Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 16, Issue 2, 2025 p: 11-21

OPEN ACCESS

Research Paper

Investigation of the Anti-Oxidative Stress Effects of Organic Acid and Silver Nanoparticles Coated on Zeolite in the Liver and Intestine of Broiler Chickens

Fatemeh Asgharnezhad[1], Seyed Reza Hashemi[2], Saeed Hassani[3] and Sharif Rostami[4]

1- M.Sc., Department of Animal Physiology, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Associate professor, Department of Animal Physiology, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, (Corresponding author: hashemi711@yahoo.co.uk)
3- Professor, Department of Animal Genetics and Breeding, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
4- Ph.D., Department of Animal Physiology, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 05 April 2024 Revised: 18 July 2024 Accepted: 22 August 2024

Extended Abstract

Introduction: Oxidative stress is one of the major growth-limiting factors that occurs due to the excessive production of reactive oxygen species (ROS) and can lead to tissue damage in vital organs such as the liver and intestine. Due to their antibacterial and antioxidant properties, silver nanoparticles have been proposed as a novel solution for improving animal health and performance. Nanosilver toxicity is closely related to its biotransformation in biological systems, which includes surface oxidation of nanoparticles, release of silver ions, and interaction with biological macromolecules. The use of organic acids as feed additives in poultry nutrition can reduce the need for antibiotics. These effects are mainly due to the antibacterial properties and improved digestive function of these compounds. By reducing the growth of pathogenic bacteria and improving general health, the use of organic acid supplements can be a suitable alternative to antibiotics in poultry nutrition. On the other hand, silver nanoparticles coated on zeolite have high potential in various biological and environmental applications due to the combination of the unique properties of silver nanoparticles and the porous structure of zeolite. Recently, it has been proposed that silver nanoparticles could act as one of the factors inducing oxidative stress and affect the expression of oxidative genes. This research was conducted to investigate the effect of silver nanoparticles coated on zeolite and organic acid on the expression of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase genes in the liver and intestine of broiler chickens.

Methods: A total of 450 one-day-old Cobb chicks were divided into five groups subdivided into six replicates, each with 15 chicks, and were kept for 42 days in the same rearing conditions in the form of a completely random design. Experimental diets were 1) a control or basal diet, 2) a basal diet supplemented by 1% clinoptilolite, 3) a basal diet supplemented by 1% clinoptilolite coated with 0.5% nanosilver, a 4) basal diet supplemented by 0.15% organic acid, and 5) a basal diet supplemented by 1% clinoptilolite coated with 0.5% nanosilver and 0.15% organic acid. Silver nanoparticles coated on clinoptilolite were investigated using XRF and FTIR techniques. On day 42, liver and intestine samples were obtained to examine gene expression levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), and catalase (CAT). For the start (1-21 days of age) and growth (22-42 days of age), diets were adjusted using UFFDA software, and nutritional requirements were prepared according to the recommendations of the Cobb 500 strain maintenance guide. Three biological replicates and three technical replicates were randomly selected on the 42nd day of the breeding period, and samples were taken from the liver and small intestine (duodenum) to investigate the expression of SOD, GPX, and CAT genes. Data were analyzed using SAS software in a completely randomized design, and means were compared using the Tukey-Kramer test at a probability level of 0.05.

Results: In general, the data of this research on the 42nd day indicated a decreasing effect of experimental treatments, especially nanoparticles, on the relative expression of the tested genes in the liver tissue. A decreasing effect of the experimental treatments was observed on the SOD gene expression, and no significant difference was observed between Z and OA treatments and the control treatment. Moreover, the relative expression of the GPX gene in all experimental

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-09-03]

[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

Copyright ©2025 Asgharnezhad et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

treatments was lower than in the control treatment. OA and NSOA treatments showed a significant difference from the control treatment. NS and NSOA treatments showed a significant difference in the relative expression of the CAT gene with the control treatment ($P < 0.05$), with the lowest relative expression level belonging to the NS treatment. On the 42nd day of the breeding period, silver nanoparticle treatment increased the relative expression of SOD and GPX genes in the intestinal tissue, and the zeolite treatment and organic acid had a decreasing effect on the expression of all three studied genes ($P < 0.05$). The relative expression level of the SOD gene in the intestinal tissue showed that all experimental treatments were significantly different from the control treatment ($P < 0.05$). NSOA and NS treatments showed higher expression, and lower expression occurred in Z and OA treatments than in the control treatment, and the lowest expression level belonged to the Z treatment. There was a significant difference between NS, OA, and Z treatments with the control treatment in the relative expression of the GPX gene in the intestinal tissue ($P < 0.05$). The NS treatment showed higher expression, and OA and Z treatments showed lower expression than the control treatment. In accordance with the relative expression of the CAT gene, Z and OA treatments showed a significant difference from the control treatment. Treatment Z presented the lowest relative expression of the CAT gene among all treatments. No significant difference was observed between NSOA and NS treatments and the control treatment.

Conclusion: The treatments containing silver nanoparticles and zeolite showed the greatest effect on the expression of SOD, GPX, and CAT genes, while the organic acid treatment decreased the relative expression of the mentioned genes. On the other hand, the genes involved in oxidative stress were more affected by experimental treatments with increasing the breeding period. The effect of silver nanoparticles on the genes of the oxidative system is highly dependent on the conditions of use. The appropriate concentration of these nanoparticles can serve as an effective strategy in strengthening the body's antioxidant system, but their improper use may have adverse effects. For the safe and effective use of these compounds, further studies are needed to determine the optimal dosage and their long-term effects.

