



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد هشتم، شماره دوم، ۱۳۹۹

<http://ejrr.gau.ac.ir>

۲۳-۳۸

DOI: 10.22069/ejrr.2020.17365.1718

## ارزیابی آشیتکس و ایمون بر بهبودی علایم بالینی، هورمون‌های استرس و بیان ژن اینترلوکین ۲ در بیماری تب برفکی گاو

محمدعلی پورخلیلی<sup>۱</sup>، \*محمد چمنی<sup>۲</sup>، علیرضا صیداوی<sup>۳</sup> و علی اصغر صادقی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانش آموخته مقطع دکتری، استاد و دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و

تحقیقات، تهران، <sup>۲</sup>استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/۲۶

### چکیده

**سابقه و هدف:** بیماری تب برفکی یک بیماری عفونی و شدت واگیر دام می‌باشد که به لحاظ شدت خسارات اقتصادی یکی از موانع اصلی در تأمین بهداشت و تولید دام و فرآورده‌های دامی محسوب می‌گردد. این آزمایش به منظور بررسی اثرات داروهای گیاهی آشیتکس و ایمون بر بهبود عوارض ناشی از تب برفکی، کاهش هورمون‌های استرس و افزایش پاسخ ایمنی در گاوهای بیمار صورت گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق از دو داروی گیاهی آشیتکس (Ashitex) و ایمون (Imion) به منظور بررسی اثرات آنها بر بهبود عوارض ناشی از تب برفکی، کاهش هورمون‌های استرس و افزایش پاسخ ایمنی در گاوهای درگیر تب برفکی به صورت اسپری و خوراکی استفاده شد. داروی آشیتکس مخلوطی از پودر گیاهان دارویی زردچوبه، مرمکی، مازو و شیرین بیان می‌باشد و داروی ایمون بر پایه گیاه دارویی سرخارگل ساخته شده است. آزمایش بر روی ۷۵ گاو مبتلا به تب برفکی انجام شد. برای به دست آوردن نتایج کاملاً عملی و میدانی منطبق با شرایط نگهداری گاوها، هیچگونه تغییری در شرایط نگهداری، از قبیل تغذیه، نور، دما و سایر شرایط ایجاد نشد و فقط به بلوک بندی و توزیع گاوها در باکس‌های آماده شده اکتفا گردید. تیمارها شامل ۱- تیمار سرکه (شاهد)، ۲- تیمار آشیتکس، ۳- تیمار آشیتکس و ایمون ۴- تیمار سرکه و ایمون و ۵- تیمار سرکه و آشیتکس بود. همه تیمارها به مدت ده روز اعمال شدند. داروی آشیتکس به صورت اسپری روزانه دوبار هر بار ۲۰ میلی لیتر مصرف شد. داروی ایمون نیز به صورت خوراکی روزانه دوبار، هر بار به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر به حیوان خوراندند. در ابتدا و انتهای دوره درمان، نمونه خون از ورید گردنی گاوهای بیمار برای بررسی بیان ژن اینترلوکین ۲، میزان پاسخ‌های ایمنی، و تغییرات هورمون‌های کورتیزول و کورتیکوسترون اخذ شد.

**یافته‌ها:** تیمار دوم (آشیتکس) به طور معنی‌داری بهترین عملکرد را بر شرایط ظاهری و سلامت عمومی گاوهای مبتلا به تب برفکی داشت. استفاده از داروی گیاهی آشیتکس باعث بهبود شرایط ظاهری و بالینی و همچنین کاهش هورمون‌های درگیر در تنش و افزایش بیان ژن مؤثر در التهاب گاوهای مبتلا به تب برفکی شد. همچنین داروی ایمون باعث افزایش تولید ایمنوگلوبولین G در گاوهای مبتلا به تب برفکی که قبلاً واکسینه شده بودند گردید و پاسخ ایمنی را افزایش داد.

\*نویسنده مسئول: [m.chamani@srbiau.ac.ir](mailto:m.chamani@srbiau.ac.ir)

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده، استفاده از این دو داروی گیاهی به دلیل اثر ترکیبی آنها با همدیگر و برگشت سریعتر حیوان به وضعیت طبیعی و قرار گرفتن در چرخه تولید نسبت به سایر تیمارها، در درمان تب برفکی توصیه و پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ایمونوگلوبین G، اینترلوکین II، تب برفکی، کورتیزول، کورتیکوسترون

### مقدمه

یکی از بیماری‌های عفونی و واگیردار در صنعت دام، تب برفکی می‌باشد که از نظر شدت خسارت یکی از موانع اصلی در تأمین بهداشت و تولید دام و فرآورده‌های دامی محسوب می‌گردد. عامل این بیماری ویروسی از خانواده پیکورنا ویریده و جنس آفتوویروس است که دارای واریته‌های بسیار متنوعی در کل جهان می‌باشد اما علائم بالینی آن تقریباً مشابه می‌باشد (۱۵). بیماری تب برفکی همه ساله موجب ابتلا و مرگ و میر دام‌های اهلی می‌شود که تنوع تعداد سویه‌های آن موجب پیچیدگی برنامه‌های پیشگیری و کنترلی بیماری شده است.

خسارات ناشی از این بیماری در کشورهای تحت شیوع آن اعم از کاهش تولید شیر، کاهش تولید گوشت، کاهش تولید پشم و هزینه‌های اقتصادی دیگری نظیر هزینه‌های درمان، کاهش باروری، محدودیت در تجارت دام و فرآورده‌های خام دامی سبب شده است تا این بیماری دشمن دام و سرمایه دامی لقب بگیرد (۱۶ و ۲۴).

گیاهان دارویی با افزایش سازش به استرس در دام؛ توانایی بی نظیری در همزمان نمودن آرامش و استقامت فیزیکی دام‌ها دارند. کورتیزول یکی از هورمون‌های مهم بدن است که توسط غده‌های آدرنال ترشح می‌شود و در تنظیم فشار خون، سوخت و ساز مناسب قند، آزاد سازی انسولین برای حفظ سطح قند خون، سیستم دفاعی بدن و واکنش تحریکی و التهابی دخالت دارد و به آن هورمون استرس گفته می‌شود. کورتیکوسترون یک هورمون کورتیکواستروئیدی است که در قشر غده فوق کلیوی تولید می‌شود و

در زمان استرس از هورمون‌های مهم به شمار می‌آید. این هورمون در سوخت و ساز پروتئین و کربوهیدرات دخالت دارد. هنگامی که بدن با عوامل بیماری‌زا درگیر می‌شود، مغز به اعضا و احشا داخلی بدن بلاخص سیستم ایمنی دستور تنش و متعاقباً استرس صادر می‌کند (۲۰) در طی فعالیت دستگاه ایمنی در مقابل عوامل بیماری‌زا هورمون‌های فوق الذکر دچار تغییرات محسوسی می‌شوند و بدن بر حسب نیاز مبادرت به ترشح آنان در خون کرده و هم راستا با فعالیت سیستم ایمنی به صورت موازی با بالا بردن سطح متابولیسم درون سلولی و تاثیر گسترده بر تمام دستگاه‌های داخلی بدن به حمایت از دستگاه ایمنی آمده و کمک شایان توجهی به دستگاه ایمنی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا و ادامه روند ایمنی در خون می‌کنند، لذا همواره میزان تغییرات این هورمون‌ها نشانگر غیرمستقیمی در میزان تنش و توانایی بدن در مواجهه با عوامل بیماری‌زا می‌باشد.

