بررسی اثر برگاپرایم بر فعالیت‌های آنزیم‌های عضلانی کبدی سرم رت‌های تغذیه شده با ذرت کپک‌زده

- **فرهاد تسلیمی**: مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، صندوق پستی: ۴۴۷۱۱-۱۴۳۵۹
- **رضا نورانی***: مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، صندوق پستی: ۴۴۷۱۱-۱۴۳۵۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۳

چکیده

به‌منظور بررسی اثر یک محرک رشد با نام برگاپرایم (که یک اسید چرب متوسط‌زنجیر نیز می‌باشد) بر آنزیم‌های سرمی کبد رت‌های تغذیه شده با ذرت کپک‌زده، تعداد ۲۰ سر رت نر، نه هفته با میانگین وزن ۲۵۰ گرم در چهار گروه آزمایشی مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش به شکل فاکتوریل (۲ × ۲) با استفاده از دو سطح محرک رشد برگاپرایم (۰ و ۲ گرم در کیلوگرم جیره) و دو نوع ذرت (سالم و کپک‌زده) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی به‌مدت ۲۱ روز در خوراک رت‌ها اعمال شدند و در انتهای روز ۲۱ پس از خون‌گیری از ناحیه قلب هر رت، میزان آنزیم‌های سرم خون (که مربوط به آنزیم‌های کبدی می‌باشند) از لحاظ AST، ALT، ALP و GGT مورد ارزیابی قرار گرفتند. در انتها نتایج نشان داد که هیچ‌یک از خوراک‌های مورد استفاده (چه محتوی ذرت سالم و چه حاوی ذرت کپک‌زده) با و بدون افزودن برگاپرایم اثری بر آنزیم‌های کبدی مورد مطالعه ایجاد نکردند. نتایج کلی نشان‌دهنده این مطلب است که رت‌های نه هفته با میزان ذرت کپک‌زده اضافه شده در خوراک دچار مسمومیت کبدی نشده‌اند و استفاده از برگاپرایم نیز در این رابطه آثاری را به‌همراه نداشته است.

کلمات کلیدی: برگاپرایم، ذرت کپک‌زده، آنزیم‌های کبدی، رت

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: R.nourani@yahoo.com

مقدمه

یک گروه عمده شیمیایی تولیدشده از کپک‌ها در دانه ذرت، آفلاتوکسین می‌باشد. آفلاتوکسین به‌صورت یک‌باره و خودبه‌خودی در دانه ذرت تازه ایجاد نمی‌شود اما خطر تولید و افزایش غلظت‌های آن به‌واسطه ذرت‌های کپک‌زده بسیار بالا می‌باشد. این کپک‌ها در هوای گرم به‌صورت فعال‌تری تولید نسبت‌های بالا از آسپرژیلوس را به‌دنبال دارند (Anonymous، ۲۰۱۲). آفلاتوکسین‌ها ازجمله مهم‌ترین مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که به‌طور عمده توسط دوسویه قارچ *آسپرژیلوس* به نام‌های *آسپرژیلوس فلاووس*[۱] و *آسپرژیلوس پارازینکوس*[۲] تولید می‌شوند (Tedesco و همکاران، ۲۰۰۴). قارچ‌های تولیدکننده آفلاتوکسین‌ها روی مواد مختلف و تحت شرایط گوناگون رطوبت، PH و درجه حرارت رشد و تکثیر می‌یابند (Hussein و Brasel، ۲۰۰۱).

طبق آزمایش‌های گوناگون مشخص شده که آفلاتوکسین‌ها موجب آسیب‌های گوناگونی برای حیوانات و انسان می‌شوند که از این موارد می‌توان به آسیب‌های کبدی اشاره کرد (Charmley و همکاران، ۱۹۹۵) و به‌نظر می‌رسد کبد اولین اندامی است که تحت تأثیر مسمومیت با آفلاتوکسین قرار می‌گیرد (Lesson و همکاران، ۱۹۹۵). از دیگر عوارض ناشی از آفلاتوکسین می‌توان به تضعیف سیستم ایمنی، مسمومیت کبدی، موتاسیون، سرطان‌زایی، ناقص‌الخلقه‌زایی و خونریزی اشاره کرد (Baily و همکاران، ۱۹۹۸).