Keywords: CAT, GPX, Oxidative Stress, Silver Nanoparticles, SOD, Zeolite

How to Cite This Article: Asgharnezhad, F., Hashemi, S.R., Hassani, S., & Rostami, Sh. (2025). Investigation of the Anti-Oxidative Stress Effects of Organic Acid and Silver Nanoparticles Coated on Zeolite in the Liver and Intestine of Broiler Chickens. *Res Anim Prod,* 16(2), 11-21. DOI: 10.61882/rap.2024.1388

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-03]

[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضد تنش اُکسایشی اسید اُرگانیک و نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت در کبد و روده جوجه‌های گوشتی

فاطمه اصغرنژاد[۱]، سید رضا هاشمی[۲]، سعید حسنی[۳] و شریف رستمی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
(نویسنده مسوول: hashemi711@yahoo.co.uk)
۳- استاد، گروه ژنتیک و اصلاح دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴- دانش‌آموخته دکتری، گروه فیزیولوژی دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۷ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۱
صفحه ۱۱ تا ۲۱

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش اکسایشی یکی از عوامل اصلی محدودکننده رشد است که به‌دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن رخ می‌دهد و می‌تواند به آسیب بافتی در اندام‌های حیاتی نظیر کبد و روده منجر شود. نانوذرات نقره، به‌واسطه خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان یک راهکار نوین در بهبود سلامت و عملکرد حیوانات مطرح شده‌اند. سمیت نانونقره ارتباط نزدیکی با تبدیل زیستی آن در سیستم‌های بیولوژیکی دارد که شامل اکسیداسیون سطح نانوذرات، آزادسازی یون‌های نقره و برهم‌کنش با ماکرومولکول‌های بیولوژیکی می‌شود. استفاده از اسیدهای آلی به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی در تغذیه طیور می‌تواند نیاز به آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش دهد. این اثرات عمدتاً به‌دلیل ویژگی‌های ضدباکتریایی و بهبود عملکرد گوارشی این ترکیبات است. با کاهش رشد باکتری‌های بیماری‌زا و بهبود سلامت عمومی، استفاده از مکمل‌های اسید آلی می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور باشد. از طرفی، نانوذرات نقره پوشش داده‌شده بر زئولیت به‌دلیل ترکیب ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوذرات نقره و ساختار متخلخل زئولیت، پتانسیل بالایی در کاربردهای مختلف زیستی و محیطی دارند. این تحقیق با هدف بررسی اثر نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت و اسید اُرگانیک بر بیان ژن‌های سوپراُکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراُکسیداز و کاتالاز در کبد و روده جوجه‌های گوشتی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در مجموع ۴۵۰ جوجه کاب یک روزه به ۵ قطعه تقسیم و به ۶ تکرار با ۱۵ جوجه در هر کدام تقسیم شدند و به‌مدت ۴۲ روز در شرایط پرورش یکسان در قالب طرح کاملاً تصادفی نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) تیمار شاهد، ۲) تیمار شاهد مکمل شده با ۱ درصد زئولیت، ۳) تیمار شاهد مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره، ۴) تیمار شاهد مکمل شده با ۰/۱۵ درصد اسید اُرگانیک و ۵) تیمار شاهد مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره و ۰/۱۵ درصد اسید اُرگانیک بودند. برای دوره‌های آغازین (۲۱-۱ روزگی) و رشد (۴۲-۲۲ روزگی)، جیره‌های غذایی با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند و نیازهای تغذیه‌ای مطابق با توصیه راهنمای نگهداری سویه کاب ۵۰۰ تهیه شد. در روز ۴۲ دوره‌ی پرورش، ۳ تکرار بیولوژیک و ۳ تکرار تکنیکال به‌طور تصادفی انتخاب و نمونه‌برداری از بافت کبد و روده‌ی کوچک (دئودنوم) جهت بررسی بیان ژن‌های سوپراُکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراُکسیداز و کاتالاز انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی-کرامر در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته‌ها: به‌طور کلی، داده‌های این تحقیق در روز ۴۲ بیانگر اثر کاهشی تیمارهای آزمایشی بویژه نانوذرات بر بیان نسبی ژن‌های مورد آزمایش در بافت کبد بود. اثر تیمارهای آزمایشی بر بیان ژن SOD به‌صورت کاهشی بود و بین تیمارهای Z و OA با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین، میزان بیان نسبی ژن GPX در کلیه تیمارهای آزمایشی کمتر از تیمار شاهد بود. تیمارهای OA و NSOA با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. در بیان نسبی ژن CAT، تیمارهای NS و NSOA با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند (P <۰/۰۵) و کمترین میزان بیان نسبی مربوط به تیمار NS بود.
در بافت روده، در روز ۴۲ تیمار مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره موجب افزایش بیان نسبی ژن SOD و GPX شد و تیمار زئولیت و اسید اُرگانیک دارای اثر کاهشی بر بیان هر سه ژن مورد مطالعه بود (P<۰/۰۵). سطح بیان نسبی ژن SOD در بافت روده نشان داد که کلیه تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد اختلافات معنی‌داری داشتند (P <۰/۰۵). تیمارهای NSOA و NS بیانی بیشتر و تیمارهای Z و OA بیانی کمتر از تیمار شاهد داشتند و کمترین میزان بیان مربوط به تیمار Z بود. بیان نسبی ژن GPX در بافت رودهاختلافات معنی‌داری را بین تیمارهای NS، OA و Z با تیمار شاهد نشان داد (P <۰/۰۵). تیمار NS بیانی بیشتر و تیمارهای OA و Z بیانی کمتر نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. از لحاظ بیان نسبی ژن CAT، تیمارهای Z و OA با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. تیمار Z از کمترین بیان نسبی ژن CAT در بین تمامی تیمارها برخوردار بود. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای NSOA و NS با تیمار شاهد مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری کلی: بیشترین اثرگذاری در بیان ژن‌های SOD, GPX و CAT در تیمارهای حاوی نانوذرات نقره و زئولیت مشاهده شد که بیانگر نقش نانوذرات نقره در القای تنش اُکسیداتیو بود. از طرف دیگر، تیمار اسید اُرگانیک موجب کاهش بیان نسبی ژن‌های مذکور گردید که این امر می‌تواند بیانگر اثر ضد تنش اُکسایشی اسید اُرگانیک باشد. از سوی دیگر، با افزایش دوره پرورش، ژن‌های دخیل در تنش اُکسایشی بیشتر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. اثر نانوذرات نقره بر ژن‌های سیستم اکسیداتیو به‌شدت وابسته به شرایط استفاده است. غلظت مناسب این نانوذرات می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی مؤثر در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن عمل کند، اما استفاده نادرست از آن ممکن است اثرات نامطلوبی داشته باشد. برای کاربرد ایمن و مؤثر این ترکیبات، مطالعات بیشتری برای تعیین دوز بهینه و اثرات بلندمدت آن‌ها مورد نیاز هستند.

