نشریه علوم دامی

شماره ۱٤٦، بهـــار ۱٤۰٤

ص‌ص: ۱۳۹~۱۵٦

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌هایپرلیپیدمی داروی آتورواستاتین و ریشه گیاه شیرین‌بیان درجوجه‌های گوشتی پرورش یافته در مناطق مرتفع

• **سمیرا عباس زاده**[۱](نویسنده مسئول)، **بهنام احمدی پور**[۲]، **نصرالله پیرانی**[۳] **و فریبرز خواجعلی**[٤]

۱- دانش آموخته دکتری، گرایش تغذیه طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم دامی، گرایش تغذیه طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم دامی، گرایش ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۴- استاد گروه علوم دامی، گرایش تغذیه طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت : اسفند ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش : مرداد ۱۴۰۳

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۹۷۷۷۴۷۹

Email: samira.abaszadehsku@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ ASJ.2024.365028.2367

چکیده

در مطالعه حاضر اثر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌هایپرلیپیدمی داروی آتورواستاتین و ریشه گیاه شیرین‌بیان در جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در ارتفاع بالا مورد بررسی گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تیمار، ٦ تکرار ۲۰ پرنده در تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل، جیره پایه، تیمار ۲ (جیره پایه + ۲۰ میلی‌گرم داروی آتورواستاتین)، تیمارهای ۳ و ٤ به‌ترتیب جیره پایه + ۳/۷۵ و ۷/۵ گرم در کیلوگرم پودر ریشه گیاه شیرین‌بیان، می‌باشد. نتایج آزمایش نشان داد که افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک (FCR) با افزودن آتورواستاتین و پودر ریشه شیرین‌بیان (۷/۵ گرم) بهبود قابل توجهی داشته است (P<۰/۰۵). گنجاندن آتورواستاتین و شیرین‌بیان همچنانکه بیان آنزیم‌های کلیدی لیپوژنیک کبدی استیل‌کوآ کربوکسیلاز (ACAC) و هیدروکسی‌متیل‌گلوتاریل‌کوآنزیم‌آردوکتاز (HMGCR) را نسبت به شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵)، باعث کاهش معنی‌دار چربی محوطه بطنی، وزن کبد و بطن راست نسبت به وزن زنده شد. از طرفی کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، تری‌آسیل‌گلیسرول (TAG) و لیپوپروتئین‌های با چگالی کم کلسترول (LDL) و افزایش غلظت نیتریک اکساید (NO) نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). با افزایش سطح شیرین‌بیان، طول تلومر DNA کبد افزایش یافت؛ اما بین تیمار مصرف کننده آتورواستاتین و شیرین‌بیان ۷/۵ گرم در کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در کل افزودن آتورواستاتین و گیاه دارویی شیرین‌بیان باعث تعدیل لیپوژنز، افزایش پاسخ آنتی‌اکسیدانی، بهبود عملکرد قلبی-ریوی و کاهش تخریب تلومر DNA در جوجه‌های گوشتی تحت شرایط هایپوکسی شد. استفاده از سطح ۲۰ میلی‌گرم آتورواستاتین و ۷/۵ گرم ریشه گیاه شیرین بیان در جیره باعث بهبود عملکرد و کاهش صفات مربوط به چربی در جوجه‌های گوشتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جوجه‌های گوشتی، آسیت، آتورواستاتین، شیرین‌بیان، طول تلومر.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by **Research Journal of Livestock Science** (https://asj.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Research Journal of Livestock Science No 146 pp: 139-156

Investigating the antioxidant and antihyperlipidemic effects of atorvastatin and liquorice *(Glycyrrhiza glabra L)* root in broiler chickens raised in high altitude

By: Samira Abaszadeh[1*], Behnam Ahmadipour[2], Nasrollah Pirany[3] and Fariborz Khajali[4]
1*:Corresponding author, Graduated from Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2,3,4-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received: March 2024 **Accepted: August 2024**

In the present study, the antioxidant and antihyperlipidemic effects of atorvastatin and liquorice root were investigated in broiler chickens raised at high altitude. The experiment was conducted in the form of a completely randomized design with 4 treatments, 6 repetitions, treatments include basic diet (control), treatment 2 (basic diet + 20 mg/kg of atorvastatin), treatments 3 and 4, respectively, basic diet + 3.75 and 7.5 g/kg of liquorice root powder. The test results showed that weight gain and feed conversion ratio were significantly improved by adding atorvastatin and liquorice root powder (7.5 g) (P<0.05). The inclusion of atorvastatin and liquorice decreased the expression of the key liver lipogenic enzymes acetyl-CoA carboxylase and hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase compared to the control (P<0.05), causing a significant decrease in abdominal fat, liver weight And the right ventricle was revived according to the weight. On the other hand, there was a decrease in the concentration of malondialdehyde, triacylglycerol and low density lipoproteins and an increase in the concentration of nitric oxide compared to the control group (P<0.05). With the increase in liquorice consumption level, the telomere length of liver DNA increased. In general, the addition of atorvastatin and liquorice herb moderated lipogenesis, increased antioxidant response, improved cardiopulmonary function, and reduced telomere DNA degradation in broilers under hypoxic conditions. According to the findings of this research, the use of 20 mg/kg of atorvastatin and 7.5 g/kg of liquorice root powder of diet improves performance and reduces the traits related to fat in broiler chickens.

Key words: broilers, ascites, atorvastatin, liquorice, telomere length

مقدمه

انتخاب‌های ژنتیکی پی در پی به همراه پرورش متراکم جوجه‌های گوشتی، موجب پیشرفت‌های بزرگ در صفات اقتصادی مانند وزن بدن، بازده خوراک و بازده سینه به‌منظور برآورد تقاضای مصرف‌کنندگان شده است. بااین‌وجود، جوجه‌های صنعتی تجاری در معرض تجمع بیش‌ازحد چربی در ناحیه بطنی و شکم هستند. این نوع چربی نه ازنظر فیزیولوژیکی موردنیاز است و نه برای تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان مطلوب است (Zhou و همکاران، ۲۰۰۶). گوشت مرغ همچنین دارای محتوای بالای اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه است که آن را مستعد پراکسیداسیون لیپیدی و باعث کاهش کیفیت گوشت می‌شود (Khajali، ۲۰۲۲). بااین‌حال، استراتژی‌های مربوط به ترکیب جیره غذایی و افزودنی‌ها ممکن است راه‌حل‌های کارآمدی برای کاهش ذخیره چربی بدن در سویه‌های تجاری باشد.

آتورواستاتین دارویی متعلق به گروه استاتین‌هاست که به‌عنوان مهارکننده‌های HMGCR نیز شناخته می‌شود. این گروه دارویی دارای فعالیت کاهش‌دهنده چربی‌اند که خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را کاهش می‌دهند. آتورواستاتین غلظت سرمی کلسترول، TAG و LDL را به‌طور چشمگیری در پستانداران کاهش می‌دهد

(Song و همکاران، ۲۰۱۴). بسیاری از مزایایی که برای استاتین‌ها قلمداد می‌شود، ازجمله اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، محافظت عصبی و بهبود و بازسازی بافت، در مسیر سیگنالینگ نیتریک اکساید اندوتلیال (eNOS) بوده است. چندین مطالعه تأیید کرده‌اند که استاتین‌ها تولید و فعالیت نیتریک اکساید را تنظیم می‌کنند (Kosmidou و همکاران، ۲۰۰۷).

گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra L*) عضوی از خانواده *Fabaceae* است که در کشورهایی نظیر آلمان، انگلستان، چین، روسیه، ایالات‌متحده آمریکا، ایتالیا، هند (Parvaiz و همکاران، ۲۰۱۴) و ایران (Khanahmadi و همکاران، ۲۰۱۳) توسعه‌یافته است. فلاونوئیدها و گلیسیریزین دو جزء مهم زیست فعال در ریشه شیرین‌بیان هستند (Karahan و همکاران، ۲۰۱۶). بررسی‌ها نشان داده است این گیاه دارویی قابلیت هضم مواد مغذی و دفاع آنتی‌اکسیدانی طیور را افزایش می‌دهد (Abo-Samaha و همکاران، ۲۰۲۲؛ Toson و همکاران، ۲۰۲۳). چندین ترکیب این گیاه مانند گلیسیریزین، اسید گلیسیریزینیک، گلابریدین A و B، ایزوفلاون‌ها، کومارین‌ها، استرول‌های تری ترپن و فلاونوئیدها دارای خواص ضد چربی خون هستند (Pereira و همکاران، ۲۰۱۹). Pereira و همکاران (۲۰۱۹) اثرات آنتی‌هایپرلیپیدمی عصاره ریشه‌ی شیرین‌بیان را روی موش‌های صحرایی بررسی و نشان دادند که عصاره اتانولی ریشه گیاه شیرین‌بیان دارای فعالیت ضد هیپرلیپیدمیک قابل‌توجهی است. همچنین می‌توان از ریشه این گیاه به‌عنوان عامل ضد چربی خون برای جلوگیری و درمان بیماری‌های قلبی_عروقی استفاده نمود (Awad، ۲۰۱۷).