از طرفی نیز مشخص‌شده که آفلاتوکسین‌ها می‌توانند فعالیت بعضی از آنزیم‌های موجود در سرم خون مانند آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز را که مرتبط با تخریب سلولی ناشی از آلفاتوکسیکوزیس هستند تحت تأثیر قرار دهند (Kubena و همکاران، ۱۹۹۰). کرمانشاهی و همکاران (۱۳۸۶) طی پژوهشی سطوح مختلف از آفلاتوکسین را به‌مدت چهار هفته در خوراک جوجه‌های گوشتی افزودند. نتایج این محققین در انتها نشان‌دهنده این موضوع بود که آفلاتوکسین B_1 سبب افزایش AST و ALT (آنزیم‌های کبدی) سرم خون شده است. صفامهر و همکاران (۱۳۸۴) در پژوهشی ذرت آلوده به آفلاتوکسین را در خوراک جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار داد و در انتها طبق نتایج گزارش نمودند ذرت آلوده به آفلاتوکسین افزاینده وزن کبد و کلیه شده است.

Vahdatpour و همکاران (۲۰۰۹)، Hassan و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که غلظت طبیعی آنزیم‌های سرم توسط عوامل غیرطبیعی تغییر می‌کند. فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم، AST، ALP و ALT برای ارزیابی عملکرد کبد مورد استفاده قرار می‌گیرد و افزایش در فعالیت آن‌ها مربوط به نابودی هپاتوسیت‌ها یا آسیب کبدی صرف‌نظر از علت آن است (Fatemi و همکاران، ۲۰۰۶). Scoll و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که LDH، AST، ALT و GGT معمولاً زمانی در سرم افزایش می‌یابند که آسیب کبد و بافت ماهیچه به‌علت استرس فراوان ایجاد شود.

به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامتی انسان و دام پیشینه‌ای چندین هزارساله دارد. پروبیوتیک‌ها یا مواد حیات‌بخش در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها یا ترکیبات پادزیست قرار می‌گیرند (Fuller، ۱۹۸۷). امروزه تحقیق در زمینه تولید فرآورده‌های پروبیوتیک به‌علت خواص تغذیه‌ای و درمانی روند رو به رشدی را دنبال می‌کند و تلاش برای قراردادن پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل در رژیم غذایی روزانه افراد صورت می‌گیرد. پروبیوتیک به‌صورت "مکمل غذایی میکروبی زنده" تعریف شده است و در صورت مصرف در انسان یا حیوان، با اثر بر تعادل فلورمیکروبی روده اثرات مفیدی بر سلامتی میزبان دارد (Fuller، ۱۹۸۷). اثرات مفید پروبیوتیک‌ها عبارتند از: کنترل اسهال، کاهش عدم تحمل لاکتوز، مهار رشد عوامل بیماری‌زای روده، جلوگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی با کاهش لیپیدها و کلسترول سرم، افزایش پاسخ ایمنی، فعالیت ضدسرطانی و کاهش علائم آلرژی (سیدی و همکاران، ۱۳۹۲).

Rahman و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که سطوح آنزیم‌های کبدی سرم تحت تأثیر پروبیوتیک تغییر می‌کند. Ziaei و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که پروبیوتیک و پری‌بیوتیک غلظت آنزیم‌های کبدی را تغییر می‌دهند (این دو گروه توانسته‌اند کاهنده ALT سرم خون شوند). Rishi و همکاران (۲۰۰۹) پس از تغذیه موش‌های آزمایشگاهی با پروبیوتیک، پریبیوتیک و سین‌بیوتیک مشاهده کردند مقدار AST و ALT در سرم موش‌های تغذیه‌شده با پروبیوتیک و سین‌بیوتیک مشابه گروه شاهد بود اما در گروه تغذیه شده با پریبیوتیک اینولین مقدار AST سرم افزایش معنی‌داری نشان داد، که ممکن است ناشی از پاسخ غیراختصاصی میزبان به اینولین باشد.

در تحقیقی از سیدی و همکاران (۱۳۹۲) اثرات تغذیه‌ای دو پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (ال-کازئی) و لاکتوباسیلوس پاراکازئی (ال-پاراکازئی) با پری‌بیوتیک رافتیلوز بر رشد و مقدار آنزیم‌های کبدی سرم رت نر مورد بررسی قرار گرفت.