واژه‌های کلیدی: نانو نقره، تنش اُکسایشی، کاتالاز، سوپراُکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراُکسیداز

مقدمه

رشد و عملکرد بهینه در صنعت طیور به‌شدت تحت تأثیر شرایط تغذیه‌ای و محیطی قرار دارد (Surai, 2020). تنش اکسایشی یکی از عوامل اصلی محدودکننده رشد است که به‌دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن[1] (ROS) رخ

[1] Reactive Oxygen Species

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-09-03]

[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

می‌دهد و می‌تواند به آسیب بافتی در اندام‌های حیاتی نظیر کبد و روده منجر شود (Sies, 2020). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در خوراک طیور یکی از راهبردهای مؤثر برای کاهش اثرات مضر تنش اکسایشی است (Ferket *et al.*, 2002) در سال‌های اخیر، ترکیبات زیستی نظیر اسیدهای آلی و نانوذرات با خواص آنتی‌اکسیدانی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند. اسیدهای آلی به دلیل اثرات مطلوب بر هضم و جذب مواد مغذی و تقویت سیستم ایمنی، به عنوان افزودنی‌های خوراکی شناخته شده‌اند (Ricke, 2003). استفاده از اسیدهای آلی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث کاهش نشانگرهای تنش اکسایشی در کبد و روده شده است و بیان ژن‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان‌ها را افزایش داده است. این اثرات به بهبود سلامت کلی و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو منجر می‌شود. علاوه براین، اسیدهای آلی مانند اسید فرمیک و اسید پروپیونیک با کاهش pH دستگاه گوارش و بهبود هضم مواد مغذی، موجب افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Adil *et al.*, 2010). استفاده از اسیدهای آلی به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی در تغذیه طیور می‌تواند نیاز به آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش دهد. این اثرات عمدتاً به‌دلیل ویژگی‌های ضدباکتریایی و بهبود عملکرد گوارشی این ترکیبات است. با کاهش رشد باکتری‌های بیماری‌زا و بهبود سلامت عمومی، استفاده از مکمل‌های اسید آلی می‌تواند جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور باشد (Khan & Iqbal, 2016).

از سوی دیگر، نانوذرات نقره، به‌واسطه خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان یک راهکار نوین در بهبود سلامت و عملکرد حیوانات مطرح شده‌اند (Kulak *et al.*, 2018). سمیت نانونقره ارتباط نزدیکی با تبدیل زیستی آن در سیستم‌های بیولوژیکی دارد که شامل اکسیداسیون سطح نانوذرات، آزادسازی یون‌های نقره و برهم‌کنش با ماکرومولکول‌های بیولوژیکی می‌شود. تجمع نانونقره در سیتوپلاسم ممکن است عملکرد میتوکندری را از طریق آسیب مکانیکی یا با مسدودکردن انتقال الکترون در زنجیره تنفسی مختل کند و در نتیجه تولید ROS را افزایش دهد (AshaRani *et al.*, 2009). از طرفی، نانوذرات نقره پوشش داده‌شده بر زئولیت به‌دلیل ترکیب ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوذرات نقره و ساختار متخلخل زئولیت، پتانسیل بالایی در کاربردهای مختلف زیستی و محیطی دارند. این ترکیبات نه‌تنها خواص ضدباکتریایی قوی نانوذرات نقره را حفظ می‌کنند، بلکه به افزایش پایداری، پراکندگی، و کنترل رهایش این نانوذرات کمک می‌کنند (Azizi-Lalabadi *et al.*, 2019).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تغذیه طیور با افزودنی‌های حاوی نانوذرات و اسیدهای آلی می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی فعالیت ژن‌های مرتبط با سیستم آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار دهد. با این‌حال، اطلاعات محدودی درباره اثرات ترکیبی این افزودنی‌ها بر پاسخ ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در کبد و روده جوجه‌های گوشتی موجود است. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات ضد تنش اکسایشی اسیدهای آلی و نانوذرات نقره پوشش داده‌شده بر زئولیت و بیان ژن‌های سوپراُکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراُکسیداز و کاتالاز در بافت کبد و روده جوجه‌های گوشتی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه کاب ۵۰۰ در پنج تیمار و شش تکرار و در هر واحد آزمایشی ۱۵ قطعه در ایستگاه تحقیقات طیور، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌مدت ۴۲ روز انجام شد. برای دوره‌های آغازین (۲۱–۱ روزگی) و رشد (۴۲–۲۲ روزگی)، جیره‌های غذایی با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند و نیازهای تغذیه‌ای مطابق با توصیه راهنمای نگهداری سویه کاب ۵۰۰ تهیه شدند (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی در پنج گروه عبارت از: ۱) تیمار شاهد (C)، ۲) تیمار شاهد مکمل‌شده با ۱ درصد زئولیت (Z)، ۳) تیمار شاهد مکمل‌شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره (NS)، ۴) تیمار شاهد مکمل‌شده با ۰/۱۵ درصد اسید اُرگانیک (OA) و ۵) تیمار شاهد مکمل‌شده با ۱ درصد زئولیت پوشش‌داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره و ۰/۱۵ درصد اسید اُرگانیک (NSOA) بودند. اسید اُرگانیک مورد استفاده در این تحقیق با ترکیب اسید فرمیک و اسید پروپیونیک از شرکت بایومین‌های ایتوک فردا[1] از کشور تهیه شد. از چینه‌های زئولیتی واقع در منطقه استان سمنان، زئولیت (با فرمول شیمیایی زئولیت خالص $(K_2, Na_2, Ca, Mg)\ Al_6Si_{30}O_{72}.\ 24H_2O$) مورد استفاده در این آزمایش به‌دست آمد. ترکیب شیمیایی زئولیت با استفاده از تکنیک فلورسانس اشعه ایکس (XRF) مورد بررسی قرار گرفت. مراحل تهیه نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت شامل ترکیب زئولیت با آب مقطر و قرارگیری محلول اولیه (pH آن در محدوده ۷–۵) به‌مدت یک ساعت در دستگاه همزن و سپس افزودن نانونقره آماده با درصد مورد نظر به آن و مخلوط‌کردن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ اتمسفر بود. افزودن تثبیت‌کننده‌های مورد نظر تا تغییر رنگ به قهوه‌ای ادامه داشت. سپس در دمای محیط و دور از نور خورشید، مخلوط ماده ته‌نشین شده خشک گردید (Bolandi *et al.*, 2021). جهت تعیین اندازه، خواص ساختاری، مورفولوژی و ریخت شناسی نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت، از دستگاه‌های پراش اشعه ایکس (X-ray diffraction) (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیلی (FESEM، Mira، XMU۳-) در مرکز پژوهش متالورژی رازی استفاده شد. همچنین، آنالیز عنصری نمونه‌های سنتزشده برای به‌دست آوردن اطلاعات ساختاری به‌وسیله روش SEM-EDX انجام گردید. علاوه بر این، گروه‌های عاملی در زئولیت و زئولیت پوشش‌داده شده بر نانو نقره با استفاده از فن‌های طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه (Fourier-