این گیاهان دارویی و ادویه‌جات قادرند محرک سیستم ایمنی باشند. از جمله گیاهان حاوی مولکول‌های تحریک کننده سیستم‌های ایمنی می‌توان از سرخارگل<sup>۱</sup> با نام علمی *Echinacea angustifolia*، شیرین بیان<sup>۲</sup> با نام علمی *Glycyrrhiza glabra*، سیر<sup>۳</sup> با نام علمی *Allium sativum* و پنجه گربه‌ای<sup>۴</sup> با نام علمی *Uncaria tomentosa* نام برد، که فعالیت لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های کشنده طبیعی<sup>۵</sup> را

1. Coneflower
2. Licorice
3. Garlic
4. Cat claw
5. NK

دو داروی گیاهی به نام‌های آشیتکس<sup>۱</sup> و ایمون<sup>۲</sup> به منظور بررسی بهبود عوارض ناشی از تب برفکی، کاهش هورمون‌های استرس و افزایش پاسخ ایمنی در گاوهای درگیر تب برفکی به‌صورت اسپری و خوراکی استفاده شد.

در ساخت داروی گیاهی آشیتکس از ترکیب ۴ گیاه دارویی با درصدهای متفاوت و فرمولاسیون خاص استفاده شده است، داروی آشیتکس بر حسب ماده موثره کورکومین گیاه دارویی زردچوبه فرموله شده است. زردچوبه یا ریزوم پودر شده گیاه آن دارای خواص ضد درد، ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان، ضد باکتری، ضد سرطان و تومور، ضد قارچ و ضد آمیب، ضد زهر می‌باشد و باعث بهبود تیترا آنتی بادی علیه ویروس‌های بیماری‌زا بوده است (۱ و ۲۵). داروی آشیتکس مخلوطی از پودر گیاهان دارویی زردچوبه<sup>۳</sup> با نام علمی *Curcuma longa*، مرمرکی<sup>۴</sup> با نام علمی *Commiphora burseraceae*، مازو<sup>۵</sup> (گونه‌ای بلوط) با نام علمی *Quercus Castaneifolia* و شیرین بیان<sup>۶</sup> با نام علمی *Glycyrrhiza globra* می‌باشد. تاکنون داروی گیاهی جهت کاهش عوارض ناشی از تب برفکی و افزایش ایمنی گاو ساخته و تولید نشده است. لیکن یکی از داروهای مورد بررسی در این تحقیق داروی کاملاً گیاهی حاصل از ترکیب و فرمول بندی خاص چهار گیاه دارویی مختلف می‌باشد که به دلیل اینکه مواد موجود در این گیاهان اثر آنتی باکتریال و آنتی وایرال دارند، احتمالاً همین اثرات را در هنگام تب برفکی نیز نشان خواهند داد و کمک به درمان زخم و التهابات ناشی از ضایعات تب برفکی خواهند شد که می‌توان به تنهایی و یا همزمان با

بهبود داده، فاگوسیتوز را افزایش می‌دهند و محرک ساخت ایتترفرون هستند (۱۳).

نجفی و همکاران (۲۰۱۱) با استعمال داروی میروتوت تهیه شده از گیاه مورد از تیره موردیان بر روی زخم‌های دهانی ناشی از بیماری تب برفکی نشان دادند این دارو ضمن التیام سریع زخم‌های دهانی و کاهش ترشحات چرکی باعث کاهش درد ناشی از زخم‌های محوطه دهانی و برگشت سریعتر اشتها به وضعیت طبیعی می‌گردد (۱۸). اسانس بدست آمده از شاخ و برگ گیاه مورد علاوه بر خواص ضد باکتریایی، دارای فعالیت‌های ضدالتهابی و ضد میکروبی نیز هستند (۱۸). در تحقیقی دیگر به منظور اثر گیاه دارویی چینی بر استرس گرمایی، ۲۷ راس گوساله گوشتی با میانگین سنی ۱۰ ماه و میانگین وزنی ۲۱۰ کیلوگرم طی تابستان در جنوب چین بطور تصادفی در ۳ گروه ۹ راسی انتخاب شدند. تیمار شاهد در درجه حرارت بالا، تیمارهای ۲ و ۳ در درجه حرارت بالا به اضافه گیاه دارویی از ۲ نوع مختلف برای ۲ ماه تحت بررسی قرار گرفتند. میزان کورتیزول سرم خون در پایان دوره آزمایشی در تیمار دوم در مقایسه با تیمار شاهد کاهش نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده پیشنهاد گردید که مکمل کردن جیره با گیاه دارویی چینی، عملکرد رشد گاوهای گوشتی تحت استرس را از طریق کم کردن پاسخ استرس گرمایی بهبود می‌بخشد و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی را افزایش می‌دهد (۳۲).

به دلیل دفع آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق شیر و همچنین ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در انسان، استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی‌های غذایی در تغذیه نوین حیوانات افزایش قابل توجهی یافته است. به نظر می‌رسد که استفاده از اسانس گیاهان دارویی می‌تواند جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب شود. با توجه به این نیاز، در این آزمایش از

1. Ashitex
2. Imion
3. Turmeric
4. Myrrh
5. Oak
6. Liquorice

۱- گروه آزمایشی شاهد (که در این گروه از سرکه که درمان رایج تب برفکی است استفاده شد)، ۲- گروه آزمایشی تحت درمان با داروی آشیتکس (داروی آشیتکس مخلوطی از پودر گیاهان دارویی زردچوبه، مرمرکی، مازو و شیرین بیان می باشد)، ۳- گروه آزمایشی تحت درمان با داروی آشیتکس + ایمون (داروی ایمون جهت تقویت سیستم ایمنی بدن در حین درمان طراحی شده و بر پایه اسید شیکوریک گیاه دارویی سرخارگل فرموله و تولید شده است)، ۴- گروه آزمایشی تحت درمان با سرکه + ایمون و ۵- گروه آزمایشی تحت درمان با سرکه + آشیتکس

همه تیمارها به مدت ده روز اعمال شدند. داروی آشیتکس (ساخت شرکت داروسازی سینا فرآور اسپادانا) به صورت اسپری تجویز شد به طوریکه روزانه دوبار بر دهان و زبان، ناحیه سم‌ها و بافت پستان (در صورت درگیر شدن) حیوان بیمار اسپری گردید که هر بار ۲۰ میلی لیتر از دارو به صورت اسپری مصرف می شد. داروی ایمون (ساخت شرکت داروسازی سینا فرآور اسپادانا) نیز به صورت خوراکی تجویز شده و روزانه دوبار، هر بار به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر به حیوان خورانده شد.

متغیرهای کیفی (وضعیت ظاهری زخم‌های دهانی و جلدی) به دقت مورد بررسی قرار گرفت. گزارشات روند درمان بعد از معاینه دامپزشک توسط پرسشنامه کنترل و ثبت گردید. سیستم رتبه بندی روزانه جهت بررسی شرایط ظاهری و سلامت بالینی و عمومی حیوان که توسط اساتید و دامپزشکان دست اندرکار ارزیابی می شد استفاده گردید. توضیح اینکه هر کدام از موارد رتبه بندی نمره از ۱ تا ۴ را شامل می شد که نمره ۱ نشان دهنده وضعیت بد و عدم اثر دارو، نمره ۲ وضعیت متوسط، نمره ۳ وضعیت خوب و نمره ۴ وضعیت خیلی خوب و نشان دهنده اثر کامل و رضایت بخش دارو بود (نجفی و همکاران

مصرف داروهای شیمیایی جهت کاهش فعالیت ویروس تب برفکی با کاهش ضایعات دهانی و به غذا افتادن حیوان کمک به زنده مانی دام کرد. همچنین پیش بینی می شود داروی ایمون که برای هدف بالا بردن ایمنی حیوان طراحی شده، علاوه بر کمک به روند بهبود حیوان در زمان درمان بر علیه یک بیماری خاص، در حالت عادی جنبه تقویتی و افزایش ایمنی عمومی بدن حیوان را نیز داشته باشد.