---

۱ *Aspergillus Flavus*

۲ *Aspergillus Parasiticus*

نتایج این محققین نشان داد که تغذیه رت‌ها با این پروبیوتیک‌ها و رافیلوز به‌طور مستقل موجب تغییر معنی‌دار سطح آنزیم ALT سرم می‌شود به‌طوری‌که میزان این آنزیم کبدی با پروبیوتیک‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. این نتایج هم‌چنین نشان از عدم تأثیر این متغیرهای آزمایشی بر سطح آنزیم‌های کبدی ALP و AST داشته است.

برگاپرایم ماده‌ای است که با استفاده از تکنولوژی اولئوزوم تولید شده است که شبیه لیپوزوم عمل می‌کند. برگاپرایم دارای این ویژگی‌های منحصر به فرد است که چربی‌ها را شکسته و در کپسولی از ماتریکس فسفولیپیدهای حیاتی قرار می‌دهد و بدین وسیله امکان تولید سریع انرژی حاصل از سوختن یک گرم برگاپرایم تقریباً ۲/۵ برابر گلوکز است. این فرآورده دارای اسیدهای با زنجیره متوسط است که دارای خواص ضدباکتریایی هستند و قادرند مانع رشد و تکثیر باکتری‌های *E. Coli*، *سالمونلا آنتریتیدیس*، *سالمونلا اینفنتیس*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *کلستریدیوم پرفرنژیس* شوند. از جمله خواص این ماده می‌توان به محرک رشد بودن و افزاینده ایمنیت در مقابل عوامل طبیعی و عفونت‌های میکروبی اشاره کرد (Hussein و Brasel، **۲۰۰۱**).

هدف از انجام آزمایش حاضر بررسی اثر خوراک حاوی ذرت کپک‌زده بر آنزیم‌های کبدی و نقش مؤثر احتمالی یک محرک رشد (برگاپرایم) بر کنترل و متعادل ساختن این آنزیم‌ها بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش که در بهار ۱۳۹۳ در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) انجام پذیرفت، تعداد ۲۰ رت نر نه هفته با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم طی سه هفته مورد آزمایش قرار گرفتند. این تعداد رت در چهار گروه آزمایشی به‌صورت فاکتوریل (دو در دو) که دو سطح محرک رشد برگاپرایم (Bergaprime) (تهیه‌شده از شرکت Berg+Schmidt آلمان) در دو نوع ذرت (سالم و کپک‌زده)، در خوراک افزوده شدند. گروه‌های آزمایشی خوراکی به شکلی تنظیم شدند که به گروه اول علاوه بر خوراک روزانه معمولی ۵۰۰ گرم ذرت کپک‌زده و ۱۰۰ گرم محرک رشد داده شد. به گروه دوم علاوه بر خوراک معمولی تنها ۵۰۰ گرم ذرت کپک‌زده افزوده شد. گروه سوم خوراک حاوی جیره معمولی و ۵۰۰ گرم ذرت سالم همراه با ۱۰۰ گرم محرک رشد دریافت کردند. به گروه چهارم نیز تنها ۵۰۰ گرم ذرت سالم به جیره معمولی افزوده شد (جدول ۱).

جدول ۱: ترکیب جیره گروه‌های آزمایشی

اقلام (کیلوگرم)	جیره اول	جیره دوم	جیره سوم	جیره چهارم
جیره پایه	۲	۲	۲	۲
ذرت سالم	۰	۰	۰/۵	۰/۵
ذرت کپک‌زده	۰/۵	۰/۵	۰	۰
محرک رشد برگاپرایم	۰/۱	۰	۰/۱	۰

نحوه آماده‌سازی خوراک: جهت تهیه ذرت کپک‌زده، نمونه‌های ذرت به‌مدت سه هفته درون پاکت‌های پلاستیکی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در محلی تاریک نگه‌داری شدند. پس از آماده‌سازی نمونه‌های ذرت، نسبت‌های مورد استفاده از هر خوراک محاسبه و به‌صورت مخلوط کامل (جهت عدم امکان انتخاب حیوان) درآورده شدند. ترکیب غذایی گروه‌های آزمایشی این‌چنین بود که به‌طور پایه میزان دو کیلوگرم خوراک معمول برای هر گروه آزمایشی در نظر گرفته شد و مواد افزودنی چون ذرت و محرک رشد به میزان مطرح شده در هر نوع خوراک افزوده می‌شد.