در جوجه‌های گوشتی درگیر با عارضه فشارخون ریوی ساختار DNA سلول‌ها دچار تخریب‌شده و طول تلومر آن کاهش می‌یابد (Hassanpour و همکاران، ۲۰۲۳). کاهش زیاد طول تلومر منجر به از بین رفتن توانایی عملکرد این ساختار در انجام وظایف خود شده و درنهایت سلول را به‌سوی نابودی می‌برد. این ساختار برای جلوگیری از اختلال عملکرد سلولی حیاتی است. همچنان که عوامل تنش‌زا تأثیر زیادی بر پویایی و طول تلومر DNA در پرندگان دارند و باعث فرسایش و کاهش طول آن می‌شوند (Sohn و Subramani، ۲۰۱۴)، مصرف مواد خوراکی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثر فرسایشی این عوامل را تعدیل و از کاهش طول تلومر DNA ممانعت کند (Lee و همکاران، ۲۰۰۸).

لیپوژنز در جوجه‌های گوشتی به‌شدت تحت تأثیر عوامل تغذیه‌ای قرار می‌گیرد (Ahmadipour و همکاران، ۲۰۱۸). علاوه بر این، پراکسیداسیون لیپیدی را می‌توان با گنجاندن آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در جیره جوجه‌های گوشتی کاهش داد. مطالعات نشان داده که برنامه‌های تغذیه‌ای یک راهکار مؤثر در پیشگیری از مرگ‌ومیر ناشی از فشارخون ریوی و آسیت است (Khajali و Wideman، ۲۰۱۶). در مطالعه حاضر اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌هایپرلیپیدمی آتورواستاتین به‌عنوان یک داروی صنعتی و ریشه گیاه شیرین‌بیان به‌عنوان یک داروی گیاهی موردبررسی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش کار

این مطالعه در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد با ارتفاع حدود ۲۱۰۰ متر از سطح دریا اجرا شد. برای این منظور ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس (۳۰۸) با میانگین وزنی (۱±۳۹) به ۴ تیمار اختصاص داده شد. هر تیمار شامل ۶ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه به‌صورت تصادفی در هرتکرار قرار داده شدند. جیره‌های آزمایشی بر پایه دانه ذرت و کنجاله سویا و مطابق با دفترچه راهنمای مدیریتی راس ۳۰۸ (۲۰۱۴) با کمک نرم‌افزار UFFDA، برای سه دوره ۱ تا ۱۰ روزگی، ۱۱-۲۲ روزگی و ۲۳ تا ۴۲ روزگی تنظیم و به‌طور آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت (جدول ۱). در طول دوره پرورش، سه روز نخست ۲۴ ساعت روشنایی و بعدازآن تا پایان پرورش، به دلیل موقعیت جغرافیایی مکان پرورش که در سطح ۲۱۰۰ متری از سطح دریا می‌باشد، برای کاهش درگیری جوجه‌ها با عارضه‌ی فشار خون ریوی، از یک برنامه نوری ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت تاریکی (6L:2D) استفاده شد. طول دوره‌ی پرورش ۴۲ روز و دمای سالن بر اساس توصیه سویه به‌صورت نرمال تنظیم شد.

تیمارهای آزمایشی شامل:

۱- جیره پایه

۲- جیره پایه + ۲۰ میلی‌گرم آتورواستاتین در هر کیلوگرم جیره

۳- جیره پایه + ۳/۷۵ گرم پودر ریشه گیاه شیرین‌بیان در هر کیلوگرم جیره (سطح ۱)

۴- جیره پایه + ۷/۵ گرم پودر ریشه گیاه شیرین‌بیان در هر کیلوگرم جیره (سطح ۲)

ریشه شیرین‌بیان تازه از بازار محلی خریداری و در محیط آزمایشگاهی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد و با آسیاب چکشی (Riechst model Z-I، اشتوتگارت، آلمان) آسیاب شد. اسانس ریشه با استفاده از کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی استخراج و برای ترکیبات فعال زیستی آنالیز شد (جدول ۲ و ۳).

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های مورداستفاده

مواد خوراکی (درصد)	جیره آغازین (۱-۱۰ روزگی)	جیره رشد (۱۱-۲۲ روزگی)	جیره پایانی (۲۲-۴۲ روزگی)
ذرت	۵۳/۲۶	۵۶/۲۶	۶۱/۹۸
کنجاله سویا (CP %۴۴)	۳۶/۶۵	۳۶/۲۷	۳۰/۰۷
گلوتن ذرت	۳۰/۴۶	–	–
روغن سویا	۱/۳۴	۲/۶۷	۳/۴۷
دی کلسیم فسفات	۲/۱۵	۱/۹۱	۱/۶۵
پودر صدف	۰/۶۸	۰/۶۱	۰/۵۷
نمک	۰/۱۶	۰/۲۰	۰/۱۹
سدیم بی‌کربنات	۰/۲۹	۰/۲۴	۰/۲۵
DL– متیونین	۰/۳۱	۰/۲۹	۰/۲۷
L- لیزین	۰/۲۸	۰/۱۷	۰/۱۸
L- ترئونین	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۰۷
کولین کلراید	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۵
مکمل مواد معدنی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی[۲]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
سبوس گندم*	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵
آنالیز خوراک			
ماده خشک	۸۹/۰۲۶	۸۸/۹۳۴	۸۸/۹۲۰
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۸۸۰	۲۹۵۰	۳۰۷۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۷۳	۲۰/۵۷۹	۱۸/۲۵۷
متیونین (درصد)	۰/۶۳۱	۰/۵۷۴	۰/۵۲۸
متیونین +سیستین (درصد)	۰/۹۱۰	۰/۸۳۳	۰/۷۶۴
لیزین (درصد)	۱/۲۳	۱/۱۱۰	۰/۹۸۰
سدیم	۰/۱۵۷	۰/۱۵۷	۰/۱۵۷
کلر	۰/۲۰۴	۰/۲۰۴	۰/۲۰۴
پتاسیم	۰/۹۳۱	۰/۹۲۶	۰/۸۱۷
پتاسیم+سدیم+کلر (mEq/kg)	۲۴۹/۱۰	۲۴۷/۸۲	۲۱۹/۹۲

۱ مکمل استفاده‌شده در هر کیلوگرم، دارای مواد زیر بوده است: ویتامین‌ها شامل: ۴۴۰۰۰ واحد جهانی آ، ۷۲۰۰ واحد جهانی د- ۳، ۴۴۰ میلی‌گرم ای، ۴۰ میلی‌گرم ک، ۷۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۵ میلی‌گرم تیامین، ۳۲۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۲۹۰ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۲۰ میلی‌گرم نیاسین، ۶۵ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۲ میلی‌گرم بیوتین و ۲۷۰ میلی‌گرم کولین کلراید.

۲ مواد معدنی شامل: ۹۵۰ میلی‌گرم منگنز، ۴۵۰ میلی‌گرم روی، ۳۲۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم مس، ۶۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۶۸ میلی‌گرم ید و ۴۵ میلی‌گرم کبالت

*در تیمار آزمایشی ۲ از ۲۰ میلی‌گرم داروی آنوراستاتین و در تیمارهای ۳ و ۴ به ترتیب ۰/۳۷۵ و ۰/۷۵ درصد شیرین‌بیان پودر ریشه جایگزین سبوس گندم گردید.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی پودر ریشه شیرین‌بیان

پروتئین خام (درصد)	انرژی خام (کیلوکالری بر کیلوگرم)	فیبر (درصد)	خاکستر (درصد)	کلسیم (درصد)	فسفر (درصد)	پتاسیم (درصد)	سدیم (درصد)	کلر (درصد)	گوگرد (درصد)
۸/۵	۱۸۲۰	۱۴/۳	۸/۲	۲/۳	۰/۱	۳/۳	۰/۰۷	۰/۰۵	۰/۲۲

جدول ۳- ترکیبات زیست فعال ریشه شیرین‌بیان

ترکیب	(%) درصد
α-Pinene	۱/۲
γ-Terpinene	۳/۵
Tetradecane	۲/۳۴
Undecane	۴/۷۷
Silane, cyclohexyldimethoxymethyl	۲/۶۸
Dodecane	۱۰/۳۴
Hexadecane	۳/۲۵
2,6,11-Trimethyldodecane	۶/۴۱
9-Octadecenoic Acid	۱/۷۶
n-Tridecane	۵/۸۰
2',6'-Dihydroxyacetophenone	۸/۴۸
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	۳/۵۴
2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	۲/۵۷

صفات موردبررسی

عملکرد رشد

اندازه‌گیری مصرف خوراک و افزایش وزن برای دوره آغازین، رشد، پایانی و کل دوره، محاسبه شدند. ضریب تبدیل غذایی نیز به‌صورت دوره‌ای محاسبه و بر اساس وزن تلفات تصحیح شد.

صفات خونی و سرمی

در سن ۴۲ روزگی با توجه به میانگین وزنی هر تکرار، ۴ قطعه جوجه از هر تکرار انتخاب و از ورید بال هر پرنده ۳ میلی‌لیتر خون‌گیری و سپس کشتار شدند. نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سرم به‌دست‌آمده برای تعیین غلظت فاکتورهای سرمی و خونی دردمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. برای اندازه‌گیری تری گلیسیرید و کلسترول از دستگاه اتوانالایز BT 3000 ساخت کشور ایتالیا و از کیت‌های شرکت پارس آزمون (www.parsazmun.ir) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری غلظت نیتریک اکساید (NO) سرم از روش Behrooj و همکاران (۲۰۱۲) و اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدئید (MDA) از روش Nair و Turner (۱۹۸۴) استفاده شد.