هدف از اجرای این آزمایش ارزیابی بالینی تاثیر داروهای گیاهی آشیتکس و ایمون روی ضایعات ناشی از تب برفکی، هورمون‌های استرس، ایمنی و بیان ژن اینترلوکین<sup>۱۲</sup> در گاو صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در ۲ مرحله اجرا شد. مرحله اول به صورت مشاهده ای و امتیاز دهی، و مرحله دوم به صورت کنترل شده و جمع آوری نمونه بود. مرحله اول این طرح در ۵ گاوداری منتخب پرورش گوساله‌های پرواری و گاوهای شیری درگیر با بیماری تب برفکی واقع در پاکدشت و بر روی گاوهایی در محدوده سنی بین ۳۶-۴ ماهگی و بین اوزان ۶۰۰-۱۰۰ کیلوگرم انجام گرفت که شامل ۲۲۴ گاو مبتلا بود. مرحله دوم این تحقیق در گله سوم (گاوداری شماره ۳) بر روی ۷۵ گاو مبتلا به تب برفکی در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۵ تیمار در ۳ تکرار (باکس) و هر تکرار شامل ۵ رأس دام بیمار انجام شد. در این آزمایش هیچگونه تغییری در شرایط نگهداری از قبیل تغذیه، نور، دما و سایر شرایط ایجاد نشد و فقط به بلوک بندی و توزیع گاوها در باکس‌های آماده شده اکتفا گردید.

گروه‌های آزمایشی شامل:

کیت الایزای کورتیزول با شماره کاتالوگ MBS265227 و کیت الایزای کورتیکوسترون با شماره کاتالوگ MBS265236 اندازه گیری شد. نتیجه به عنوان OD در ۴۵۰ نانومتر نشان داده شده و غلظت‌های کورتیزول و کورتیکوسترون (میکروگرم بر دسی لیتر) با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. جهت سنجش هورمونی از روش الایزا استفاده گردید. به منظور بررسی تقویت سیستم ایمنی در تیمارهای حاضر با استفاده از آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با رونویسی معکوس<sup>۲</sup> بیان ژن اینترلوکین ۲ انجام گرفت، که بدین منظور مقدار RNA با روش اسپکتروفتومتری تعیین شد و نمونه‌ها در ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس مراحل حرارتی سنتز DNA مکمل<sup>۳</sup> بر روی پرایمر اولیه انجام شد. پرایمرهای مورد استفاده به شرح زیر بودند (جدول ۱).

استخراج RNA کل از نمونه‌های خون با استفاده از کیت استخراج ستونی صورت گرفت و پس از آن طی واکنش نسخه برداری معکوس به DNA مکمل تبدیل شد. سپس به منظور بررسی بیان ژن اینترلوکین ۲، روش واکنش زنجیره ای پلیمرز با رونویسی معکوس<sup>۴</sup> نسبی استفاده شد. برای تعیین میزان بیان ژن از روش لیواک استفاده شد (۱۴). در این روش فرض بر این است که بازدهی ژن مورد نظر و ژن مرجع، برابر و نزدیک ۱۰۰ درصد است که به منظور تعیین کردن این فرض، از منحنی استاندارد استفاده می‌شود. برای این کار، رقت‌های مختلف از DNA مکمل تهیه و واکنش زنجیره ای پلیمرز با رونویسی معکوس انجام شد. محصولات واکنش زنجیره ای پلیمرز با رونویسی معکوس در ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید جدا شده و با

رتبه بندی طی ۱۰ روز دوره درمان و بطور منظم در ۶ مرحله: روز اول (شروع درمان)، روز دوم، روز چهارم، روز ششم، روز هشتم و روز دهم پس از انجام مشاهدات بالینی انجام شد و نتایج ثبت گردید و سپس میانگین رتبه بندی ۶ مرحله به‌عنوان عملکرد هر تیمار در بهبود ضایعه مورد نظر آنالیز گردید. جهت بهبودی نسبی از فرمول زیر استفاده گردید: (عدد ۴ نشان‌دهنده بهبودی کامل ضایعات حاصل از تب برفکی است).

### روزاول - روزآخر

$$\frac{\text{روزاول}}{\text{روزاول} - 4} \times 100$$

در ابتدای انجام طرح (روز اول) و انتهای دوره درمان (روز دهم)، نمونه خون از ورید گردنی گاوهای بیمار (۵ گاو از هر باکس) برای مقایسه سنجش تغییرات پاسخ ایمنی از گاوها و اندازه گیری هورمون‌های استرسی تهیه شد. تعداد خونگیری‌ها در مجموع بر روی ۷۵ رأس دام مبتلا در دو نوبت ابتدا و انتهای دوره به تعداد ۱۵۰ نمونه خونگیری از طریق سیاهرگ گردنی (جاگولار) در یک زمان مشخص (صبح اول وقت) انجام گرفت و نمونه‌های خون اخذ شده برای انجام آزمایشات مربوط به ایمنی و بیان ژن اینترلوکین ۲، میزان پاسخ‌های ایمنی، تغییرات هورمون‌های کورتیزول و کورتیکوسترون به آزمایشگاه ارسال شد. غلظت‌های ایمنوگلوبولین G<sup>۱</sup> با استفاده از کیت تشخیصی با شماره کاتالوگ E026 از موسسه تحقیقات مهندسی بیولوژیکی جیانچینگ چین به طور کمی سنجش شدند.

برای اندازه گیری سطوح هورمون‌های کورتیزول و کورتیکوسترون سرم، شش گاو از هر گروه (از هر باکس ۵ گاو) به صورت تصادفی انتخاب شدند و ۵ میلی لیتر خون از ورید گردن آنها گرفته شد و توسط

2. RT-PCR
3. cDNA
4. RT-PCR

1. IgG

تحلیلگر مولکولی سنجیده و براساس چگالی باندهای ژن کنترل داخلی مربوطه نرمال سازی شد (روش لیواک) (۱۴).

استفاده از سیستم 2000 GEL DOC Bio- Rad مشاهده شدند. چگالی باندهای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با رونویسی معکوس با استفاده از نرم افزار

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Primers used in the experiment

| اندازه محصول<br>(bp)<br>Product size (bp)   | شماره پذیرش و الحاقی<br>Reception number and<br>adjoining | توالی پرایمر<br>(۳-۵)<br>Primer Sequence (3 – 5)      | هدف RNA<br>Target RNA |
|---|---|---|-----------------------|
| ژن کنترل داخلی<br>RPL19 (Housekeeping gene) |   |   |                       |
| 353   | L08165  | CATCACCATTGGCAATGAGAGG<br>GCAAGCAGGAGTACGATGAATC      | F<br>R                |
| اینتروکین ۲<br>(IL-2)                       |   |   |                       |
| 227   | AJ634956  | CCTCGAGTCCTG<br>CCACAATG<br>GCGGCCGCTAGT<br>GATCAAGTC | F<br>R                |

( $P < 0/05$ ) مورد بررسی قرار گرفتند. و نتایج مربوط به بیان ژن اینترلوکین ۲ نیز با روش لیواک بررسی شد. طبق نتایج به دست آمده از نظر شرایط ظاهری و سلامت عمومی گاوهای مبتلا به تب برفکی تیمار دوم (آشیتکس) از لحاظ آماری بهترین عملکرد را در اکثر موارد داشته و اختلاف موجود معنی دار است ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲). این دارو مخلوطی از پودر گیاهان دارویی زردچوبه، مرمکی، مازو و شیرین بیان می‌باشد که برای اولین بار به صورت مخلوط در این تحقیق به کار رفته است.