[1] Biomin Etouk Farda

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-09-08]
[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

transform infrared spectroscopy) (FTIR) مورد شناسایی قرار گرفتند.

در روز ۴۲ دوره‌ی پرورش، سه تکرار بیولوژیک و سه تکرار تکنیکال به‌طور تصادفی انتخاب و نمونه‌برداری از بافت کبد و روده‌ی کوچک (دئودنوم) جهت بررسی بیان ژن‌های سوپراُکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراُکسیداز و کاتالاز انجام شد (Smaili *et al.*, 2017). قطعه جداشده به‌طول ۱ سانتی‌متر پس از انتقال به میکروتیوپ به ازت مایع منتقل شد. با استفاده از کیت استخراج ترایزول (TRIzol) ساخته شرکت سیگما آلدریچ (Sigma Aldrich)، Total RNA استخراج شد و با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد کیفیت RNA استخراجی از بافت‌ها تعیین گردید (نگاره ۱). همچنین، از آنزیم DNaseI (شرکت فرمنتاز) براساس روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز برای اطمینان از خلوص RNA استخراجی و عدم وجود آلودگی‌ها به DNA ژنومی استفاده شد. پس از آن، با استفاده از آنزیم رونوشت‌بردار معکوس برای واکنش RT-PCR، سنتز cDNA از روی mRNA بالغ به‌عنوان الگو انجام گرفت. از ژن مرجع بتااکتین برای نرمال‌سازی نتایج qRT-PCR استفاده شد. طراحی پرایمرهای موردنیاز جهت بررسی بیان ژن هدف و ژن مرجع، بر اساس اطلاعات موجود در سایت NCBI و با استفاده از نرم‌افزار Oligo 7 و Allel ID و با در نظر گرفتن خصوصیات مطلوب برای استفاده در روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی انجام شد. شرکت پیشگامان ساخت پرایمرها را انجام داد. در جدول ۱ اطلاعات و توالی پرایمرهای مربوط به ژن‌های هدف نشان داده شده‌اند. بر اساس رابطه $Y=2^{-\Delta\Delta C_t}$ داده‌های حاصل از دستگاه PCR-RT مربوط به هر ژن توسط نرم‌افزار GenEx6.0 محاسبه شد (Biosystems, 1997) و به‌منظور نرمال سازی داده‌های به‌دست آمده لگاریتم آن‌ها به‌دست آمد. نگاره مربوط به بیان هر ژن با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی–کرامر در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت (Edition, 2010).

جدول ۱–ترکیب جیره‌های آزمایشی (برحسب درصد هوا خشک)[1]

Table 1. The composition of experimental diets (DM basis)[1]

اجزاء جیره غذایی (Diet component)	آغازین (Starter) (1-21)	رشد (Grower) (22-42)	آغازین (Starter) (1-21)	رشد (Grower) (22-42)
ذرت (Corn)	53.7	59.96	51.6	57.84
کنجاله سویا (Soybean meal)	39.52	33.25	39.95	33.68
روغن سویا (Soybean oil)	3	3.41	3.69	4.11
نانونقره پوشش‌داده شده بر زئولیت (%) (Nanosilver coated on zeolite)	0	0	1	1
دی‌کلسیم فسفات (Di-calcium phosphate)	1.47	1.09	1.47	1.09
سنگ آهک (Limestone)	1.19	1.29	1.18	1.28
نمک (Salt)	0.43	0.32	0.43	0.32
مکمل ویتامینی[2] (Vitamin premix)	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[2] (Mineral premix)	0.25	0.25	0.25	0.25
DL– متیونین (DL-Methionine)	0.13	0.05	0.13	0.05
L– لیزین (L-lysine)	0.06	0.13	0.05	0.13
آنالیز مواد مغذی (Nutrients analysis)				
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) (Metabolizable energy (kcal/kg))	2950	3050	2950	3050
پروتئین خام (٪) (CP)	21.2	19.06	21.2	19.06
کلسیم (٪) (Calcium)	0.92	0.86	0.92	0.86
فسفر (٪) (Phosphorus)	0.41	0.33	0.41	0.33
سدیم (٪) (Sodium)	0.18	0.14	0.18	0.14
لیزین (٪) (Lysine)	1.01	0.95	1.01	0.95
متیونین (٪) (Methionine)	0.47	0.36	0.47	0.36
سیستئین (٪) (Cysteine)	0.36	0.37	0.36	0.37
آرژنین (٪) (Arginine)	1.45	1.27	1.45	1.27
ترئونین (٪) (Threonine)	0.84	0.74	0.84	0.74

[1] جیره بر پایه توصیه راهنمای نگه‌داری سویه کاب ۵۰۰ تهیه شد.

[2] هر کیلوگرم خوراک حاوی ویتامین A: ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی، کوله‌کلسیفرول: ۲۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۱۰ واحد بین‌المللی، ریبوفلاوین: ۳/۵ میلی‌گرم، پانتوتنیک اسید:۱۰ میلی‌گرم، نیاسین: ۳۰ میلی‌گرم: کولین کلرید: ۱۰۰۰ میلی‌گرم، بیوتین: ۰/۱۵ میلی‌گرم، اسید فولیک: ۰/۵ میلی‌گرم، پیریدوکسین: ۳ میلی‌گرم، آهن: ۸۰ میلی‌گرم، روی: ۴۰ میلی‌گرم، منگنز: ۶۰ میلی‌گرم، ید: ۰/۱۸ میلی‌گرم، مس: ۸ میلی‌گرم، سلنیوم: ۰/۱۵ میلی‌گرم، کوبالامین: ۱۵ میکروگرم.