صفات لاشه

پس از کشتار بلافاصله عملیات پرکنی صورت گرفت. لاشه‌ها وزن‌کشی شدند و عملیات خارج کردن امعاء و احشاء روی آن‌ها صورت گرفت و وزن قلب، کبد، طحال، بورس و چربی محوطه بطنی به‌وسیله ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. همچنین با تجزیه لاشه وزن ران، سینه و پشت با ترازویی با دقت ۱ گرم به دست آمد. قلب جوجه‌های کشتار با دقت برداشته شد و بطن‌ها از

دهلیز به‌صورت دقیق جدا و سپس بطن راست از بطن چپ از ناحیه سپتوم جدا شد. بعد از توزین جداگانه بطن‌ها، نسبت بطن راست به کل بطن‌ها (RV/TV) برای جوجه‌های کشتار شده محاسبه شد. برای کشتار و تقسیم‌بندی اجزاء لاشه از روش استاندارد توصیه‌شده در منابع علمی (Khajali و همکاران، ۲۰۱۱) استفاده شد.

اندازه‌گیری بیان ژن‌های کبدی مؤثر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سنتز چربی

از ۴ پرنده کشتار شده از هر تکرار، نمونه کبد برداشت و به روش حسن‌پور و همکاران (Hassanpour و همکاران، ۲۰۱۸) مراحل اندازه‌گیری نسبی بیان ژن انجام گرفت. به‌طور خلاصه روند کار طی سه مرحله صورت پذیرفت؛ مرحله اول نمونه برداشت‌شده از بافت کبد فورا در فویل آلومینیومی قرار داده شد و بعد از شماره زنی به تانک ازت مایع منتقل شد. در مرحله دوم استخراج و خالص‌سازی RNA از بافت موردنظر با استفاده از کیت سیناکلون مطابق دستورالعمل انجام و در مرحله سوم cDNA تولید و عمل Real Time RT- PCR برای ژن کنترل و ژن‌های هدف صورت گرفت. بطوریکه ابتدا یک کپی DNA از روی RNA به دست آورده (رونوشت برداری معکوس یا (RT)) سپس DNA کپی شده یا همان cDNA با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز افزوده شد. ژن YWHAZ به‌عنوان ژن مرجع انتخاب و پرایمرهای موردنظر با استفاده از نرم‌افزار Primer-Blast قابل‌دسترس در شبکه اینترنت (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC = BlastHome) طراحی شد. جدول ۴ توالی پرایمرهای مورداستفاده را نشان می‌دهد. میزان بیان ژن هدف نسبت به ژن کنترل داخلی اندازه‌گیری و نتایج با استفاده از نرم‌افزار Line Reg PCR آنالیز و با روش Pfaffle مقادیر نسبی ژن در گروه‌ها محاسبه شد.

جدول ٤- ترتیب و سایر مشخصات پرایمرهای به کار گرفته‌شده در واکنش PCR

نام ژن	ترتیب پرایمر	طول قطعه (جفت باز)	کد شناسایی
YWHAZ	F:5′-AGGAGCCGAGCTGTCCAATG-3′ R:5′-CTCCAAGATGACCTACGGGCTC-3′	84	NM_001031343.1
SOD1	F:5′-CACTGCATCATTGGCCGTACCA-3′ R:5′-GCTTGCACACGGAAGAGCAAGT-3′	224	NM_205064.1
GPX1	F:5′-GCTGTTCGCCTTCCTGAGAG-3′ R:5′-GTTCCAGGAGACGTCGTTGC-3′	118	NM_001277853.1
FAS	F:5'-GCTGGCTACAGTGGTGGACT-3' R:5'-CCACCTCGAACCACCAAAGC-3'	129	NM_205155.2
ACAC	F:5'-CAACGAGTCGGGCTACTACC-3' R:5'-GGTCCTTGGTCACGTATGGG-3'	146	J03541.1
iNOS	F:5′-AGGCCAAACATCCTGGAGGTC-3′ R:5′-TCATAGAGACGCTGCTGCCAG-3′	371	U46504
ET-1	F:5′-TCTTGGAGGCCCTTCTCGGT-3′ R:5′-TCTCTCTGGCTGGCACATCG-3′	99	MK139007.1
HMGCR	F:5′-TTCTCGGCCGGGCGATTT-3′ R:5′-CCCATGGATGAGAGGCCACA-3′	100	NM_204485.3

Abrbreviations: YWHAZ, tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta; SOD1, superoxide dismutase 1; GPX, Glutathione peroxidase; FAS, fatty acid synthase; ACAC, acetyl-coAcarboxylase; HMGCR, Hydroxy-methylglutaryl-CoA; iNOS, inducible nitric oxide synthase; ET-1, endothelin 1.

اندازه‌گیری طول نسبی تلومر

مشابه مرحله قبل نمونه از کبد ۴ جوجه برداشت ولی این بار استخراج و خالص‌سازی DNA از بافت موردنظر با استفاده از کیت سینا کلون مطابق دستورالعمل انجام گرفت. در مرحله بعد با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز Real Time-PCR و پرایمر اختصاصی (جدول۵)، تلومر تکثیر شد. میزان بیان تلومر نسبت به ژن کنترل داخلی اندازه‌گیری و نتایج با استفاده از نرم‌افزار Line Reg PCR آنالیز و با روش (۲۰۰۱) Pfaffle، مقادیر نسبی ژن در گروه‌ها محاسبه شد.

جدول ۵- تعیین توالی تلومر و ژن کنترل داخلی

نام ژن	توالی
YWHAZ	F:5′-AGGAGCCGAGCTGTCCAATG-3′ R:5′-CTCCAAGATGACCTACGGGCTC-3′
Tel	F:5′- CGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT -3′ R:5′- GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT -3′

Abrbreviations: YWHAZ, tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta; Tel, telomere.

آنالیز آماری

کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ویرایش و جهت تجزیه‌وتحلیل آماری در یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از روش GLM توسط نرم‌افزار آماری (۲۰۰۷) SAS انجام گردید. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

جدول ۶ تأثیر آتورواستاتین و دو سطح شیرین‌بیان را بر عملکرد رشد، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف رشد نشان می‌دهد. در دوره‌های ۱۱ تا ۲۱ روزگی، ۲۲ تا ۴۲ روزگی و کل دوره پرورش در تیمارهای حاوی آتورواستاتین و سطح ۷/۵ شیرین‌بیان، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد، کاهش معنی‌دار و افزایش وزن بدن اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).

جدول ٦- اثر آتورواستاتین و شیرین‌بیان بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی

فراسنجه ها	شاهد	آتورواستاتین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۳/۵ گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۷/۵ گرم بر کیلوگرم)	SEM **	P-value
مصرف خوراک (گرم)						
۱ تا ۱۰ روزگی	۲۴۲/۴^{a}	۲۳۲/۴۰^{ab}	۲۳۸/۴۷^{b}	۲۳۱/۵۰^{b}	۲/۷۲	۰/۰۴۵
۱۱ تا ۲۱ روزگی	۹۱۰/۷۵^{ab}	۸۷۷/۷۵^{b}	۹۲۶/۷۵^{a}	۸۹۱^{ab}	۱۱/۵۹	۰/۱۱۲
۲۲ تا ۴۲ روزگی	۳۳۴۴/۲۵^{a}	۳۱۶۸/^{b}	۳۲۱۳/۸۰^{b}	۳۲۱۵/۱۵^{b}	۲۹/۴۰	۰/۰۰۶
۱ تا ۴۲ روزگی	۴۴۹۷/۴۸^{a}	۴۲۸۹^{b}	۴۳۷۹/۰۵^{b}	۴۳۳۷/۶۵^{b}	۳۲/۰۶	۰/۰۰۳
افزایش وزن (کیلوگرم)						
۱ تا ۱۰ روزگی	۱۸۶/۰۵	۱۸۳/۴۵	۱۸۸	۱۸۱/۹۲	۲/۸۴	۰/۴۶۸
۱۱ تا ۲۱ روزگی	۵۶۹/۳	۵۹۳/۵۵	۵۹۱/۰۵	۵۹۰/۰۵	۶/۵۷	۰/۰۷۸
۲۲ تا ۴۲ روزگی	۱۶۶۳/۳^{b}	۱۷۹۰/۷۵^{a}	۱۷۳۷/۸۸^{a}	۱۷۷۱/۲۰^{a}	۲۲/۵۵	۰/۰۰۹
۱ تا ۴۲ روزگی	۲۴۱۹/۱^{b}	۲۵۶۷/۷۸^{a}	۲۵۱۶/۸۸^{a}	۲۵۴۳/۱۵^{a}	۲۶/۱۵	۰/۰۰۸
ضریب تبدیل خوراک						
۱ تا ۱۰ روزگی	۱/۲۸	۱/۲۶	۱/۲۶	۱/۲۷	۰/۰۱۲	۰/۷۵۳
۱۱ تا ۲۱ روزگی	۱/۶۰^{a}	۱/۴۹^{c}	۱/۵۶^{ab}	۱/۵۱^{bc}	۰/۰۲۰	۰/۰۱۲
۲۲ تا ۴۲ روزگی	۲/۰۱^{a}	۱/۷۶^{c}	۱/۸۵^{bc}	۱/۸۱^{bc}	۰/۰۱۹	۰/۰۰۰۱
۱ تا ۴۲ روزگی	۱/۸۵^{a}	۱/۶۷^{c}	۱/۷۴^{b}	۱/۷۰^{bc}	۰/۰۱۴	۰/۰۰۰۱