### یافته‌ها

مدل آماری طرح به صورت زیر می‌باشد:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

خطای تصادفی =  $e_{ij}$  و اثر تیمار  $i = T_i$ ، میانگین کل

$$Y_{ij} = \mu, \text{ مشاهده}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوطه با استفاده از بسته نرم افزار آماری (SPSS version 22)، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد و داده‌ها بر اساس سطح احتمال

جدول ۲: تأثیر گروه‌های آزمایشی مختلف بر شرایط ظاهری و سلامت عمومی گاوهای مبتلا به تب برفکی با روش رتبه‌بندی مشاهده‌ای

**Table 2. Influence of different experimental groups on the appearance and general health of cows suffering from the foot and mouth disease (FMD) based on observational rating method**

| p-value<br>SEM  | گروه‌های آزمایشی                             |  |   |                   | علائم ظاهری و بالینی مورد رتبه بندی    |   |
|-----------------|--|--|---|-------------------|--|---|
|                 | سرکه +<br>آشیتکس<br>Vinegar<br>r+Ashit<br>ex | سرکه +<br>ایمیون<br>Vinegar<br>r+<br>Imion | آشیتکس<br>+ ایمیون<br>Ashitex<br>+Imion | آشیتکس<br>Ashitex | شاهد<br>(سرکه)<br>Control<br>(vinegar) | Rated apparent and clinical symptoms  |
| 0.056<br>0.0912 | 2.62 <sup>ab</sup>                           | 2.18 <sup>b</sup>                          | 2.62 <sup>ab</sup>                      | 2.98 <sup>a</sup> | 2.19 <sup>b</sup>                      | بهبود زخم‌های حفره دهانی و زبان<br>Improvement in the oral cavity and<br>tongue lesions   |
| 0.000<br>0.0762 | 2.81 <sup>ab</sup>                           | 2.46 <sup>b</sup>                          | 3.06 <sup>a</sup>                       | 3.20 <sup>a</sup> | 2.41 <sup>b</sup>                      | کاهش پرخونی‌های مخاطی<br>Reduced mucous hyperemia   |
| 0.022<br>0.0565 | 2.93 <sup>b</sup>                            | 2.82 <sup>b</sup>                          | 3.47 <sup>a</sup>                       | 3.59 <sup>a</sup> | 2.68 <sup>b</sup>                      | اروزیون زیاد همراه با پرخونی شدید در دهان یا زبان<br>Severe erosion and hyperemia in the<br>oral cavity or tongue   |
| 0.001<br>0.0531 | 3.06 <sup>b</sup>                            | 3.39 <sup>a</sup>                          | 3.64 <sup>a</sup>                       | 3.67 <sup>a</sup> | 2.98 <sup>b</sup>                      | جداشدگی تمام یا بخش وسیعی از اپیدرم سطح زبان<br>یا دهان همراه با پرخونی بسیار شدید<br>Complete or partial detachment of the<br>tongue or oral cavity epidermis with<br>extremely severe hyperemia           |
| 0.000<br>0.0561 | 2.41 <sup>cd</sup>                           | 2.64 <sup>bc</sup>                         | 2.88 <sup>b</sup>                       | 3.21 <sup>a</sup> | 2.34 <sup>d</sup>                      | ترشحات کش دار و موکوسی از دهان یا بینی (بهبود<br>نسبی یا مراحل اولیه بیماری)<br>Stretchy or mucous discharges from the<br>mouth or the nose (relative<br>improvement or the early stages of<br>the disease) |
| 0.000<br>0.0460 | 2.43 <sup>c</sup>                            | 2.81 <sup>b</sup>                          | 2.90 <sup>b</sup>                       | 3.16 <sup>a</sup> | 2.56 <sup>c</sup>                      | ترشحات کف دار یا موکوپرولانت از دهان یا بینی<br>Foamy or mucopurulent discharges<br>from the mouth or the nose  |
| 0.000<br>0.0382 | 3.59 <sup>b</sup>                            | 3.83 <sup>a</sup>                          | 3.76 <sup>ab</sup>                      | 3.88 <sup>a</sup> | 3.91 <sup>a</sup>                      | التهاب بافت پوششی، تورم و قرمزی سرپستانک‌ها<br>Epithelial inflammation and nipple<br>redness and inflammation   |
| 0.680<br>0.0384 | 3.92   | 3.77                                       | 3.87                                    | 3.78              | 3.80                                   | التهاب، نکروزه شدن و عفونت تاج سم<br>inflammation ,Necrotic and hoof<br>infection   |

SEM= میانگین خطاهای استاندارد؛ حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد (P<0.05)

SEM= Standard error of the means

Values with different superscript letters within a row are significantly different (P< 0.05).

یکی از ارکان داروی آشیتکس برای درمان زخم‌های گوارشی در انسان و حیوان مفید است (۷). گیاه مازو در این ترکیب با داشتن تانن (اسید تانیک) فراوان، خواص ضد باکتری داشته و با توجه به منابع موجود، در درمان و کنترل زخم‌های دهانی و التهابات ناشی از آن بسیار مفید است (۳ و ۴).

در منابع متعددی زردچوبه (که دارای ماده فعال کورکومین است) در ترکیب با سایر گیاهان از جمله گیاه سیر به‌عنوان داروی گیاهی برای درمان تب برفکی معرفی شده است. که نتایج حاصل از امتیاز دهی مشاهده ای این تحقیق با آنها مطابقت دارد. همچنین ماده فعال گلیسیریزین در گیاه شیرین بیان

ایمنی توصیه کرده اند (باربور و همکاران، ۲۰۱۵) که با مشاهدات تحقیق حاضر (در بحث افزایش سیستم ایمنی) کاملاً همخوانی دارد (۵). بطوری که از نظر میزان بهبودی نسبی گاوهای مبتلا به تب برفکی، نتایج بدست آمده از تیمار ایمیون نشان داد بعد از تیمار آشیتکس، تیمار آشیتکس و ایمیون بیشترین بهبودی نسبی را بدست آورده است (جدول ۳). این نتایج همچنین با نتایج اسماعیل و همکاران (۲۰۰۹) کاملاً همخوانی دارد (۱۱).

همچنین روغن مرمکی موجود در گیاه مرمکی دارای خواص ضد میکروبی و ضد التهابی بسیار قوی بوده و در درمان زخم های دهانی در حیوانات مورد استفاده قرار گرفته است (۲۰۱۰ و ۲۲).

در مطالعه ای، از ریشه خشک شده سرخارگل به صورت خوراکی همزمان با واکسیناسیون بر علیه باکتری سالمونلا در میش ها استفاده شد که موجب افزایش ایمنی و تولید آنتی بادی بیشتر و در زمان کمتر شد که محققین این پژوهش استفاده از سرخارگل (اکیناسه آ) در زمان واکسیناسیون را برای افزایش

جدول ۳: درصد بهبودی نسبی صفات مورد بررسی در گروه های آزمایشی طی دوره درمان

**Table 3. Relative recovery percentage of Traits investigated in the experimental groups during treatment period**

| گروه آزمایشی<br>سرکه +<br>آشیتکس<br>Vinegar+<br>Ashitex<br>treatment | گروه آزمایشی<br>سرکه + ایمیون<br>Vinegar+I<br>mion<br>treatment | گروه آزمایشی<br>آشیتکس +<br>ایمیون<br>Ashitex+I<br>mion<br>treatment | گروه آزمایشی<br>آشیتکس<br>Ashitex<br>treatment | گروه<br>آزمایشی<br>سرکه<br>Vinegar<br>treatment | روزهای درمان<br>Treatment<br>days      | صفت مورد مطالعه<br>Study trait  |
|--|---|--|--|---|--|---|
| 1.86   | 1.47  | 1.53   | 1.79   | 1.5   | روزاول<br>First day                    | ۱- حفره دهانی یا زبان بدون زخم و دارای رنگ صورتی (بهبود یافته)<br>1-The oral cavity or tongue is lesion-free and has a pink color   |
| 2.71   | 2.53  | 3.53   | 3.5  | روز آخر<br>Last day                             |  |   |
| 39.72%   | 41.9%   | 80.1%  | 77.4%  | 34.4%   | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |   |
| 2.21   | 1.93  | 2.0  | 2.36   | 2.0   | روزاول<br>First day                    | ۲- وزیکول یا اوربون کم در دهان یا زبان همراه با پرخونی کم نحاط (بهبود نسبی یا مراحل اول بیماری)<br>2-Vesicles with limited erosion in the oral cavity or tongue accompanied by limited mucous hyperemia (relative improvement or the early stages of the disease) |
| 3.14   | 2.93  | 3.73   | 3.71   | 2.5   | روز آخر<br>Last day                    |   |
| 52%  | 48.3%   | 86.5%  | 82.3%  | 25%   | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |   |
| 2.5  | 2.33  | 2.73   | 3  | 2.43  | روزاول<br>First day                    | ۳- اروزبون زیاد همراه با پرخونی شدید در دهان یا زبان<br>3-Severe erosion with severe hyperemia in the oral cavity or tongue   |
| 3.21   | 3.0   | 3.93   | 3.71   | 3.07  | روز آخر<br>Last day                    |   |
| 47.3%  | 40.1%   | 94.5%  | 71%  | 40.8%   | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |   |
| 2.86   | 3.4   | 3.13   | 3.14   | 2.71  | روزاول<br>First day                    | ۴- جداشدگی تمام یا بخش وسیعی از اپیدرم سطح زبان یا دهان همراه با پرخونی بسیار شدید<br>4-Complete or partial detachment of the tongue or oral cavity epidermis with extremely severe hyperemia   |
| 3.36   | 3.47  | 3.93   | 3.86   | 3.43  | روز آخر<br>Last day                    |   |
| 43.9%  | 11.7%   | 92%  | 83.7%  | 55.9%   | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |   |



