در سلول‌های سرطانی پروستات و پستان انسان که در مواجه با کارسینوژن قرار داشتند را نشان داد [Zi et al., 1998]. همچنین مشاهده شده است که سیلی‌مارین موجب افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی پروستات مقاوم در برابر داروهای شیمی درمانی می‌شود[Dhanalakshmi et al., 2002].

گزارشات متعدد حاکی از آن است که سیلی‌مارین در کاهش عوارض ناشی از تجویز داروهای ضد سرطانی و همچنین تشدید اثرات درمانی آنها موثر است. سیلی‌مارین با داروهای متعارف شیمی درمانی بنام‌های سیس‌پلاتین[1] و دوکسوروبیسین[2] دارای اثرات تقویت کننده[3] است. سیلی‌مارین از طریق مهار تقسیم سلول‌های تومور، این سلول‌ها را به داروهای شیمی درمانی حساس‌تر می‌کند. این موضوع در سلول‌های سرطانی پستان و تخمدان در انسان نشان داده شده است[Agarwal et al., 2006]. داده‌های حیوانی موکد این است که سیلی‌مارین، ازایجاد سرطان ناشی از تابش اشعه ماورای بنفش جلوگیری می‌کند. گزارش شده که سیلی‌مارین بطور معنی‌داری موجب مهار رشد و تکثیر سلولهای سرطانی پوست ناشی از تابش اشعه ماورای بنفش در موش شده است[Katiyar et al., 1997]. در موش مشخص شد که ترکیب شیمیایی آزکسی‌متان[4] موجب ایجاد سرطان کولون می‌شود، در حالیکه تجویز همزمان آن با سیلی‌مارین موجب پیشگیری از ایجاد این سرطان شد[Kohno et al., 2002]. گزارش شده که تجویز خوراکی سیلی‌مارین به موش‌های مبتلا به سرطان پروستات موجب تولید پروتئین متصل شونده به عامل رشد سرطان (مشابه انسولین) در خون شده و با حذف این عامل رشد، از افزایش حجم توده سرطانی در موش به طور معنی‌داری پیشگیری شد[Singh et al., 2002].

[1]. Cisplatin
[2]. Doxorubicin
[3]. Synergism
[4]. azoxymethane