*در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه، ازلحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵)

**SEM: Standard Error of Mean(اشتباه معیار میانگین)

بر اساس نتایج جدول ۷، بازدهی لاشه، بازدهی ران‌ها، وزن قلب، بطن‌ها، چربی محوطه بطنی، کبد، بورس و طحال در تیمارهای مصرف‌کننده آتورواستاتین و شیرین‌بیان نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). وزن چربی محوطه بطنی در تیمار مصرف‌کننده آتورواستاتین نسبت به تیمار مصرف‌کننده سطح ۱ شیرین‌بیان کاهش معنی‌داری نشان داد ولی با افزایش سطح مصرفی گیاه دارویی (مصرف ۷/۵ گرم در کیلوگرم جیره)، این کاهش تعدیل‌شده و تفاوت معنی‌داری با داروی آتورواستاتین نشان نداد (P<۰/۰۵). نسبت وزن طحال به وزن بدن در تیمار حاوی آتورواستاتین نسبت به مصرف سطح ۱ شیرین‌بیان افزایش معنی‌داری نشان داد ولی تفاوت بین دو تیمار مصرف‌کننده شیرین‌بیان معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). وزن بطن راست به وزن زنده و همچنین نسبت وزن بطن راست به وزن بطن‌ها در تیمار مصرف‌کننده آتورواستاتین کمترین مقدار بود. این مقادیر با مصرف سطح ۱ شیرین‌بیان به‌طور معنی‌دار افزایش داشته ولی با مصرف سطح ۲ شیرین‌بیان کاهش داشت بطوریکه مصرف ۷/۵ گرم شیرین‌بیان ازلحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با داروی آتورواستاتین نشان نداد.

جدول ۷- اثر آتورواستاتین و شیرین‌بیان بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

خصوصیات	شاهد	آتورواستاتین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۳/۵ گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۷/۵ گرم بر کیلوگرم)	SEM **	P-value
بازدهی لاشه (٪)	۷۳/^{b}	۷۴/۳۹^{a}	۷۴/۱۷^{a}	۷۵/۱۲^{a}	۰/۳۵۱	۰/۰۰۳۸
بازدهی سینه (٪)	۳۱/۵۲	۳۲/۱۶	۳۱/۵۲	۳۲/۳۰	۰/۴۴۳	۰/۴۷۳
بازدهی ران‌ها (٪)	۲۶/۰۶^{b}	۲۷/۱۹^{a}	۲۶/۸۹^{ab}	۲۷/۱۰^{a}	۰/۳۰۱	۰/۰۵۵
وزن قلب به وزن زنده بدن (٪)	۰/۷۷^{a}	۰/۵۹^{b}	۰/۶۰^{b}	۰/۶۰^{b}	۰/۰۲۵	۰/۰۰۰۱
وزن کبد به وزن زنده بدن (٪)	۳/۰۳^{a}	۲/۱۷^{b}	۲/۴۰^{b}	۲/۴۲^{b}	۰/۱۵۱	۰/۰۰۳
وزن چربی محوطه بطنی به وزن زنده بدن (٪)	۱/۵۷^{a}	۱/۱۰^{b}	۱/۳۵^{ab}	۱/۲۹^{a}	۰/۰۸۲	۰/۰۰۳
نسبت وزن طحال به وزن بدن (٪)	۰/۱۱۲^{b}	۰/۱۴۰^{a}	۰/۱۱۱^{b}	۰/۱۳۱^{ab}	۰/۰۰۷	۰/۰۶۷
نسبت وزن بورس به وزن بدن (٪)	۰/۰۶۵^{b}	۰/۰۹۸^{a}	۰/۰۸۶^{a}	۰/۰۹۲^{a}	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳
وزن بطن راست به وزن زنده بدن (٪)	۰/۱۵۷^{a}	۰/۰۹۲^{c}	۰/۱۱۵^{b}	۰/۱۰۲^{bc}	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۱
وزن بطن‌ها به وزن زنده بدن (٪)	۰/۵۰۵^{a}	۰/۴۱۱^{b}	۰/۴۳۳^{b}	۰/۴۱۲^{b}	۰/۰۱۹	۰/۰۱۳
وزن بطن راست به وزن بطن‌ها (٪)	۰/۳۱۵^{a}	۰/۲۲۵^{c}	۰/۲۶۱^{b}	۰/۲۴۱^{bc}	۰/۰۱۱	۰/۰۰۰۱

*در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه، ازلحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵)،

**SEM: Standard Error of Mean(اشتباه معیار میانگین)

جدول ۸ اثر آتورووواستاتین و شیرین‌بیان (سطح ۱ و دو) را بر فراسنجه‌های خونی-سرمی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی نشان می‌دهد. این نتایج حاکی از اختلاف معنی‌دار در هماتوکریت و غلظت تری گلیسرید و کلسترول سرم خون در تیمارهای آزمایشی می‌باشد. بطوریکه درصد هماتوکریت و غلظت تری گلیسرید، کلسترول، LDL و مالون دی الدهاید در تیمارهای آتورواستاتین و سطح ۲ شیرین‌بیان نسبت به تیمار شاهد و سطح ۱ شیرین‌بیان کاهش معنی‌دار نشان داده است (P<۰/۰۵). درصورتی‌که سطح HDL و نیتریک اکساید در تیمارهای آتورواستاتین و سطح ۷/۵ گرم شیرین‌بیان بالاتر از تیمارهای مصرف‌کننده شاهد و ۳/۷۵ گرم ریشه گیاه شیرین‌بیان می‌باشد (P<۰/۰۵). درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت خون در تیمار حاوی داروی آتورواستاتین نسبت به تیمارهای حاوی گیاه دارویی شیرین‌بیان کمترین مقدار و برعکس میزان لنفوسیت بیشترین مقدار بود (P<۰/۰۵). همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سطح مصرفی شیرین‌بیان مقادیر به نتایج حاصل از مصرف آتوروستاتین نزدیک‌تر و تفاوت به حداقل رسیده است.

جدول ۸- اثر آتورواستاتین و شیرین‌بیان بر فراسنجه های خونی و سرمی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

فراسنجه ها	شاهد	آتورواستاتین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۳/۵ گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۷/۵ گرم بر کیلوگرم)	SEM**	P-value
هماتوکریت (٪)	۵۵/۳۷^{a}	۴۷/۷۵^{b}	۵۲/۱۲^{ab}	۵۰/۲۵^{b}	۱/۶۰	۰/۰۱۷
هتروفیل (٪)	۴۴/۲۵^{a}	۳۵/۱۲^{c}	۴۰/۸۷^{ab}	۳۶/۲۵^{bc}	۱/۸۰	۰/۰۰۴
لنفوسیت (٪)	۵۴/۱۷^{c}	۶۳/۸۷^{a}	۵۸/۱۲^{ab}	۶۲/۷۵^{bc}	۱/۷۷	۰/۰۰۴
هتروفیل به لنفوسیت (٪)	۰/۸۲۶^{a}	۰/۵۵^{b}	۰/۷۰^{ab}	۰/۵۸^{ab}	۰/۰۵۲	۰/۰۰۴
نیتریک اکساید (میکرو مول در لیتر)	۵/۷۱^{b}	۱۰/۰۶^{a}	۷/۹۰^{ab}	۸/۸۱^{ab}	۱/۱۰۶	۰/۰۲۲
مالون دی الدهاید (میکرو مول در لیتر)	۳/۳۹^{a}	۲/۰۹^{b}	۲/۹۵^{a}	۲/۰۶^{b}	۰/۳۲۷	۰/۰۴۱
تری آسیل گلیسرول (میلی گرم در دسی لیتر)	۷۲/۶۲^{a}	۵۰/۶۲^{b}	۷۱/۱۲^{a}	۵۸/۳۷^{b}	۵/۸۱	۰/۰۳۵
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۲۱/۳۸^{a}	۹۴/۰۰^{b}	۱۱۵/۱۲^{a}	۱۱۰/۸۷^{ab}	۶/۸۵	۰/۰۴۶
HDL(میلی گرم در دسی لیتر)	۲۲/۹۱^{b}	۳۶/۶۶^{a}	۳۰/۰۲^{ab}	۳۰/۳۰^{ab}	۲/۶۹	۰/۰۱۲
LDL(میلی گرم در دسی لیتر)	۲۹/۳۳^{a}	۱۸/۰۶^{c}	۲۶/۹۲^{ab}	۲۲/۸۲^{bc}	۱/۹۴	۰/۰۰۱

*در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه، ازلحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵)،

**SEM: Standard Error of Mean(اشتباه معیار میانگین)

جدول ۹ اثر داروی آتورواستاتین و گیاه دارویی شیرین‌بیان بر روی بیان ژن نیتریک اکساید سنتتاز القایی (iNOS)، ژن سوپراکسید دسموتاز ۱ (SOD1)، اندوتلین ۱ (ET1)، هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم آ ردوکتاز (HMGCOA)، استیل کوآ کربوکسیلاز (ACAC)، گلوتاتیون پراکسیداز ۱ (GPX1) و اسید چرب سینتاز (FAS) کبد آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بیان ژن نیتریک اکساید، سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز ۱ در تیمار آتورواستاتین و شیرین‌بیان ۷/۵ گرم افزایش معنی‌دار را در مقابل شاهد و شیرین‌بیان ۳/۷۵ نشان داده است (P<۰/۰۵). در مقابل بیان ژن‌های اندوتلین ۱، استیل کو آ کربوکسیلاز، اسید چرب سینتاز و هیدروکسی متیل گلوتاریل کو آنزیم آ ردوکتاز در تیمار حاوی آتورواستاتین و سطح ۲ شیرین‌بیان نسبت به شاهد و ۳/۷۵ شیرین‌بیان کاهش معنی‌داری را حاصل نموده است (P<۰/۰۵). این تفاوت در بیان کلیه ژن‌ها با افزایش سطح گیاه شیرین‌بیان در جیره به حداقل رسیده و مصرف ۷/۵ گرم پودر ریشه شیرین‌بیان با مقادیر حاصل از مصرف آتورواستاتین اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد و هر دو سبب کاهش سنتز چربی شده‌اند.