|       |       |       |       |       |  |  |
|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| 2.14  | 2.4   | 2.07  | 2.43  | 2.29  | روزاول<br>First day                    | 5- ترشحات کش دار و موکوسی از دهان یا بینی بهبودی نسبی یا مراحل اولیه بیماری  |
| 2.93  | 2.87  | 3.33  | 3.36  | 2.5   | روز آخر<br>Last day                    | 5-Stretchy or mucous discharges from the mouth or the nose and relative improvement or the early stages of the disease |
| 42.5% | 29.4% | 65.3% | 59.2% | 12.3% | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |  |
| 2.0   | 2.47  | 2.0   | 2.71  | 2.36  | روزاول<br>First day                    | 6- ترشحات کف دار یا موکوپرولانت از دهان یا بینی  |
| 2.93  | 3.0   | 3.6   | 3.36  | 2.79  | روز آخر<br>Last day                    | 6-Foamy or mucopurulent discharges from the mouth or the nose  |
| 46.5% | 34.6% | 80%   | 50.4% | 26.2% | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |  |
| 3.57  | 2.8   | 3.53  | 3.64  | 3.86  | روزاول<br>First day                    | 7- التهاب بافت پوششی، تورم و قرمزی سر پستانکها ( در صورت وجود )  |
| 3.64  | 3.87  | 3.87  | 3.93  | 3.88  | روز آخر<br>Last day                    | 7-Epithelial inflammation and nipple redness and inflammation  |
| 16.3% | 35%   | 72.3% | 80.1% | 14.3% | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |  |
| 3.86  | 3.73  | 3.73  | 3.5   | 3.71  | روزاول<br>First day                    | 8- التهاب، نکروزه شدن و عفونت تاج سم (در صورت وجود)  |
| 3.93  | 3.8   | 3.93  | 3.86  | 3.86  | روز آخر<br>Last day                    | 8-inflammation ,Necrotic and hoof infection (if any)   |
| 50%   | 25.9% | 74.1% | 72%   | 51.7% | بهبودی نسبی %<br>Relative improvement% |  |

همچنین نتایج بدست آمده نشان داد که استفاده از داروهای آشیتکس و ایمیون موجب کاهش معنی دار (P<0/05) میزان هورمون‌های کورتیزول و کورتیکوسترون در گاوهای تحت آزمایش مبتلا به تب برفکی شده است (جداول ۴ و ۵).

جدول ۴: تأثیر گروه‌های آزمایشی مختلف بر میزان هورمون کورتیزول سرم در گاوهای مبتلا به تب برفکی

Table 4. Effect of different experimental groups on serum cortisol hormone levels in FMD cows

| مقدار کورتیزول آخر دوره<br>(میکروگرم در دسی لیتر) | مقدار کورتیزول ابتدای آزمایش<br>(میکروگرم در دسی لیتر) | گروه آزمایشی<br>Experimental group |
|---|--|------------------------------------|
| Cortisol level at the end (µg / dL)               | Cortisol level at the beginning (µg / dL)              |                                    |
| 3.05 <sup>a</sup>                                 | 6.36   | شاهد (سرکه)<br>Control (vinegar)   |
| 2.35 <sup>b</sup>                                 | 6.38   | آشیتکس<br>Ashitex                  |
| 1.91 <sup>b</sup>                                 | 6.54   | آشیتکس + ایمیون<br>Ashitex+Imion   |
| 2.15 <sup>b</sup>                                 | 6.27   | سرکه + ایمیون<br>Vinegar+Imion     |
| 1.89 <sup>b</sup>                                 | 6.48   | سرکه + آشیتکس<br>Vinegar+Ashitex   |
| 0.1237  | 0.0737   | SEM                                |
| 0.007   | 0.833  | p-value                            |

SEM= میانگین خطاهای استاندارد؛ حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد (P<0/05)

SEM= Standard error of the means

Values with different superscript letters within a column are significantly different (P< 0.05).

جدول ۵: تأثیر گروه‌های آزمایشی مختلف بر میزان هورمون کورتیکوسترون سرم در گاوهای مبتلا به تب برفکی

**Table 5. Effect of different experimental groups on serum corticosterone hormone levels in FMD cows**

| مقدار کورتیکوسترون آخر دوره<br>(میکروگرم در دسی لیتر)<br>Corticosterone level at the end ( $\mu\text{g} / \text{dL}$ ) | مقدار کورتیکوسترون ابتدای آزمایش<br>(میکروگرم در دسی لیتر)<br>Corticosterone level at the beginning ( $\mu\text{g} / \text{dL}$ ) | گروه آزمایشی<br>Experimental group |
|--|---|------------------------------------|
| 4.10 <sup>a</sup>  | 6.59  | شاهد (سرکه)<br>Control (vinegar)   |
| 2.22 <sup>b</sup>  | 6.61  | آشیتکس<br>Ashitex                  |
| 1.24 <sup>c</sup>  | 6.47  | آشیتکس + ایمون<br>Ashitex+Imion    |
| 2.32 <sup>b</sup>  | 6.51  | سرکه + ایمون<br>Vinegar+Imion      |
| 2.34 <sup>b</sup>  | 6.10  | سرکه + آشیتکس<br>Vinegar+Ashitex   |
| 0.2196   | 0.1205  | SEM                                |
| 0.000  | 0.693   | p-value                            |

SEM= میانگین خطاهای استاندارد؛ حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<0/05)

SEM= Standard error of the means

Values with different superscript letters within a column are significantly different (P< 0.05).

یک قرن اخیر نشان دهنده اثرات بالقوه کورکومین به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان T ضد التهاب و ضد تکثیر سلول است که آن را به عنوان یک مکمل ارزشمند در پیشگیری و درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها مستعد کرده است (۲۸ و ۲۹). مکانیسم مولکولی اثرات ضدالتهابی کورکومین از طریق مهار بیان ژن فاکتور هسته ای تقویت کننده زنجیره سبک کاپا از لئوسیت‌های B فعال شده<sup>۱</sup> است. مهار فسفوریلاسیون فسفولیپاز A2 و کاهش بیان ژن آنزیم سیکلو اکسی ژناز-۲<sup>۲</sup> و مهار فعالیت کاتابولیک آنزیم لیبو اکسی ژناز-۵<sup>۳</sup> کاهش تولید کموکاین‌ها با مهار بیان سایتوکاین‌های التهابی گوناگون مانند اینترلوکین<sup>۶</sup>، اینترلوکین<sup>۱</sup> و فاکتور نکروز تومور<sup>۶</sup> هم از این دست هستند. با توجه به یافته‌های فوق به نظر