1-Diet was prepared based on the recommendation of the maintenance guide for the Cobb 500 strain.
2- Each kg of feed contains vitamin A: 1500 IU, cholecalciferol: 200 IU, vitamin E: 10 IU, riboflavin: 3.5 mg, pantothenic acid: 10 mg, niacin: 30 mg: choline chloride: 1000 mg, biotin: 0.15 mg, folic acid: 0.5 mg, pyridoxine: 3mg, Iron: 80 mg, Zinc: 40 mg, Manganese: 60 mg, Iodine: 0.18 mg, Copper: 8 mg, Selenium: 0.15 mg, Cobalamin: 15 µg.

جدول ۲– پرایمرهای مورد استفاده در واکنش RT-PCR

Table 2- Primers used in the RT-PCR reaction

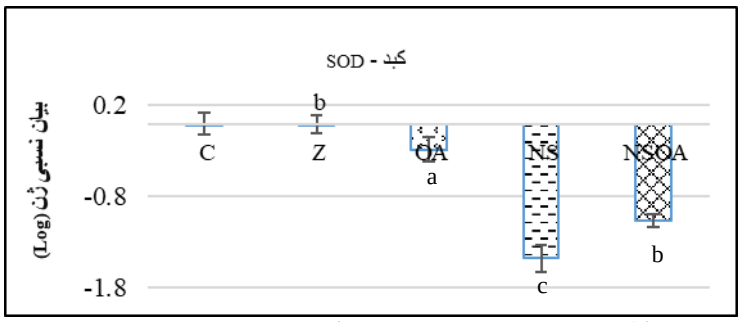
نام پرایمر (Primer's name)	نوع پرایمر (Primer's type)	توالی 3´ ..... 5´ Sequence (5´..... 3´)	دمای ذوب (°C) (Melting point)	Accession No.
β-actin	Forward	AAGTTACTCGCCTCTGTGGA	59	NM_001101
	Reverse	GCTTCTTCCAATCCAACTGCTA		
SOD	Forward	TGGTGTAATTGGAATAGC	55	NM017050.1
	Reverse	AGTAGTAATGAGATTAAGTGAT		
GPX	Forward	GTGAGTGTGGGTTTACAGATAGT	60	NM030826.3
	Reverse	CTTTGTTGGTGTCTGGTTCTTG		
CAT	Forward	TTACTTTCCCTCTTCCCTTACCA	60	NM012520.2
	Reverse	GCTTCTTCCAATCCAACTGCTA		

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-09-04]
[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر بیان نسبی ژن‌های SOD، GPX و CAT در بافت کبد در روز ۴۲ دوره پرورش در نگاره‌های ۱ تا ۳ آورده شده است. اثر تیمارهای آزمایشی بر بیان ژن SOD به‌صورت کاهشی بود و بین تیمارهای Z و OA با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵). تیمارهای NS و NSOA به‌ترتیب از کمترین میزان بیان نسبی معنی‌دار نسبت به شاهد برخوردار بودند ($P <$ ۰/۰۵).

همچنین، میزان بیان نسبی ژن GPX در کلیه تیمارهای آزمایشی کمتر از تیمار شاهد بود. تیمارهای OA و NSOA با تیمار شاهد اختلافات معنی‌داری نشان دادند ($P <$ ۰/۰۵) و کمترین میزان بیان نسبی مربوط به تیمار NSOA بود. اختلافات بین تیمارهای NS و Z با تیمار شاهد معنی‌دار نبودند ($P >$ ۰/۰۵). در بیان نسبی ژن CAT، تیمارهای NS و NSOA با تیمار شاهد اختلافات معنی‌داری نشان دادند ($P <$ ۰/۰۵) و کمترین میزان بیان نسبی مربوط به تیمار NS بود. تیمار OA اختلاف کاهشی و تیمار Z اختلاف افزایشی غیر معنی‌دار نسبت به شاهد از خود نشان دادند ($P >$ ۰/۰۵).



شکل ۱- بیان نسبی ژن SOD در بافت کبد در روز ۴۲ دوره پرورش

Figure 1. Relative expression of the SOD gene in the liver tissue on day 42 of the experiment

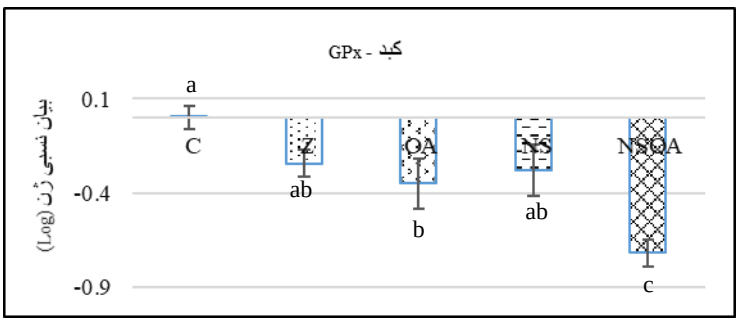
[a,b,c,d] Values with different superscripts for each figure are significantly different ($P < 0.05$)

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید اُرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت مکمل‌شده با اسید اُرگانیک

C: control; Z: basal diet supplemented by zeolite; OA: basal diet supplemented by organic acid; NS: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver; NSOA: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver and organic acid.