در جدول ۱۰ تأثیر داروی آتورواستاتین و شیرین‌بیان بر طول تلومر DNA سلول‌های کبد نشان داده‌شده است. طول تلومر در جوجه‌های مصرف‌کننده آتوروستاتین بیشترین مقدار و در جوجه‌های شاهد و شیرین‌بیان ۳/۷۵ گرم کمترین مقدار ارزیابی شد (P<۰/۰۵). با افزایش سطح مصرف شیرین‌بیان طول تلومر ژن‌های کبدی افزایش نشان داد بطوریکه بین تیمار مصرف‌کننده آتورواستاتین و شیرین‌بیان ۷/۵ گرم در کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۹- اثر آتورواستاتین و شیرین‌بیان بر بیان ژن‌های کبدی جوجه‌های گوشتی

ژن	شاهد	آتورواستاتین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۳/۵ گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۷/۵ گرم بر کیلوگرم)	SEM**	P-value
iNOS	۰/۱۲۴^{b}	۰/۴۹۵^{a}	۰/۲۸۶^{ab}	۰/۴۱۷^{a}	۰/۰۷۵	۰/۰۲۶
ET1	۱/۰۱۰^{a}	۰/۴۱۷^{b}	۰/۹۸۳^{a}	۰/۴۲۴^{b}	۰/۱۴۷	۰/۰۲۲
SOD	۰/۲۱۲^{c}	۲/۴۶۲^{a}	۱/۰۹۸^{bc}	۱/۷۶۲^{ab}	۱/۷۸	۰/۰۲۶
GPX	۰/۰۵۵^{b}	۰/۳۶۹^{a}	۰/۱۸۴^{ab}	۰/۳۵۲^{a}	۰/۰۶۸	۰/۰۲۴
FAS	۱/۵۴۱^{a}	۰/۲۵۶^{c}	۰/۹۸۸^{b}	۰/۴۳۳^{c}	۰/۱۷۵	۰/۰۰۰۹
HMG	۰/۶۵۱^{a}	۰/۰۹۴^{c}	۰/۴۰۷^{b}	۰/۰۴^{ab}	۰/۰۵۷	۰/۰۰۰۱
ACAC	۰/۸۸۹^{a}	۰/۲۳۵^{b}	۰/۸۵۵^{a}	۰/۴۵۲^{b}	۰/۰۳۹	۰/۱۶۳

*در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه، ازلحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵)،

**SEM: Standard Error of Mean(اشتباه معیار میانگین)

جدول ۱۰- اثر آتورواستاتین و شیرین‌بیان بر طول تلومر کبدی جوجه‌های گوشتی

تیمار	شاهد	آتورواستاتین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۳/۵ گرم بر کیلوگرم)	شیرین‌بیان (۷/۵ گرم بر کیلوگرم)	SEM**	P-value
طول تلومر	۵۵۱/۵^{c}	۲۷۶۹/۰^{a}	۹۴۷/۷^{bc}	۱۹۱۰/۷^{ab}	۳۹۰/۲۱	۰/۰۰۷

*در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه، ازلحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵)،

**SEM: Standard Error of Mean(اشتباه معیار میانگین)

بحث

بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده آتورواستاتین مطابق با نتایج تحقیق Golrokh و همکاران (۲۰۱۶) بود. بطوریکه بهبود قابل‌توجهی در عملکرد رشد جوجه‌ها با تجویز آتورواستاتین گزارش کردند. یافته‌های آن‌ها توضیح می‌دهد که آتورواستاتین کاتابولیسم اسیدهای چرب را تسهیل می‌کند و بنابراین انرژی را برای رشد و توسعه عضلات فراهم می‌کند.

بهبود FCR با افزایش سطح شیرین‌بیان هم سو با نتایج Toson و همکاران (۲۰۲۳) است. آن‌ها بیان کردند که این بهبود عملکرد ممکن است به دلیل ترکیبات شیرین‌بیان باشد که می‌تواند قابلیت هضم را افزایش دهد، ترشح آنزیم گوارشی را تحریک کند، از اکسیداسیون بافت‌ها جلوگیری کند و وضعیت میکروبی روده را تنظیم کند که منجر به بهبود ویژگی‌های رشد این جوجه‌ها شده است. نتایج آزمایش حاضر با نتایج Iqbal و همکاران (۲۰۲۰) و Hosny و همکاران (۲۰۲۰) بر روی عصاره شیرین‌بیان در بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی و بلدرچین‌های ژاپنی مطابقت دارد. نتایج این پژوهش با بررسی‌های Alagawany و همکاران (۲۰۱۹) بر روی تأثیر عصاره شیرین‌بیان بر بازده لاشه جوجه‌های گوشتی و کاهش چربی محوطه شکمی هم سو می‌باشد. همچنان که Wu و همکاران (۲۰۲۳) و Ahmadipour و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان دادند عصاره گیاهان دارویی باعث بهبود عملکرد، کاهش لیپوژنز و چربی محوطه شکمی جوجه‌های گوشتی شده است. با توجه به ارتباطی که بین بیماری‌های قلبی-عروقی و چربی و فشارخون وجود دارد، ریشه گیاه شیرین‌بیان با کم کردن لیپوژنز و گشاد کردن عروق، فشار مکانیکی بر روی قلب و به‌خصوص بطن راست را در شرایط هایپوکسی و سرما جهت تأمین اکسیژن برای سایر بافت‌ها کاهش می‌دهد و بدین طریق استفاده از شیرین‌بیان در تغذیه جوجه‌های تجاری، از

هایپرتروفی قلب و خصوصاً هایپرتروفی بطن راست جلوگیری می‌کند.

نسبت RV/TV شاخصی برای تعیین فشارخون ریوی در مرغ‌های گوشتی می‌باشد. چنانچه این نسبت از ۲۵ درصد بالاتر باشد، نشان‌دهنده این است که جوجه‌های گوشتی درگیر عارضه فشارخون ریوی می‌باشند (Izadinia و همکاران، ۲۰۱۰). میانگین داده‌های این آزمایش نشان می‌دهد که نسبت RV/TV در گروه مصرف‌کننده آتورواستاتین کمترین مقدار و در تیمار شاهد بیشترین مقدار است و همین امر درگیری این گروه از جوجه‌های گوشتی با فشارخون ریوی را نشان می‌دهد.کاهش نسبت وزن قلب به وزن زنده بدن و RV/TV در پرندگانی که آتورواستاتین و سطح بالاتر شیرین‌بیان دریافت کردند، مزایای سلامتی آتورواستاتین و ریشه شیرین‌بیان را تأیید کرد. تحقیقات نشان داده شده است که آتورواستاتین با جلوگیری از تخریب عروق ریوی و تنظیم تکثیر سلول‌های ماهیچه صاف شریان ریوی، از فشارخون ریوی پیشگیری کرده و آن را کاهش می‌دهد (Wang و همکاران، ۲۰۱۶). ترکیبات فلاوونوئید و فتالیدی از اجزای اصلی گیاهان دارویی می‌باشند که دارای اثر اتساع دهندگی عروق می‌باشند. اثرات شل کنندگی عضلات صاف توسط فلاوونوئیدها می‌تواند با مکانیسم‌هایی مرتبط باشد که باعث کاهش جریان و انتقال یون‌های Ca^{2+} از غشای سلولی می‌شوند (Vergara-Galicia و همکاران، ۲۰۱۳). علاوه بر این، ترکیبات فتالیدی با اثر مهارکنندگی خود بر روی پروستاگلاندین F2α باعث اتساع عروق می‌شوند (Narumiya و همکاران، ۱۹۹۹).