معمولاً با برداشته شدن شرایط تنش و بهبود نسبی بیماری از میزان هورمون‌های فوق کاسته و به سطح نرمال می‌رسند. اثرات ضدالتهابی و کاهش هورمون‌های استرس در مطالعه حاضر ممکن است بدلیل اثرات ضد ویروسی شناخته شده کورکومین باشد که در مطالعات قبلی نشان داده شده است (۲۵). کورکومین موجود در زردچوبه از طریق مهار آنزیم لیبو اکسیژناز، سیکلو اکسیژناز و همچنین مهار سنتز نیتریک اکساید که عوامل اصلی ایجاد التهاب هستند اثرات ضد التهابی و ضد دردی خود را اعمال می‌کند. همچنین کورکومین با مکانیسم مهار آنزیم فسفوریلازکیناز و نیز کاهش واکنش‌های التهابی در تسریع بهبود زخم و جلوگیری از اسکار (جای زخم) نقش بسیار موثری را ایفا می‌کند. (۲۶) دلیل اصلی استفاده از داروی آشیتکس بدلیل خواص ویژه این ترکیب آلی بود. بسیاری از مطالعات (بیش از ۳۰۰۰ مطالعه) کشت سلولی، حیوانی و بالینی انجام شده در

1. NF – KB
2. COX-2
3. LOX-5
4. IL-6
5. IL1
6. TNF  $\alpha$

می‌رسد که بتوان از کورکومین در درمان بیماری‌های التهابی استفاده کرد (۱۷).  
 مطالعات دیگری هم نشان داد که گیاهانی که ضد استرس می‌باشند (مانند زردچوبه، مریم‌گلی، زیره، سیر، جنسینگ و آلوئه‌ورا) علاوه بر پایین آوردن هورمون کورتیزول و حمایت از غده فوق کلیوی به روش‌های دیگر بدن را در مواجهه با استرس کمک خواهند کرد. آنها ضد التهاب و آنتی‌اکسیدان بوده و بطور طبیعی سیستم ایمنی را کمک می‌کنند (۲۱ و ۲۳ و ۲۵ و ۲۷).  
 طبق نتایج به دست آمده از نظر میزان ایمونوگلوبولین G سرم در گاوهای مبتلا، استفاده از داروی ایمیون در تیمار سوم به همراه داروی آشیتکس و در تیمار چهارم به همراه سرکه نقش بسزایی در افزایش میزان ایمونوگلوبولین G، در گاوهای مبتلا به تب برفکی که واکسینه شده بودند، موثر بود (جدول ۶). این نتایج مطابق با نتایج اسماعیل و همکاران (۲۰۰۹) و باربور و همکاران (۲۰۱۵) است (۵ و ۱۱).

جدول ۶: تأثیر گروه‌های آزمایشی مختلف بر میزان ایمونوگلوبولین G سرم در گاوهای مبتلا به تب برفکی

Table 6: Effect of different experimental groups on serum immunoglobulin G levels in FMD cows

| مقدار ایمونوگلوبولین G ابتدای آزمایش<br>(نانوگرم در میلی لیتر) | مقدار ایمونوگلوبولین G آخر دوره<br>(نانوگرم در میلی لیتر) | گروه آزمایشی<br>Experimental group |
|--|---|------------------------------------|
| IgG level at the beginning (ng/ml)                             | IgG level at the end (ng/ml)                              |                                    |
| 66.61  | 125.04 <sup>b</sup>                                       | شاهد (سرکه)<br>Control (vinegar)   |
| 66.11  | 127.04 <sup>b</sup>                                       | آشیتکس<br>Ashitex                  |
| 67.49  | 146.17 <sup>a</sup>                                       | آشیتکس + ایمیون<br>Ashitex+Imion   |
| 63.42  | 157.52 <sup>a</sup>                                       | سرکه + ایمیون<br>Vinegar+Imion     |
| 63.18  | 129.12 <sup>b</sup>                                       | سرکه + آشیتکس<br>Vinegar+Ashitex   |
| 0.8910   | 3.4423  | SEM                                |
| 0.458  | 0.005   | p-value                            |

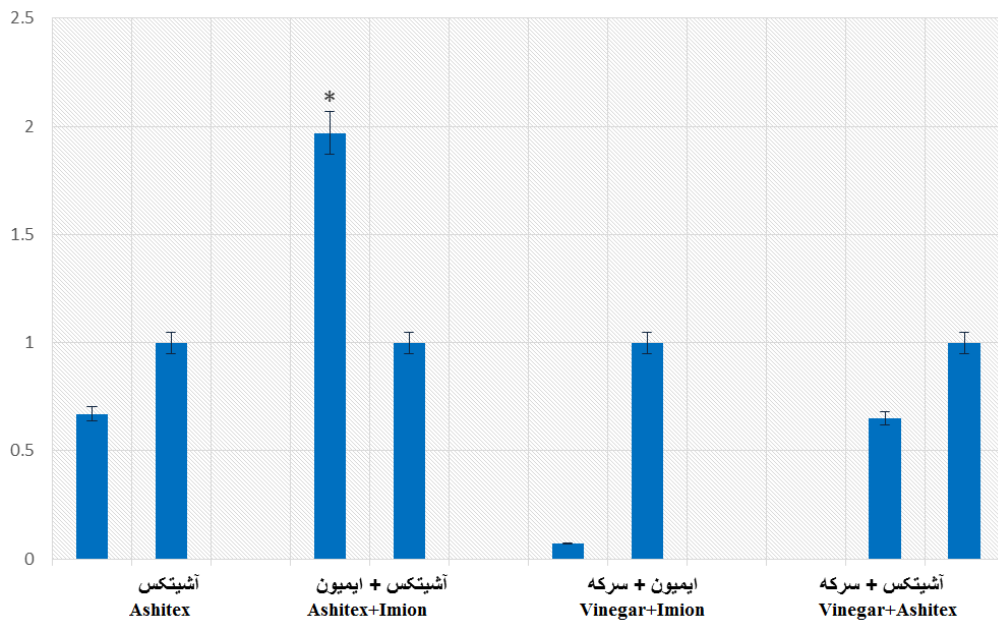
SEM= میانگین خطاهای استاندارد؛ حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ )

SEM= Standard error of the means

Values with different superscript letters within a column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

سیتوکینهای مختلف در بدن (۱۲)، افزایش لنفوسیتها (۲، ۶) و افزایش فعالیت ماکروفاژها (۲۷) است. افزایش فعالیت ماکروفاژها به دنبال مصرف آکیناسه آ ناشی از ۱-آلکامیدهای این گیاه (۳۰) و همچنین اسید شیکوریک و پلی ساکاریدهای آن می‌باشد (۹) است.

سیستم ایمنی برای مقابله با عوامل بیگانه‌ای که به درون بدن راه می‌یابند، طراحی شده است. این سیستم با ورود این عوامل (نظیر ویروس‌ها) موادی ترشح می‌کند تا این عوامل را از بین ببرند و یا اثر آن را خنثی سازد (۱۶). مکانیسم عمل سرخار گل در تحریک سیستم ایمنی از طریق افزایش ترشح



شکل ۱: بیان نسبی ژن اینترلوکین ۲ در گروه‌های آزمایشی بر روی گاوهای مبتلا به تب برفکی در سطح RNA در مقایسه با سرکه  
**Figure 1. Relative expression of interleukin-2 gene in experimental groups on FMD cows at RNA level compared to vinegar**

فاگوسیتوزی در لنفوسیت‌ها و تولید اینترفرون را تحریک نماید. سرخارگل موجب تقویت ایمنی و بهبود زخمها شده و همچنین پیشگیری کننده در عفونتهای دستگاه تنفسی فوقانی و سرماخوردگی می باشد (۳۱).