شکل ۲- بیان نسبی ژن GPX در بافت کبد در روز ۴۲ دوره پرورش

Figure 2. Relative expression of the GPX gene in the liver tissue on day 42 of the experiment

[a,b,c,d] Values with different superscripts for each figure are significantly different ($P < 0.05$)

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید اُرگانیک

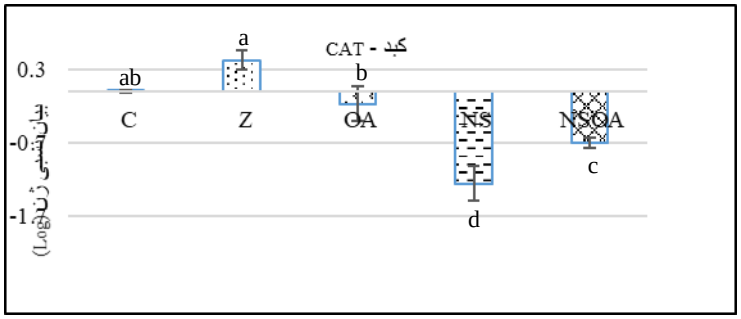
NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت مکمل‌شده با اسید اُرگانیک

C: control; Z: basal diet supplemented by zeolite; OA: basal diet supplemented by organic acid; NS: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver; NSOA: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver and organic acid.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-03]

[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]



شکل ۳- بیان نسبی ژن CAT در بافت کبد در روز ۴۲ دوره پرورش

Figure 3. Relative expression of the CAT gene in the liver tissue on day 42 of the experiment

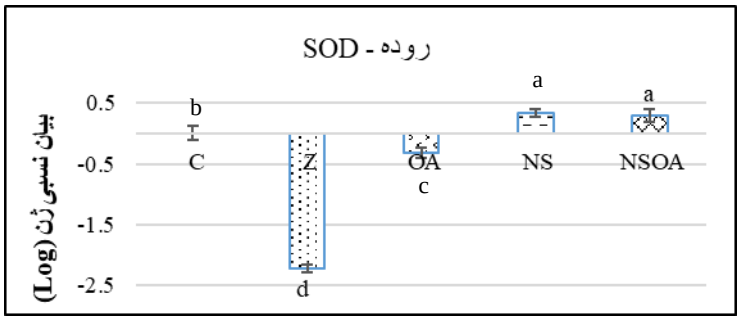
[a,b,c,d] Values with different superscripts for each figure are significantly different (P < 0.05)

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید اُرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت مکمل‌شده با اسید اُرگانیک

C: control; Z: basal diet supplemented by zeolite; OA: basal diet supplemented by organic acid; NS: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver; NSOA: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver and organic acid.



شکل ۴- بیان نسبی ژن SOD در بافت روده در روز ۴۲ دوره پرورش

Figure 4. Relative expression of the SOD gene in the intestinal tissue on day 42 of the experiment

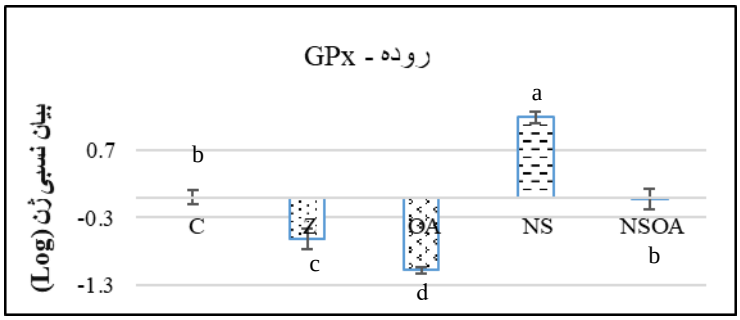
[a,b,c,d] Values with different superscripts for each figure are significantly different (P < 0.05)

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسیداُرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت مکمل‌شده با اسید اُرگانیک

C: control; Z: basal diet supplemented by zeolite; OA: basal diet supplemented by organic acid; NS: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver; NSOA: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver and organic acid.



شکل ۵- بیان نسبی ژن GPX در بافت روده در روز ۴۲ دوره پرورش

Figure 5. Relative expression of the GPX gene in the intestinal tissue on day 42 of the experiment

[a,b,c,d] Values with different superscripts for each figure are significantly different (P < 0.05)

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسیداُرگانیک

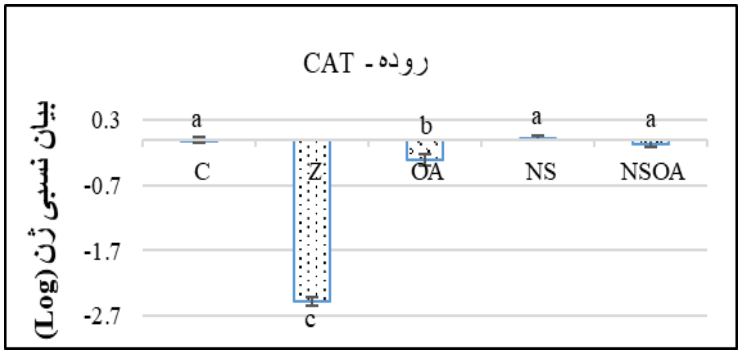
NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت مکمل‌شده با اسید اُرگانیک

C: control; Z: basal diet supplemented by zeolite; OA: basal diet supplemented by organic acid; NS: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver; NSOA: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver and organic acid.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-09-03]

[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]



شکل ۶- بیان نسبی ژن CAT در بافت روده در روز ۴۲ دوره پرورش

Figure 6. Relative expression of the CAT gene in the intestinal tissue on day 42 of the experiment

[a,b,c,d] Values with different superscripts for each figure are significantly different ($P < 0.05$)

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسیداُرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت مکمل‌شده با اسیداُرگانیک

C: control; Z: basal diet supplemented by zeolite; OA: basal diet supplemented by organic acid; NS: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver; NSOA: basal diet supplemented by zeolite coated with nanosilver and organic acid.

مقادیر بیان نسبی ژن‌های SOD، GPX و CAT در بافت روده در روز ۴۲ در نگاره‌های ۴ تا ۶ آورده شده‌اند.

در روز ۴۲ دوره پرورش، سطح بیان نسبی ژن SOD در بافت روده نشان داد که کلیه تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد اختلافات معنی‌دار داشتند ($P <$ ۰/۰۵). تیمارهای NSOA و NS بیانی بیشتر و تیمارهای Z و OA بیانی کمتر از تیمار شاهد داشتند و کمترین میزان بیان مربوط به تیمار Z بود. در نگاره ۵ که بیانگر بیان نسبی ژن GPX در بافت روده است، اختلافات معنی‌دار بین تیمارهای NS، OA و Z با تیمار شاهد وجود دارند ($P <$ ۰/۰۵). تیمار NS بیانی بیشتر و تیمارهای OA و Z بیانی کمتر نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. تیمار NSOA اثر معنی‌داری بر بیان نسبی ژن GPX نداشت. مطابق با بیان نسبی ژن CAT در نگاره ۶، تیمارهای Z و OA با تیمار شاهد اختلافات معنی‌داری نشان دادند ($P <$ ۰/۰۵). تیمار Z از کمترین بیان نسبی ژن CAT در بین تمامی تیمارها برخوردار بود. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای NSOA و NS با تیمار شاهد مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵).