افزایش میانگین وزنی طحال به‌منزله توان بالاتر پرنده جهت مقاومت و مبارزه با بیماری‌ها و تنش‌ها می‌باشد (لیسر، ۲۰۱۰). نتایج پژوهش حاضر با گزارش‌های Metwally و همکاران (۲۰۲۳) در بررسی تأثیر گیاهان دارویی روی عملکرد بلدرچین‌های ژاپنی هم‌راستا بوده است. بطوریکه وزن بورس فابرسیوس و وزن طحال به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داشت؛ بنابراین با افزایش وزن بورس فابرسیوس و طحال در این پرندگان این‌چنین برداشت می‌شود که تغذیه پرندگان با داروی آتورواستاتین و ۷/۵ گرم شیرین‌بیان، افزایش پاسخ ایمنی و بهبود مقاومت پرندگان در شرایط هایپوکسی را به همراه داشته است.

در جوجه‌های گوشتی نیتریک اکساید مقاومت عروقی ریوی را از طریق اتساع عروق و همچنین کاهش عکس‌العمل آن‌ها نسبت به عوامل منقبض کننده وابسته به اندوتلیال مانند ترمبوکسان A_2 و اندوتلین ۱ کاهش می‌دهد (Odom و همکاران، ۲۰۰۴). آتورواستاتین از طریق مکانیسم‌های متفاوتی،NO را از طریق افزایش بیان نیتریک اکساید سنتتاز (eNOS) افزایش می‌دهد. بطوریکه ۱۴ روز پس از قرار گرفتن موش در معرض آتورواستاتین، افزایش سه برابری در بیان و فعالیت eNOS دیده شد (Laufs و همکاران، ۲۰۰۰). استاتین‌ها همچنین با جلوگیری از تخریب NO توسط گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) میزان NO قابل‌دسترس را افزایش می‌دهند (Piechota-Polanczyk و همکاران، ۲۰۱۸). در پژوهش حاضر نیز تیمار مصرف‌کننده آتورواستاتین و شیرین‌بیان سطح بالاتری از NO را نسبت به تیمار شاهد نشان داده است. کاهش غلظت مالون دی آلدئید در تیمارهای مصرف‌کننده آتورواستاتین و سطح ۷/۵ گرم شیرین‌بیان نشان‌دهنده نقش آتورواستاتین و این گیاه دارویی در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی است. مالون دی آلدئید ترکیب حاصل از واکنش پراکسید شدن لیپیدها در بدن پرنده بوده و شاخصی از تنش‌های اکسیداتیو است. تعداد زیادی از ترکیبات موجود در گیاهان دارویی ازجمله فلاونوئیدها دارای نقش آنتی‌اکسیدانی در جهت حمایت از اندام‌های بدن در برابر تنش‌های اکسیداتیو و کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌باشند.

کاهش در سطح کلسترول LDL، موازی با کاهش سطح بیان ژن‌های کلیدی درگیر در لیپوژنز کبدی (FAS، ACAC و HMGCR) در تیمارهای آزمایشی بوده است. ACAC، کدکننده استیل کوآ کربوکسیلاز است که کربوکسیلاسیون استیل کوآ به مالونیل کوآ را کاتالیز می‌کند (مرحله محدودکننده سرعت در بیوسنتز اسیدهای چرب). عملکرد اصلی FAS، کاتالیز کردن

بیوسنتز پالمیتات از استیل کوآنزیم آ و مالونیل کوآنزیم آ، در حضور NADPH است (Pirany و همکاران، ۲۰۲۰). HMGCR تبدیل HMG-CoA به اسید موالونیک را کاتالیز می‌کند که یک مرحله ضروری در بیوسنتز کلسترول است (Friesen و Rodwell، ۲۰۰۴). آتورواستاتین مهارکننده ۳-هیدروکسی-۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم آ ردوکتاز است (Banach و همکاران، ۲۰۱۵). فیتوبیوتیک‌ها دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌ها ازجمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، شل کننده عروق، ضدالتهابی و ضد تکثیر هستند. آن‌ها در جلوگیری از تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و پراکسیداسیون لیپیدی مؤثر هستند (Gao و همکاران، ۲۰۱۱). هم سو با نتایج پژوهش حاضر، Alwash و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند که مصرف شیرین‌بیان به‌طور قابل‌توجهی سطوح LDL و تری‌گلیسیرید (TAG) را کاهش و سطح HDL را افزایش می‌دهد که این امر نشان‌دهنده اثر هیپولیپیدمیک آن است. هایپرلیپیدمی منجر به تولید ROS می‌شود که به‌نوبه خود LDL را به شکل اکسید شده آن تبدیل می‌کند. اکسیداسیون LDL نقش مهمی در تشکیل پلاک‌های آترواسکلروتیک مرتبط با فشارخون دارد. ترکیبات فلاوونوئیدی همچنین از طریق واکنش‌هایی مانند فعالیت مستقیم جهت شکنندگی رادیکال‌های آزاد، کیلات شدن با یون‌های فلزی، افزایش سطوح اوریک اسید و مهار اکسیدازها از تنش‌های اکسیداتیو ممانعت می‌کنند (Surai، ۲۰۱۴) در موارد مشابه Visavadiya و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که احتمالاً شیرین‌بیان (اجزاء فعال زیستی ریشه شیرین‌بیان) سطوح MDA کبدی را همزمان با فعالیت‌های کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دسموتاز (SOD) افزایش می‌دهد.

نسبت هتروفیل به لنفوسیت شاخصی است که میزان تنش در پرندگان را نشان می‌دهد. مقایسه شمارش گلبول‌های سفید خون به‌خصوص افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در این آزمایش نشان می‌دهد که تیمار شاهد، بیشتر از سایر تیمارها در معرض تنش قرارگرفته است، اما این تنش در تیمار مصرف‌کننده سطح ۷/۵ گرم شیرین‌بیان و داروی آتورواستاتین از شدت پایین‌تری برخوردار می‌باشد. مطالعات Guo و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد که در جوجه‌هایی که در معرض آسیت هستند، میزان هماتوکریت بیشتر از جوجه‌های سالم می‌باشد. در تیمار اتورواستاتین و سطح ۷/۵ گرم شیرین‌بیان هماتوکریت نیز کاهش نشان داد؛ بنابراین این‌طور برداشت می‌شود که ترکیبات مؤثره گیاه دارویی مانند فلاونوئیدها، اثر مهاری بر تولید هورمون اریتروپویتین داشته‌اند. همچنین به دلیل داشتن خاصیت متسع کنندگی عروق و تأمین اکسیژن موردنیاز بافت‌های بدن باعث کاهش تولید و ترشح اریتروپویتین می‌شوند. بعلاوه می‌توان اظهار داشت که در جوجه‌های مصرف‌کننده سطح بالاتر شیرین‌بیان، کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت با کاهش تنش‌های اکسیداتیو ناشی از مصرف آن‌ها مطابقت دارد، چون افزایش این نسبت در طیور شاخصی از بروز تنش در پرنده می‌باشد.

همانطور که در بخش‌های قبل ذکر شد، متعاقب با افزایش mRNAمربوط به iNOS کبدی میزان NO سرم افزایش پیدا کرده است که با یکدیگر همخوانی دارند. یکی از مکانیسم‌های تأثیر آتورواستاتین بر iNOS از طریق تأثیر بر آنزیم HO-1 که یک هدف درون سلولی برای استاتین‌ها است می‌باشد و باعث تنظیم مثبت بیان iNOS می‌شود (Lee و همکاران، ۲۰۰۴). تحقیقات Rice-Evans و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد ترکیبات مؤثر گیاهی ازجمله فتالیدها و فلاونوئیدها نقش بسزایی در کاهش آسیب به DNA دارند؛ بر این اساس چنین برداشت می‌شود که بیان ژن SOD1 در کبد جوجه‌های تغذیه شده با گیاه دارویی شیرین‌بیان، افزایش و به دنبال آن سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز پلاسمایی هم زیاد می‌شود؛ که نتیجه آن کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش مالون‌دی‌آلدئید در پلاسما می‌باشد و با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی در جوجه‌ها، باعث کاهش فشار خون ریوی می‌شود که همگی با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. هم سو با نتایج حاضر در تأثیر آتورواستاتین بر کاهش ET1، Nishimura و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند استاتین‌ها با کاهش سنتز اندوتلین ۱ (ET-1) در ریه‌ها باعث کاهش فشار خون ریوی در مدل‌های حیوانی می‌شوند. هم سو با نتایج حاصل از

این تحقیق، مطالعات قبلی نشان داد که ترکیبات فلاونوئیدی و فتالیدی موجود در گیاهان دارویی بیان ژن‌های نیتریک اکساید سنتتاز و سوپراکسید دسموتاز را افزایش و اندوتلین ۱ را کاهش می‌دهد (Ahmadipour و همکاران، ۲۰۲۰). کاهش در میزان mRNAژن‌های کلیدی مربوط به سنتز چربی نشان دهنده تعدیل و تنظیم مکانسیم چربی و کاهش لیپوژنز در کبد جوجه‌های گوشتی می‌باشد. هم سو با نتایج پژوهش حاضر، در تحقیقی نشان داده شد که فعالیت‌های آنزیمیACC وFAS به طور قابل توجهی با مصرف شیرین‌بیان کاهش یافت. طبق این تحقیق، شیرین‌بیان از طریق تنظیم آنزیم‌های کبدی که در سنتز و اکسیداسیون اسیدهای چرب نقش داشته، چربی محوطه شکمی را کاهش می‌دهد (Kamisoyama و همکاران، ۲۰۰۸).