نتایج به دست آمده از بیان ژن اینترلوکین ۲ در گاوهای مبتلا به تب برفکی، نشان داد بیان ژن اینترلوکین ۲ تفاوت معنی داری بین تیمار آشیتکس و ایمیون با سایر تیمارهای آزمایشی داشت. تنها ترکیب دو داروی گیاهی آشیتکس و ایمیون در رابطه با بیان ژن اینترلوکین ۲ تفاوت معنی داری نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی نشان داد که می توان نتیجه گرفت تاثیر توأمان این دو دارو با هم سبب افزایش ایمنی هومورال شده است. استفاده از داروی ایمیون همراه با تیمار سرکه باعث کاهش بیان ژن اینترلوکین ۲ شده است که با نتایج ساساگارا و همکاران (۲۰۰۶) سازگار است (۲۷) و می توان گفت آلكامیده‌های موجود در آکیناسه باعث کاهش بیان ژن اینترلوکین ۲ شده است

قابل اعتمادترین مورد استفاده از سرخارگل به منظور کاستن از شدت و طول مدت سرماخوردگی می باشد. آلكامیده‌های غیر اشباع گونه اکیناسه آ آنگوستی فولیا سبب مهار فعالیت سیکلواکسیژناز در گوسفند و ۵- لپوکسی ژناز خوکی می شود. افزایش فاگوسیتوز واضح تر و متحمل تر از تحریک مستقیم سیستم ایمنی خونی است ولی در محیط آزمایشگاه شربت اکیناسه آ پورپوره آ باعث افزایش تولید اینترکولین ۱۰، اینترلوکین ۶، اینترلوکین ۱ و فاکتور نکروز تومور توسط گلبول‌های سفید (فاگوسیت‌های) انسانی می شود، همچنین افزایش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی و سمیت سلولی وابسته به پادتن با عصاره اکیناسه آ پورپوره آ در رده‌های سلولی افراد سالم و افرادی که ضعف ایمنی داشتند، دیده شده است. اثرات سودمند تیمار با این گیاه، تحریک سیستم ایمنی بدن می باشد و قادر است که فعالیت

1. *Echinacea angustifolia*
2. IL-10

پاسخ ایمنی موثر بوده است، افزایش اینترلوکین ۲ در زمان شدت بیماری بوده است.

### نتیجه گیری

استفاده از داروی گیاهی آشیتکس که از ترکیب گیاهان زردچوبه، شیرین بیان، گیاه مازو و گیاه مرمکی ساخته شده است. باعث بهبود شرایط ظاهری و بالینی و همچنین کاهش هورمون‌های درگیر در تنش و افزایش بیان ژن موثر در التهاب گاوهای مبتلا به تب برفکی شده است، همچنین داروی ایمون که بر پایه گیاه سرخارگل ساخته شده است باعث افزایش تولید ایمنوگلوبولین G در گاوهای مبتلا به تب برفکی که قبلاً واکسینه شده بودند گردید و پاسخ ایمنی را افزایش داد. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که با ترکیب گیاهان دارویی زردچوبه، شیرین بیان، گیاه مازو و مرمکی و همچنین گیاه سرخارگل و عصاره گیری و خالص سازی آنها می‌توان دوره درمان بیماری تب برفکی را کاهش داد و حتی شاید بتوان مقاوم سازی نیز انجام داد. لذا با توجه به نتایج بدست آمده استفاده از این دو داروی گیاهی به دلیل اثر ترکیبی آنها با همدیگر و برگشت سریعتر به وضعیت طبیعی و قرار گرفتن در چرخه تولید نسبت به سایر تیمارها، در درمان تب برفکی پیشنهاد می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

در این بخش مایلیم از کلیه عزیزانی که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند تشکر نمائیم.

(نمودار ۱). عدم وجود اختلاف معنی‌دار برای بیان ژن اینترلوکین بین سایر گروهها نسبت به گروه شاهد (تیمار سرکه) می‌تواند به این دلیل باشد که عمل برخی از سیتوکینها به شکل گذرا است و معمولاً دامنه کوتاهی دارد. فعالیت نسخه برداری از ژنهای سیتوکینها معمولاً موقتی بوده و mRNA کد کننده آنها ناپایدار است (۸). بر خلاف هورمونهای اندوکرین، قسمت اعظم سیتوکینها بطور موضعی و به شکل پاراکرین (اثر بر سلول مجاور) و یا حتی اتوکرین (اثر بر سلول تولید کننده سیتوکین) عمل می‌کنند. بنابراین سیتوکینهای مشتق شده از لنفوسیتها نظیر اینترلوکین ۲ بندرت در جریان خون باقی می‌مانند (۵). اینترلوکین ۲ یکی از اینترلوکین‌های مهم بدن است که از گلبول‌های سفید ترشح می‌شود و در پاسخ‌های التهابی و ایمنی نقش دارد. اینترلوکین ۲ از سلول‌های لنفوسیت T کمک کننده ترشح می‌شود و بر سلول‌های لنفوسیت T، لنفوسیت‌های B، سلول کشنده طبیعی، درشت خوار و الیگو دندروسیت موثر است. اصلی ترین کارکرد این سایتو کین، تمایز و تولید سریعتر لنفوسیت T است (۲۱).

نیکلاس و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند با جلوگیری از سنتز DNA در لنفوسیت‌های T در موش می‌توان از تولید اینترلوکین ۲ جلوگیری نمود (۱۹). بنابراین به نظر می‌آید دو داروی گیاهی آشیتکس و ایمون با هم اثر مکمل و سینرژیستی نشان داده و بیان ژن اینترلوکین ۲ را افزایش داده‌اند. بنابراین با توجه به نتایج باید بیان کرد یکی از دلایلی که ترکیب داروی آشیتکس و ایمون به عنوان یک تیمار موثر در بهبود ضایعات، کاهش هورمون‌های استرسی و افزایش

## References

1. Aghayarifar, B., Eila, N., Hemati, B. and Nemati, M.H. 2015. Effect of black pepper, garlic and turmeric powders on performance and antibody titer against Newcastle disease virus of Coob 500 broiler chickens. *Research on Animal Production*. 6(11): 28-34. (In Persian).
2. Allen, P.P. 2003. Dietary supplementation with Echinacea and development of immunity to challenge infection with coccidian. *Parasitology Research*. 91(1): 74-78.
3. Al-mobeeriek, A. 2011. Effects of myrrh on intra-oral mucosal wounds compared with tetracycline-and chlorhexidine-based mouthwashes. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*. 3: 53-58.
4. Araya, S., Abera, B. and Giday, M. 2015. Study of plants traditionally used in public and animal health management in seharti samre district. Southern Tigray, Ethiopia. *Journal of Ethnobiology and Ethno Medicine*. 11(1): 22-31.
5. Barbour, E.K., Assi, C.A.A., Shaib, H., Hamadeh, S., Murtada, M., Mahmoud, G., Yaghmoor, S., Iyer, A., Harakeh, S. and Kumosani, T. 2015. Evaluation of salmonella enteritis's vaccine and related Elisa for respective induction and assessment of acquired immunity to the vaccine and/or Echinacea Purpura in Awassi ewes. *Vaccine*. 33(19): 2228-2231.
6. Barrett, B. 2003. Medicinal properties of Echinacea: a critical review. *Phytomedicine*. 10(1): 66-86.
7. Chen, X., Wang, C., Xu, L., Chen, X., Wang, W., Yang, G., Tan, R.X., Li, E. and Jin, Y. 2013. A laboratory evaluation of medicinal herbs used in china for the treatment of hand, foot, and mouth disease. *Evidence-based Complementary and Aalternative Medicine*. 6(3): 10-19.
8. Clements, G.J., Price-Jones, M.J., Stephens, P.E., Sutton, C., Schulz, T.F., Clapham, P.R., Mckeating, J.A., McClure, M.O., Thomson, S., Marsh, M., Kay, J., Weiss, R.A. and Moore, J.P. 1991. The v3 loops of the hiv-1 and htv-2 surface glycoproteins contain proteolytic cleavage sites: A possible function in viral fusion. *Aids Research and Human Retroviruses*. 7(1): 3-16.
9. Cundell, D.R., Matrone, M.A., Ratajczak, P. and Pierce Jr, J.D. 2003. The effect of aerial parts of Echinacea on the circulating white cell levels and selected immune functions of the aging male Sprague-dawdle rat. *International Immunopharmacology*. 3(7): 1041-1048.
10. Duwiejua, M., Zeitlin, I.J., Waterman, P.G., Chapman, J., Mhango, G.J. and Provan, G.J. 1993. Anti-inflammatory activity of resins from some species of the plant family burseraceae. *Journal of Planta Medica*. 59(1): 12-16.
11. Ismael, A.B., El-nabtity, S.M. and Aly, A.AA. 2009. Dramatic improvement in the efficacy of foot and mouth disease vaccines by co-administration of Echinacea. *Veterinary Medical Journal Giza*, 57(4): 669-681. (In Persian).
12. Joselin, J. and Jeeva, S. 2014. *Andrographis Paniculata*: A review of its traditional uses, Phytochemistry and Pharmacology. *Indian Journal of Pharmacopoeia*. 3(4): 141-169.
13. Lavinia, S., Gabi, D., Drinceanu, D., Stef, D., Daniela, M., Julean, C., Ramona, T. and Corcionivoschi, N. 2009. Application of herbal feed additives in animal nutrition: A review. *Romanian Biotechnoly*. 14(4): 4606-4614.
14. Livak, K.J, Thomas D. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\delta\delta ct$  method. *Methods*. 25(4): 402-408.
15. Marguerite Yin, M. and Jeffery, W.A. 1996. *Medical Microbiology*. 4 Th edition. Chapter 53 Picornaviruses. Baron S, editor. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
16. Med Ram, V. 2013. Estimation of economic losses due to foot and mouth disease in India. *The Indian Journal of Animal Sciences*. 81(9): 964-970.
17. Menon, V.P. and Sudheer, A.R. 2007. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. In *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease* (pp. 105-125). Springer, Boston, MA.
18. Najafi, M., Torabi Goodarzi, M., Bahonar, A., Akbari, H. and Darabi, M. 2011. Evaluation of Mirtovet Herbal Medicine in improving oral lesions of FMD (Foot and mouth disease) in cattle. *Journal of Medicinal Plants*. 10(38): 135-141. (In Persian)
19. Nicholas, A., David, M., Melanie R., Coombs, P., Carolyn, D., Doucette, J., furlong, L. and Hoskins, A. 2011. Curcumin blocks Interleukin (IL)-2 signaling in t-lymphocytes by inhibiting il-2 synthesis, cd25 expression, and il-2 receptor