فراسنجه‌های مورد بررسی: در انتهای روز ۲۱ آزمایش، توسط سرنگ‌های انسولین از ناحیه قلب هر رت خونگیری انجام و بلافاصله نمونه‌های خون در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. نمونه سرم‌ها تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد حفظ و نگه‌داری شدند. نمونه سرم‌های خون در آزمایشگاه از لحاظ غلظت آنزیم‌های کبدی که در خون وارد می‌شوند مورد بررسی قرار گرفتند. این آنزیم‌ها به قرار: آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاما گلوتامین ترانسفراز (GGT) بودند.

تحلیل آماری: داده‌های این آزمایش براساس طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار گروه آزمایشی، به‌صورت فاکتوریل (دو در

دو) ارزیابی شدند، که ابتدا در برنامه Excel وارد و سپس با نرم‌افزار SPSS ۲۱ به‌صورت آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ صورت گرفت.

نتایج

در انتهای آزمایش پس از ارسال نمونه‌های خون‌گرفته شده از هر رت به آزمایشگاه، میزان آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) (موجود در سرم خون) مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از تجزیه تحلیل داده‌های به‌دست آمده با توجه به نتایج جدول ۲ مشخص گردید افزودن ذرت کپک‌زده به خوراک معمول رت‌های مورد آزمایش (در سطح ۵۰۰ گرم) هیچ اثری بر غلظت آنزیم‌های کبدی ذکر شده در مقابل جیره حاوی ذرت سالم نداشته است. نتایج هم‌چنین نشان داد افزودن محرک رشد برگاپرایم به خوراک حاوی ذرت سالم یا کپک‌زده تأثیری بر غلظت این آنزیم‌های کبدی نداشته است و نتایج گویای عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آماری بوده است (P>۰/۰۵).

جدول ۲: اثر گروه‌های آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی رت

فراسنجه مورد ارزیابی	گروه آزمایشی				SEM	معنی‌داری
	جیره اول	جیره دوم	جیره سوم	جیره چهارم		
SGOT (AST)[۱] (واحد/لیتر)	۱۰۳/۹	۱۱۵/۳۷	۱۲۵/۲	۱۱۶/۵	۵/۰۱	۰/۵۳۰
SGPT (ALT)[۲] (واحد/لیتر)	۶۴/۳	۵۱/۱۲	۶۱/۴	۵۴/۹	۴/۰۱	۰/۶۹۵
ALP[۳] (واحد/لیتر)	۱۶۸۰/۸	۲۱۷۰/۰	۱۲۰۳/۴	۱۱۳۱/۹	۱۸۹/۲۳	۰/۲۱۵
GGT[۴] (واحد/لیتر)	۵/۳۵	۷/۲۰	۴/۷۹	۳/۵۹	۰/۶۹	۰/۳۷۹

SEM: خطای استاندارد میانگین

۱: Aspartate Amino Transfrase

۲: Alanin Amino Transfrase

۳: Alkaline Phosphatase

۴: γ-Glutamyl Transfrase

بحث

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان داشت هیچ‌یک از خوراک‌های مورد بررسی (چه حاوی ذرت‌های سالم و کپک‌زده و چه حاوی محرک رشد برگاپرایم) بر آنزیم‌های کبدی (AST، ALT، ALP و GGT) تأثیری را ایجاد نکرده‌اند. در این‌باره نتایج Dafalla و همکاران (۱۹۸۷) نشان از افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین بود. در آزمایشی دیگر کرمانشاهی و همکاران (۱۳۸۶)، پس از افزودن آفلاتوکسین در خوراک جوجه‌های گوشتی به‌مدت چهار هفته، افزایش غلظت آنزیم‌های AST و ALT سرم خون را شاهد بودند. اما Edrington و همکاران (۱۹۹۷) پس از افزودن آفلاتوکسین در جیره جوجه‌های گوشتی تغییری در فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT مشاهده نکردند. از سویی یکی از عواملی که مورد توجه پژوهشگران بوده است بررسی فعالیت این آنزیم‌ها با سن حیوانات بوده است، ازجمله یک ارتباط معکوس بین افزایش سن در سنین بعد از بلوغ و کارکرد سیستم متابولیز کننده داروها و افزودنی‌های خوراکی گزارش‌شده است (سعیدی، ۱۳۸۴).