رادیکال های آزاد (ROS) می‌توانند به مجموعه‌ای از ساختارهای بیولوژیکی، از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA، به ویژه در ناحیه تلومر آن آسیب برسانند (Singh و همکاران، ۲۰۱۹). تلومرها ساختارهای پایداری با توالی تکرار شونده TTAGGG در انتهای کروموزوم ها هستند که برای حفظ یکپارچگی کروموزومی و محافظت در برابر تخریب‌های آنزیمی ضروری هستند (Lim و Cech، ۲۰۲۱). مطالعات قبلی نشان داده اند که علاوه بر استرس اکسیداتیو، میزان کوتاه شدن تلومر DNA به سطح دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول های میتوزی بستگی دارد (Richter و Proctor، ۲۰۰۷). Lee و همکاران (۲۰۰۸) خواص آنتی‌اکسیدانی جینسنگ سیبری (*Siberian ginseng*) و اکومیا (*Eucommia*) را بر طول تلومر در جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخمگذار بررسی کرد. Sohn و همکاران (۲۰۰۸) اثر مصرف جینسینگ سیبری (*Siberian ginseng*) و برگهای اکومیا (*Eucommia*) را در جوجه‌های گوشتی تجاری راس در سن ۴ تا ۳۵ روز بررسی کردند. لنفوسیت‌های جوجه‌های گوشتی که مکمل خوراکی حاوی آنتی‌اکسیدان دریافت کردند طول تلومر بیشتری در مقایسه با گروه کنترل داشتند. در مطالعه حاضر داروی آتورواستاتین و شیرین‌بیان ۷/۵ گرم بر کیلوگرم جیره دارای طول تلومر بیشتری نسبت به تیمار شاهد و سطح پایین‌تر شیرین‌بیان بودند. این نتایج اثرات آنتی‌اکسیدانی آتورواستاتین و گیاه دارویی شیرین‌بیان را تایید می‌کند؛ بنابراین می‌توان گفت افزودنی‌های خوراکی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی احتمالاً باعث خاموش کردن رادیکال‌های آزاد تولید شده در بدن پرنده می‌شوند. این رادیکال‌ها به DNA به ویژه تلومر آن آسیب می‌رسانند و کوتاه شدن انتهای کروموزوم‌ها را تسریع می‌کنند. پس غیرفعال شدن آنها به محافظت هر چه بیشتر از ساختار تلومر DNA کمک می کند.

نتیجه‌گیری نهایی

براساس پژوهش انجام شده آتورواستاتین و گیاه دارویی شیرین‌بیان باعث تعدیل لیپوژنز، افزایش پاسخ آنتی‌اکسیدانی، بهبود عملکرد قلبی-ریوی و کاهش تخریب تلومر DNA در جوجه‌های گوشتی تحت شرایط هایپوکسی گردید. استفاده از ۷/۵ گرم بر کیلوگرم جیره پودر ریشه شیرین‌بیان در خوراک جوجه‌های گوشتی اثرات مثبت مشابه با مصرف ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره داروی آتورواستاتین داشته و استفاده از آن در جیره جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه شهرکرد و در قالب پایان نامه دکتری انجام شده است که بدینوسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

منابع

Ahmadipour, B., Hassanpour, H. and Khajali, F., 2018. Evaluation of hepatic lipogenesis and antioxidant status of broiler chickens fed mountain celery. BMC Veterinary Research, 14, 1-7. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1561-6

Ahmadipour, B., Hassanpour, H., Rafiei, F. and Khajali, F., 2015. Antioxidative, antihyperlipidemic, and growth-promoting effects. of Kelussia odoratissima in meat-type chickens. Poultry Science Journal, 3, 37–46. https://doi.org/10.22069/psj.2015.2326

Ahmadipour, B., Kalantar, M., Schreurs, N. M., Raza, S. H. A., Khan, R., Khan, S., Abd El-Aziz, A. H., Memon, S., Ullah, I., and Samira, A., 2020. Flavonoid bioactive compounds of hawthorn extract can promote growth, regulate electrocardiogram waves, and improve cardiac parameters of pulmonary hypertensive chickens. Poultry Science, 99(2), 974-980. https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.022

Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Taha, A. E., …Dhama, K., 2019. Use of liquorice (Glycyrrhiza glabra) herb as a feed additive in poultry: Current knowledge and prospects. Animals, 9, 536. https://doi.org/10.3390%2Fani9080536

Alwash, Y. S., Latif, A. R. A., and Al-Bayati, N. J., 2011. Effect of liquorice extract on lipid profile in hypercholestermic male rabbits. Al-Qadisiyah Medical Journal, 7(12), 167-178. https://doi.org/10.28922/qmj.2011.7.12.167-178

Awad, A., 2017. Assessment of Liquorice (Glycyrrhiza glabra l.) Aqueous Extract on Lipid Profile in Hypercholestermic Rats. Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology, 8(2), 21-26.

Banach, M., Aronow, W.S., Serban, C., Sahabkar, S., Rysz, J., Voroneanu, L. and Covic, A., 2015. Lipids, blood pressure and kidney update 2014. Pharmacological Research, 95–96, 111–125. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.03.009

Behrooj, N., Khajali, F. and Hassanpour, H., 2012. Feeding reduced-protein diets to broilers subjected to hypobaric hypoxia is associated with the development of pulmonary hypertension syndrome. British Poultry Science, 53, 658–664. https://doi.org/10.1080/00071668.2012.727082

Bocan, T. M., Mazur, M. J., Mueller, S. B., Brown, E. Q., Sliskovic, D. R., O'Brien, P. M., Creswell, M. W., Lee, H., Uhlendorf, P. D., and Roth, B. D., 1994. Antiatherosclerotic activity of inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in cholesterol-fed rabbits: a biochemical and morpHological evaluation. Atherosclerosis, 111(1), 127-142. https://doi.org/10.1016/0021-9150(94)90198-8

Friesen, J. A. and Rodwell, V.W., 2004. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases. Genome biology, 5, 1-7. https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-11-248

Gao, S., Liu, Z., Li, H., Little, P.J., Liu, P. and Xu, S., 2012. Cardiovascular actions and therapeutic potential of tanshinone IIA. Atherosclerosis, 220, 3–10. https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.041

Golrokh, A.J., Bouyeh, M., Seidavi, A., Van den Hoven, R., Laudadio, V. and Tufarelli, V., 2016. Effect of different dietary levels of atorvastatin and L-carnitine on performance, carcass characteristics and plasma constitutes of broiler chickens. Journal of Poultry Science, 53, 201-207. https://doi.org/10.2141/jpsa.0150184

Guo, D., Zhang, J., Han, Y., Cui, L., Wang, H., Wang, K., ... and Duan, Z., 2023. Transcriptomic Study on the Lungs of Broilers with Ascites Syndrome. Animals, 13(1), 175. https://doi.org/10.3390/ani13010175

Hassanpour, H., Bahadoran, S., Farhadfar, F., Fallahi Chamali, Z., Nazari, H. and Kaewduangta, W., 2018. Identification of reliable reference genes for quantitative real-time PCR in lung and heart of pulmonary hypertensive chickens. Poultry Science, 97,

4048-4056. https://doi.org/10.3382/ps/pey258
Hassanpour, H., Farhadi, N., Bahadoran, S., and Akbari, M. R., 2023. Cardiac telomere attrition following changes in the expression of shelterin genes in pulmonary hypertensive chickens. *British Poultry Science*, *64*(3), 370-376. https://doi.org/10.1080/00071668.2022.2163877
Hosny, M., Abdelnabi, M. A., Essa, N. M., and Ali, A. A., 2020. Effect of liquorice extract on growth performance, meat yield and plasma analysis of Japanese quail (Coturnix coturnix japonica). Archives of Agriculture Sciences Journal, 3(2), 55-66. https://doi.org/10.21608/aasj.2020.109055
Iqbal, H. F., Bashir, M. K., Iqbal, M. Z., Ashraf, M., Bilal, M. Q., and Usman, M., 2020. Effect of liquorice (Glycyrrhiza glabra) extract on growth performance, carcass parameters and hematology of broilers. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 57(2). http://dx.doi.org/10.21162/PAKJAS/19.9312
Izadinia, M., Nobakht, M., Khajali, F., Faraji, M., Zamani, F., Qujeq, D., and Karimi, I., 2010. Pulmonary hypertension and ascites as affected by dietary protein source in broiler chickens reared in cool temperature at high altitudes. Animal Feed Science and Technology, 155(2-4), 194-200. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.12.009
Kamisoyama, H., Honda, K., Tominaga, Y., Yokota, S., Hasegawa, S., 2008. Investigation of the anti-obesity action of liquorice flavonoid oil in diet-induced obese rats. Biosci. Biotechnol. Biochem, 72, 3225-3231. https://doi.org/10.1271/bbb.80469
Karahan, F., C. Avsar, I. I. Ozyigit, and I. Berber., 2016. Antimicrobial and antioxidant activities of medicinal plant Glycyrrhiza glabra var. glandulifera from different habitats. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 30(4): 797-804. https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1179590
Khajali, F., Tahmasebi, M., Hasanpour, H., Akbari, M.A., Qujeeq, D., Wideman, R.F., 2011. Effects of supplementation of canola meal-based diets with arginine on performance, plasma nitric oxide, and carcass characteristics of broiler chickens grown at high altitude. Poultry Science, 90: 102287-2294. https://doi.org/10.3382/ps.2011-01618
Khajali, F., and Wideman, R., 2016. Nutritional approaches to ameliorate pulmonary hypertension in broiler chickens. Journal of animal physiology and animal nutrition, 100(1), 3-14. https://doi.org/10.1111/jpn.12315
Khajali, F., 2022. Managing broiler production challenges at high altitude. Veterinary Medicine Science, 8, 1519-1527. https://doi.org/10.1002/vms3.784
Khanahmadi, M. M., Naghdi Badi, H., Akhondzadeh, S., Khalighi–Sigaroodi, F., Mehrafarin, A., Shahriari, S., and Hajiaghaee, R., 2013. A Review on Medicinal Plant of Glycyrrhiza glabra L. Journal of Medicinal Plants, 12(46): 1-12. http://dorl.net/dor/20.1001.1.2717204.2013.12.46.1.4
Kosmidou, I., Moore, J. P., Weber, M., and Searles, C. D., 2007. Statin treatment and 3′ polyadenylation of eNOS mRNA. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 27(12), 2642-2649. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.154492
Laufs, U., Endres, M., Custodis, F., Gertz, K., Nickenig, G., Liao, J. K., and Böhm, M., 2000. Suppression of endothelial nitric oxide production after withdrawal of statin treatment is mediated by negative feedback regulation of rho GTPase gene transcription. Circulation, 102(25), 3104-3110. https://doi.org/10.1161/01.cir.102.25.3104 .
Lee, M. H., S. H. Lee, Y. J. Kim, Y. H. Ko, I. S. Jang, Y. S. Moon, and S. H. Sohn., 2008. Effect of dietary anti-oxidant supplementation on telomere length and egg quality in laying hens. Korean Journal of Poultry Science, 35(3): 267-274. https://doi.org/10.5536/KJPS.2008.35.3.267
Lee, T.-S., Chang, C.-C., Zhu, Y., and Shyy, J. Y. J., 2004. Simvastatin induces heme