- Signaling. Biochemical and Biophysical Research Communications. 407(4): 801-806.
20. Nogami, H. and Aiso, A. 2016. Estradiol and corticosterone stimulate the proliferation of a GH cell line, MtT/S Proliferation of growth hormone cells. Growth Hormone and IGF Research. 8 (3): 471-480.
  21. Oleiniczak, K. and Kasparzak, A. 2008. Biological properties of interleukin II and its role in pathogenesis of selected disease. a review. Journal of Medical Science. 14(10): 179-89.
  22. Qianqian, H., Xiuli, L., Guoqi, Z., Tianming, H. and Yuxi, W. 2018. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. . Journal of Animal Nutrition. 4(2): 137-150
  23. Oraon, L., Atanu, J., PS, P. and Suvera, P. 2017. Application of herbs in functional dairy products – a review. Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research. 5(3):109-115.
  24. Pasandide, R. and Pasandide, M. 2014. A Review on Bovine Fever Disease and Its Prevalence in Iran. Journal of Animal Feed, Poultry and Aquaculture. 11(79): 14.26. (In Persian)
  25. Qin, Y., Lin, L., Chen, Y., Wu, S., Si, X., Wu, H., Zhai, X., Wang, Y., Tong, L., Pan, B. and Zhong, X. 2014. Curcumin inhibits the replication of enterovirus 71 *in vitro*. . Journal of Acta Pharmaceutica Sinica B. 4(4): 284-294.
  26. Ravipati, A.S, Zhang, L. , Koyyalamudi, S.R., Jeong, S.C., Reddy, N., Bartlett1, J. Smith, P.T., Shanmugam, K., Münch, G., Wu, M.J., Satyanarayanan, M. and Vysetti, B. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. BMC Complementary and Alternative Medicine. 12:173.
  27. Sasagawa, M., Cech, N.B., Gray, D.E., Elmer, G.W. and Wenner, C.A. 2006. Echinacea alkylamides inhibit interleukin-2 production by Jurkat t cells. International Immunopharmacology. 6(7): 1214-1221.
  28. Siahpoosh, A. and Amiri, F. 2010. Evaluation of antioxidant capacity of different aerial parts of the plant extracts. Journal of Yazd Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 19:4. 438-444. (In Persian)
  29. Venugopal, P.M. and Adluri Ram, S. 2007. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. 105-125.
  30. Woelkart, K. and Bauer, R. 2007. The role of alkamides as an active principle of Echinacea. . Journal of Planta Medica. 73(7): 615-623.
  31. Yazdani, D., Seifi, H. and Shahnazi, S. 2004. Planting, growing and harvesting of medicinal plants. Volume 2. Tehran. Academic Jahad. (In Persian).
  32. Xiao Zhen, S., Junrong, L., Dabio, F., Xianghui, Z., Kommatitsuk, B., Zhensong, Xu. and Mingren, Qu. 2014. Traditional Chinese Medicine Prescriptions Enhance Growth Performance of Heat Stressed Beef Cattle by Relieving Heat Stress responses and increasing apparent nutrient digestibility. Asian-Australian Journal of Animal Science. 27(10): 1513-1520.





Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Ruminant Research, Vol. 8(2), 2020*  
<http://ejrr.gau.ac.ir>

## Evaluation of Ashitex and Imion on recovery of clinical symptoms, stress hormones and Interleukin 2 gene expression in Foot and Mouth Disease in cattle

M. Poorkhalily<sup>1</sup>, \*M. Chamani<sup>2</sup>, A. Seidavi<sup>3</sup> and A. Sadeghi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduated Ph.D., <sup>2</sup>Professor, and <sup>4</sup>Associate Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Islamic Azad, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

<sup>3</sup>Professor, Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Received: 11/25/2019; Accepted: 06/15/2020

### Abstract

**Background and objective:** Foot and Mouth Disease is a highly contagious disease of animal that is one of the major barriers to the provision of livestock health and livestock products. This experiment was conducted to investigate the effects of herbal medicines Ashitex and Imion on improving complications of Foot and Mouth Disease, decreasing stress hormones and increasing immune response in sick cows.

**Materials and methods:** In this study, Ashitex and Imion, were orally sprayed to investigate their effects on improving the complications of Foot and Mouth Disease., reducing stress hormones and enhancing the immune response in cows with Foot and Mouth Disease. Ashitex is a blend of Turmeric, Myrrh, Mazoo and Liquorice, and Imion drug is based on Purple Coneflower. The experiment was performed on 75 cows with Foot and Mouth Disease. To obtain fully practical field results consistent with the cattle storage conditions, no changes were made to the storage conditions, such as feeding, light, temperature and other conditions, and only the cows were blocked and distributed in the prepared boxes. Treatments consisted of: 1- vinegar (control), 2-Ashitex, 3-Ashitex and Imion, 4-Vinegar and Imion, and 5-Vinegar and Ashitex. All treatments were applied for ten days. Ashitex was sprayed 20 ml twice daily. Imion was also given orally to the animal twice daily, 100 ml each time. At the beginning and end of the treatment period, blood samples were taken from the jugular vein of the cows to examine interleukin II gene expression, immune responses, and changes in cortisol and corticosterone hormones.

**Findings:** The second treatment (Ashitex) had the best performance on the appearance and general health of cows with Foot and Mouth Disease. The use of herbal medicine Ashitex improved the appearance and clinical conditions, as well as decreased stress hormones and increased expression of the gene effective in inflammation of cows with Foot and Mouth Disease. Imion also increased the production of immunoglobulin G in cows with previously vaccinated Foot and Mouth Disease and increased the immune response.

**Conclusion:** According to the results, the use of these two herbal medicines due to their combined effect and faster return to normal status and production cycle than other treatments is recommended to treat Foot and Mouth Disease.

**Keywords:** Corticosterone, Cortisol, Foot and mouth disease, Immunoglobulin G, Interleukin<sup>1</sup>

---

\*Corresponding author; m.chamani@srbiau.ac.ir