Jayraj و همکاران (۱۹۸۲) گزارش کردند که متابولیسم اتصال کووالانسی و موتاسیون‌زایی آفلاتوکسین در کبد موش‌ها در سنین پیری و جوانی متفاوت می‌باشد و در موش‌های پیر بین ۳۰ تا ۵۰ درصد در مسیر فعال شدن (فاز اکتیواسیون)

کاهش ایجاد می‌شود، که با توجه به سن نه هفتگی رت‌های آزمایش حاضر می‌توان دلیل عدم تأثیرگذاری آفلاتوکسین را بر آنزیم‌های کبدی به‌همین سن و قدرت متابولیزه کردن مواد واردشده به سیستم گوارشی آن‌ها نسبت داد.

هم‌چنین طی تحقیقاتی از Rahman و همکاران (۲۰۰۴) و Ziaei و همکاران (۲۰۰۹) مشخص گردید غلظت آنزیم‌های کبدی موجود در سرم خون جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر پروبیوتیک و پریبیوتیک قرار گرفته و تغییر می‌کنند (این دو گروه توانسته‌اند کاهنده ALT سرم خون شوند).

Rishi و همکاران (۲۰۰۹) پس از تغذیه موش‌های آزمایشگاهی با پروبیوتیک، پریبیوتیک و سین‌بیوتیک مشاهده کردند مقدار AST و ALT در سرم موش‌های تغذیه شده با پروبیوتیک و سین‌بیوتیک مشابه گروه شاهد بود اما در گروه تغذیه شده با پریبیوتیک اینولین مقدار AST سرم افزایش معنی‌داری نشان داد، این نتایج با نتایج تحقیق حاضر در مورد افزودن محرک رشد برگاپرایم طی مواردی مشابه و در مواردی مغایر است که نتایج مغایر ممکن است ناشی از پاسخ غیراختصاصی میزبان به این افزودنی‌های خوراک (سیدی و همکاران، ۱۳۹۲)، سطح مورد استفاده و همان قدرت متابولیزاسیون حیوان در سن مورد آزمایش باشد (Jayraj و همکاران، ۱۹۸۲).

نتیجه کلی نشان می‌دهد که خوراندن سه هفته خوراک حاوی ذرت کپک‌زده به رت‌های ۹ نه هفته تأثیری بر آنزیم‌های کبدی نداشته است. هم‌چنین افزودن محرک رشد برگاپرایم در خوراک حاوی ذرت سالم و کپک‌زده، به‌منظور متعادل ساختن غلظت آنزیم‌های کبدی سرم خون تغییری در سطح این آنزیم‌ها ایجاد نکرد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از آقای مهندس ابراهیم مصلحی جهت همکاری و همراهی در قسمتی از تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **سعیدی، م.، ۱۳۸۴.** بررسی فعالیت آنزیم‌های متابولیز کننده AFB1 و واکنش آن با DNA در کبد موش صحرایی (Rat). مجله پزشکی کوثر. سال ۱۰، شماره ۴، صفحات ۲۴۱ تا ۲۴۶.

۲. **سیدی، ب.؛ حیدری، ر. و توکمه‌چی، ا.، ۱۳۹۲.** ارزیابی اثرات تغذیه‌ای پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی به‌همراه پریبیوتیکرافتیلوز بر رشد و آنزیم‌های کبدی موش. مجله علوم پزشکی رازی. سال ۲۰، شماره ۱۰۷، صفحات ۱ تا ۹.

۳. **صفامهر، ع.؛ علامه، ع.؛ شیوازاد، م.؛ مرادی‌شهربابک، م. و میرهادی، س.ا.، ۱۳۸۴.** مطالعه ضایعات آسیب‌شناسی کبد و عملکرد جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده از ذرت آلوده به آفلاتوکسین آمونیاکی شده. مجله علوم کشاورزی ایران. سال ۳۶، شماره ۴، صفحات ۱۲۹۵ تا ۱۳۰۳.

۴. **کرمانشاهی، ح.؛ اکبری، م.ر. و افضلی، ن.، ۱۳۸۶.** اثر افزودن سطوح پایین آفلاتوکسین B_1 در جیره بر عملکرد و میزان فعالیت آنزیم‌های خون در جوجه‌های گوشتی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال ۱۱، شماره ۱(ب)، صفحات ۴۴۳ تا ۴۴۹.

5. **Anonymous. 2012.** Aflatoxins in Corn. Extension and Outreach. IOWA State University. USA. 197 p.

6. **Baily, R.B.; Kubena, L.F.; Harvey, R.B.; Buckly, S.A. and Rottinghause, G.E., 1998.** Efficacy of various inorganic sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. Poult Sci. Vol. 77, pp: 1623-1630.