oxygenase-1: a novel mechanism of vessel protection. Circulation, 110(10), 1296-1302. https://doi.org/10.1161/01.cir.0000140694.67251.9c

Lim, C. J., and T. R. Cech. 2021. Shaping human telomeres: from shelterin and CST complexes to telomeric chromatin organization. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 22(4): 283-298. https://doi.org/10.1038/s41580-021-00328-y

Metwally, M. M., 2023. Impacts of different medicinal herbs blends as feed additives on the performance, carcass characteristics, immune traits and some blood constituents of Japanese Quail. Animal Production Research Institute. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2994950/v1

Nair, V. and Turner, G., 1984. The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: Structure of the adduct with malondialdehyde. Lipids, 19, 804–805. https://doi.org/10.1007/BF02534475

Narumiya, S., Sugimoto, Y., and Ushikubi, F., 1999. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. Physiological reviews, 79(4), 1193-1226. https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.4.1193

Nishimura, T., Faul, J. L., Berry, G. J., Vaszar, L. T., Qiu, D., Pearl, R. G., and Kao, P. N., 2002. Simvastatin attenuates smooth muscle neointimal proliferation and pulmonary hypertension in rats. American journal of respiratory and critical care medicine, 166(10), 1403-1408. https://doi.org/10.1164/rccm.200203-268oc

NRC (National Research Council)., 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th Rev. Edition. Natl. Acad. press, Washington, DC.

Odom, T. W., Martinez-Lemus, L. A., Hester, R. K., Becker, E. J., Jeffrey, J. S., Meininger, G. A., and Ramirez, G. A., 2004. In vitro hypoxia differentially affects constriction and relaxation responses of isolated pulmonary arteries from broiler and leghorn chickens. Poultry Science, 83(5), 835-841. https://doi.org/10.1093/ps/83.5.835

Parvaiz, M., Hussain, K., Khalid, S., Hussnain, N., Iram, N., Hussain, Z., and Ali, M. A., 2014. A review: Medicinal importance of Glycyrrhiza glabra L.(*Fabaceae family*). Global Journal of Pharmacology. 8(1): 8-13. http://dx.doi.org/10.5829/idosi.gjp.2014.8.1.81179

Pereira, A. S., Banegas-Luna, A. J., Peña-García, J., Pérez-Sánchez, H., and Apostolides, Z., 2019. Evaluation of the anti-diabetic activity of some common herbs and spices: Providing new insights with inverse virtual screening. Molecules, 24(22), 4030. https://doi.org/10.3390%2Fmolecules24224030

Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. *Nucleic acids research*, *29*(9), e45-e45. https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45

Piechota-Polanczyk, A., Kopacz, A., Kloska, D., Zagrapan, B., Neumayer, C., Grochot-Przeczek, A., Huk, A., Brostjan, C., Dulak, J. and Jozkowicz, A., 2018. Simvastatin treatment upregulates HO-1 in patients with abdominal aortic aneurysm but independently of Nrf2. Oxidative Medicine Cellular longevity, 28, 1-16. https://doi.org/10.1155%2F2018%2F2028936

Pirany, N., Bakrani Balani, A., Hassanpour, H. and Mehraban, H., 2020. Differential expression of genes implicated in liver lipid metabolism in broiler chickens differing in weight. British Poultry Science, 61(1), 10-16. https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1680802

Popović, S., Puvača, N., Kostadinović, L., Džinić, N., Bošnjak, J., Vasiljević, M., and Djuragic, O., 2016. Effects of dietary essential oils on productive performance, blood lipid profile, enzyme activity and immunological response of broiler chickens. Poultry Science, 80, 1-12. http://dx.doi.org/10.1399/eps.2016.146.CORR

Puvaca N, Stanacev V, Glamocic D, Levic J, Peric L, Stanacev V, Milic D., 2013.Beneficial Effects of Phytoadditives in Broiler Nutrition. Worlds Poultry Science Journal, 2013, 69, 27–34. https://doi.org/10.1017/S0043933913000032

Rice-Evans, C., 2004. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism, and

bioactivity. Free Radical Biology and Medicine, 36(7), 827-828. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2003.12.012

Richter, T., & Proctor, C. (2007). The role of intracellular peroxide levels on the development and maintenance of telomere-dependent senescence. *Experimental gerontology*, *42*(11), 1043-1052. https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.08.004

SAS Institute. 2007. SAS User's Guide in Statistics. 9th Edition, SAS Institute, Inc., Cary.

Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., Kukreti, S., 2019. Oxidative stress: role and response of short guanine tracts at genomic locations. International Journal of Molecular Sciences, 20(17): 4258. https://doi.org/10.3390%2Fijms20174258

Sohn, S. H., and Subramani, V. K., 2014. Dynamics of telomere length in the chicken. Worlds Poultry Science Journal, 721-736. https://doi.org/10.1017/S0043933914000804

Sohn, S. H., Jang, I. S., Moon, Y. S., Kim, Y. J., Lee, S. H., Ko, Y. H and Kang H. K., 2008. Effect of dietary siberian ginseng and eucommia on broiler performance, serum biochemical profiles and telomere length. Korean Journal of Poultry Science, 35(3): 283-290. https://doi.org/10.5536/KJPS.2008.35.3.283

Song, X., Liu, H., Wang, X., Li, Z. and Huang, C., 2014. Atorvastatin combined with poly-unsaturated fatty acid confers better improvement of dyslipidemia and endothelium function. Lipids Health and Diseases, 13, 1-5. https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-186

Surai, P. F., 2014. Polyphenol compounds in the chicken animal diet: from the past to the future. Journal of animal physiology and animal nutrition, 98(1), 19-31. https://doi.org/10.1111/jpn.12070

Vergara-Galicia, J., Jimenez-Ramirez, L., Tun-Suarez, A., Aguirre-Crespo F., and Salazar-Gómez, G., 2013 .Vasorelaxant activity of extracts obtained from Apium graveolens: Possible source for vasorelaxant molecules isolation with potential antihypertensive effect. Asi. Paci .J of Tropical. Bio 13:60154-9. https://doi.org/10.1016/s2221-1691(13)60154-9

Visavadiya, N. P., and Narasimhacharya, A. V., 2006. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of Glycyrrhiza glabra (Linn) in rats. BioMed Research International, 50(11): 1080-1086. https://doi.org/10.1002/mnfr.200600063

Wang, Q., Guo, Z.Y., Zhang, Y.T., Xue, J.J., Chen, Z.C., Cheng, S.Y., Ou, M.D., Cheng, K.L. and Zeng, W. J., 2016. The Effects and Mechanism of Atorvastatin on Pulmonary Hypertension Due to Left Heart Disease. PLOS ONE, 11, e0157171. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157171

Wu, T., Wang, P., Fu, Q., Xiao, H., Zhao, Y., Li, Y., and Song, Z., 2023. Effects of dietary supplementation of Anoectochilus roxburghii extract (ARE) on growth performance, abdominal fat deposition, meat quality and gut microbiota in broilers. Poultry Science, 102842. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102842

Zhou, H., Deeb, N., Evock-Clover, C.M., Ashwel, C.M. and Lamont, S.J., 2006. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. II. Body composition. Poultry Science, 85, 1712–1721. https://doi.org/10.1093/ps/85.10.1712