7. **Charmley, L.L.; Trenholm, H.L. and Prelusky, D.B., 1995.** Mycotoxins: their origin, impact and importance; insight into common methods of control and elimination. In: T. Lyons and K. A. Jacques (Eds.), Biotechnology in the feed industry. Proceedings of alltech's 11th annual symposium. PP: 41-63

8. **Dafalla, R.; Yagi, A.I. and Adam, S.E.I., 1987.** Experimental aflatoxicosis in Hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopathological changes. Vet. Hum. Toxicol. Vol. 29, pp: 222-226.

9. **Edrington, T.S.; Kubena, L.F.; Harvey, R.B. and Rottinghaus, G.E., 1997.** Enfluence of a superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or t-2 toxin in growing broilers. Poult Sci. Vol. 76, pp: 1205-1211.

10. **Fatemi, F.; Allameh, A.; Dadkhah, A.; Forouzandeh, M.; Kazemnejad, S. and Sharifi, R., 2006.** Changes in hepatic cytosolic glutathione Stransferase activity and expression of its class-P during prenatal and postnatal period in rats treated with aflatoxin B1. Arch Toxicol. Vol. 80, pp: 572-579.

11. **Fuller, R., 1987.** Probiotics in man and animals. J App Bacteriol. Vol. 66, pp: 365-78.

12. **Hassan, S.F.; Elsalmoney, A.E. and Fathi, M.M., 2008.** Relationship between triiodothyronine (T3) and Insulin-like growth factor (IGF1) hormones in Egyptian local chickens during growth period. Egyptian Poultry Sci. Vol. 28, pp: 251-263.

13. **Hussein, H.S. and Brasel, J.M., 2001.** Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicol. Vol. 167, pp: 101-134.

14. **Jayraj, H.; Thomas, W.; Diller, T. and Arlan, G., 1982.** Metabolism, covalent binding and mutagenicity of aflatoxin B1 by liver extract from rats various ages. JNCI. Vol. 74, No. 1, pp: 95-103.

15. **Kubena, L.F.; Harvey, R.B.; Huff, W.E.; Corrier, D.E.; Phillips, T.D. and Rottinghaus, G.E., 1990.** Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin. Poult Sci. Vol. 69, pp: 1078-1086.
16. **Leeson, S.; Diaz, G. and Summers, J.D., 1995.** Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University books, Guelph, Ontario, Canada. 217 p.
17. **Rahman, M.M.; Islam, M.N.; Islam, M.W.; Kabir, S.M.L. and Kamruzzaman, S.M., 2004.** Effects of probiotics supplementation on growth performance and certain haematobiochemical parameters in broiler chickens. Bangladesh Journal Vet Med. Vol. 2, No. 1, pp: 39-43.
18. **Rishi, P.; Mavi, S.; Bharrhan, S.K.; Shukla, G. and Tewari, R., 2009.** Protective efficacy of probiotic alone or in conjunction with a prebiotic in Salmonella-induced liver damage. FEMS Microbiol Ecolgical. Vol. 69, pp: 222-230.
19. **Scoll, P.F.; McCoy, L.; Kensler, T.W. and Groopman, J.D., 2009.** Quantitative analysis and chronic dosimetry of the aflatoxin B1 plasma albumin adduct Lys-AFB1 in rats by isotope dilution mass spectrometry. Chem Res Toxicol. Vol. 19, No. 1, pp: 44-49.
20. **Tedesco, D.; Steidler, S.; Galletti, S.; Tameni, M.; Sanzogni, O. and Ravarotto, L., 2004.** Efficacy of silymarinephospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. Poult. Sci. Vol. 83, pp: 1839-1843.
21. **Vahdatpour, T.; Nazeradl, K.; Ebrahimnezhad, Y.; Maherysis, N.; Riyazi, S.R. and Vahdatpour, S., 2009.** Effect of corticosterone intake as stress-alternative hormone on broiler chickens: Performance and blood parameters. Asian Journal Animal Veterinary Advances. Vol. 4, pp: 16-21.
22. **Ziaei, H.; Karimi Torshizi, M.A.; Bashtani, M.; naeemipour, H. and Zeinali, A., 2009.** Efficiency evaluation of antibiotic growth promoter's alternatives on immune response and some blood metabolites in broiler chickens. Journal of Agri Sci Nat Resour. Vol. 16, No. 2, pp: 1-13.