به‌طور کلی، داده‌های این مطالعه در روز ۴۲ دوره پرورش در بافت کبد نشان داد که تیمارهای آزمایشی به ویژه نانوذرات دارای اثر کاهشی بر بیان نسبی ژن های مورد آزمایش بودند. اگر به‌طور اختصاصی‌تر بیان شود، داده‌های این تحقیق در بافت کبد نشان دادند که تیمار حاوی نانوذرات نقره پوشش-داده شده بر زئولیت مکمل‌شده با اسیداُرگانیک در بافت کبد، اثر مستقیم بر تولید یا افزایش پراُکسید هیدروژن داشت و سلول با افزایش بیان ژن GPX و به‌دنبال آن به تعادل رساندن سیستم آنتی‌اُکسیدانی، درصدد کاهش اثرات مضر H_2O_2 موجود برآمده است (Valko *et al.*, 2007).

در مطالعه پیشین ما، تأثیر نانوذرات نقره پوشش‌یافته بر کلینوپتیلولیت بر شاخص‌های عملکردی و سلامتی جوجه‌های گوشتی بررسی شد. نتایج نشان دادند که این ترکیب موجب بهبود معنادار ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه کنترل گردید، اگرچه تغییرات مصرف خوراک و افزایش وزن بدن از نظر آماری معنادار نبود. علاوه بر این، سطوح آنزیم‌های قلیایی فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز در سرم پرندگان تحت تیمار با نانوذرات نقره-کلینوپتیلولیت به‌طور معناداری کاهش یافتند. همچنین، این ترکیب با کاهش غیر معنادار غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم و افزایش لیپوپروتئین با چگالی بالا همراه بود. بر اساس این یافته‌ها، نانوذرات نقره پوشش‌یافته بر کلینوپتیلولیت علاوه بر نقش تقویت‌کنندگی رشد، پتانسیل کاهش آسیب‌های کبدی ناشی از دوره پرورش را نیز دارد که این امر از طریق تنظیم پروفایل لیپیدی و کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی قابل توجیه است (Smaeili *et al.*, 2016).

میتوکندری محل اصلی تولید ROS در سلول است. در طول فسفوریلاسیون اُکسیداتیو، اکسیژن با دریافت کنترل‌شده الکترون در زنجیره تنفسی به مولکول آب تبدیل می‌شود. برخی الکترون‌ها از زنجیره‌ی انتقال الکترون فرار می‌کنند و توسط مولکول اکسیژن پذیرفته می‌شوند که تشکیل رادیکال آزاد سوپراُکسید آنیون را می‌دهند. در اغلب موارد، رادیکال‌های آزاد سوپراُکسید آنیون به پراُکسید هیدروژن تبدیل می‌شوند که به نوبه‌ی خود می‌توانند به‌طور کامل به آب احیا شوند و یا تا حدودی رادیکال‌های هیدروکسیل تولید کنند (Boonstra & Post, 2004). ترکیبات سمی و زنوبیوتیک‌ها از دو طریق نرخ تولید سوپراُکسید آنیون میتوکندریایی را افزایش می‌دهند. برخی از این ترکیبات با مسدودکردن انتقال الکترون در افزایش تنش اُکسیداتیو دخیل هستند و دیگر ترکیبات زنوبیوتیک با دریافت یک الکترون از یک حامل تنفسی و انتقال آن به مولکول اکسیژن، و تحریک تشکیل سوپراُکسید آنیون بدون مهار چرخه تنفسی نقش خود را ایفا می‌کنند (Turrens, 2003). انتظار می‌رود که مهار زنجیره تنفسی باعث کاهش تولید ATP شود. تجمع نانوذرات نقره در میتوکندری با اختلال در زنجیره انتقال الکترونی می‌تواند

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-09-04]
[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

عملکرد طبیعی سلول را تغییر دهد و در نهایت منجر به تولید ROS و کاهش میزان ساخت ATP گردد. فرض بر این است که واکنش بین H_2O_2 و نانوذرات نقره (Ag-NP) یکی از عواملی است که باعث ایجاد Ag^+ در محیط زنده می‌شود (Schreurs & Rosenberg, 1982). سمیت یون‌های نقره در *اشریشیا کلی* و سایر سلول‌های میکروبی به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است و مکانیسم‌های مختلفی برای عملکرد Ag^+ در زنجیره تنفسی پیشنهاد شده‌اند. نشان داده شد که یون‌های نقره با مهار جذب و تعویض فسفات در محیط خارجی با فسفات داخل سلول در *اشریشیا کلی*، باعث خروج فسفات انباشته شده گردید (Schreurs & Rosenberg, 1982). همچنین، اتصال یون نقره به تیول پروتئین‌های موجود در زنجیره تنفسی، با اختلال در عملکرد میتوکندری همراه است. یون‌های نقره احتمالاً با اتصال به پروتئین‌های غشایی میتوکندری باعث نشست پروتون‌ها از طریق غشا و در نهایت فروپاشی نیروی حرکتی پروتون‌ها می‌شوند. کمپلکس یک زنجیره انتقال الکترون در *اشریشیاکلی* حاوی سیستئین با قدرت جذب بالا برای نقره است (Bragg & Rainnie, 1974; Friedrich, 1998). اتصال Ag به این آنزیم‌های زنجیره‌ی تنفسی باکتری باعث ناکارآمدی الکترون‌ها به اکسیژن در اُکسیداز نهایی و تولید مقادیر زیادی ROS خواهد شد (Silver *et al.*, 2006). اندازه‌گیری ایزوفرم نوع دوم ژن SOD نشان داد که سطوح مختلف نانوذرات نقره استفاده شده، اثرات کاهشی بر بیان ژن SOD-2 در سلول‌های سرتولی طیور داشتند (Coccini *et al.*, 2014). همچنین، در یک مطالعه آزمایشگاهی نشان داده شد که بیان ژن SOD-1 در همه‌ی غلظت‌های ۲۵، ۷۵ و ۱۲۵ قسمت در میلیون نانوذرات نقره، در سلول‌های سرتولی طیور کاهش یافت (Hassanpour *et al.*, 2015). در اندازه‌گیری بیان ژن SOD و GPX، هفت روز پس از تزریق نانوذرات نقره مشاهده شد که SOD در هر دو بافت کبد و بیضه موش به‌میزان زیادی بیان شد، اما GPX تنها در بافت بیضه بیان شد و در روز ۲۸ پس از تزریق این دو ژن در هر دو بافت بیان نشدند (Coccini *et al.*, 2014).

آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراُکسیداز هر دو در کاهش پراُکسید هیدروژن نقش دارند. بیشتر بافت‌های حیوانی هم دارای CAT و هم دارای GPX هستند. در میزان زیر حد نرمالِ تولید H_2O_2، به‌طور عمده GPX مسئولیت حذف آن را بر عهده می‌گیرد. در صورتی‌که غلظت H_2O_2 افزایش یابد، کاتالاز برای حذف H_2O_2 مهم‌تر می‌شود. کبد دارای غلظت بالایی از CAT و GPX است. کاتالاز به‌طور عمده در پراکسی‌زوم‌ها قرار دارد و حدود ۱۰ درصد از کل GPX به‌طور عمده در سیتوزول و ماتریکس میتوکندری یافت می‌شود (Lewin *et al.*, 2001). کاهش بیان نسبی ژن CAT ناشی از تیمارهای NS و NSOA در بافت روده، به‌دنبال افزایش بیان ژن GPX را می‌توان این گونه تفسیر کرد که تیمارهای مذکور تا حدی بر افزایش پراُکسید هیدروژن اثر گذاشتند که افزایش بیان نسبی GPX قادر به کاهش اثر H_2O_2 بود و نیازی به افزایش بیان نسبی CAT در سلول دیده نشد.

بافت کبد سرشار از گلوتاتیون است. توانایی و ظرفیت سیستم گلوتاتیون برای تخریب H_2O_2 در کبد و سایر بافت‌ها به فعالیت GPX، میزان $NADPH\text{-}H^+$ ذخیره از مسیر پنتوز فسفات و محتوای GSH بستگی دارد که در زمان یک روز متفاوت است. در کبد سیستم گلوتاتیون ظرفیت زیادی در حذف H_2O_2 دارد. کاتالاز به‌طور فراوان در بافت‌های مختلف وجود دارد و بافت چربی نسبت به بافت کبد و کلیه، کاتالاز بیشتری بیان می‌کند (Ishida *et al.*, 1995).

در آزمایش حاضر، از زئولیت جهت پوشش‌دادن نانوذرات نقره بر آن استفاده شد. با توجه به ویژگی‌های زئولیت یعنی متخلخل بودن و داشتن سطوح کاتیونی قابل تبادل، این احتمال وجود داشت که زئولیت از طریق به‌دام انداختن یا خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد بتواند در کاهش اثرات اُکسیداتیوی، مؤثر واقع شود. اما آزمایش ما نشان داد که زئولیت اثر دوجانبه بر فعالیت و مهار بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اُکسیدانی دارد. علت این عکس‌العمل زئولیت مشخص نیست زیرا هیچ تحقیقی در مورد اثر زئولیت بر بیان ژن‌های اُکسیداتیو مورد انجام نشده است.

نتایج آزمایش ما نشان داد که در روز ۴۲، تیمار نانوذرات نقره (NS) موجب افزایش بیان نسبی ژن SOD و GPX شد و تیمار Z و OA دارای اثر کاهشی بر بیان هر سه ژن مورد مطالعه بود ($P < ۰/۰۵$). این نتایج با مطالعات گذشته همسو هستند (Asgharnezhad *et al.*, 2024؛ Bohlool *et al.*, 2023). اسیدهای اُرگانیک پس از عبور از دیواره سلولی باکتری‌ها، به یون‌های سازنده خود یعنی $RCOO^-$ و H^+ تجزیه می‌شوند (Livak, 1997). یون‌های H^+ سبب کاهش pH درون سلولی می‌شوند که باکتری جهت حفظ pH طبیعی داخل سلول، یون‌های مثبت H را با صرف انرژی به محیط بیرون انتقال می‌دهد. تعدیل pH نیازمند صرف انرژی بالایی است تا جایی‌که سلول توانایی رشد و تقسیمات سلولی را از دست می‌دهد و از بین می‌رود. همچنین، تجمع آنیون‌ها ($RCOO^-$) در درون سلول از طریق نابودی DNA و ممانعت از سنتز پروتئین، مانع از تکثیر باکتری‌ها می‌شوند (Livak, 1997). در این تحقیق، انتظار می‌رفت اسید اُرگانیک با تولید یون هیدروژن (ناشی از تجزیه گروه عاملی COOH) به‌عنوان یک احیا کننده، بتواند از طریق ترکیب با رادیکال‌های آزاد و خنثی‌سازی آن‌ها، اثرات اُکسیداتیوی را تقلیل دهد، که نتایج حاصل از آزمایش حاضر اثرات آنتی‌اُکسیدانی اسید اُرگانیک به‌عنوان یک افزودنی آلی را تأکید و اثبات کرد. اما علت این که ترکیب اسید اُرگانیک با نانوذرات نقره چگونه موجب افزایش بیان برخی از ژن‌های اُکسیداتیو شد، نامشخص است.

از آن‌جا که روده اولین محل جذب مواد خوراکی هضم شده است، ممکن است سلول‌های بافت روده به‌عنوان اولین سد تدافعی در برابر رادیکال‌های آزاد، واکنش بیشتری نسبت به کبد از طریق افزایش بیان ژن‌های اُکسیداتیو در برابر ترکیبات غذایی اُکسیدانی از خود نشان دهد یا ژن‌های بیشتری در سیستم آنتی‌اُکسیدانی دخیل شوند. در آزمایش حاضر نیز تغییرات و افزایش بیان هر سه ژن SOD، GPX و CAT در بافت روده مشاهده شدند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-04]
[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

نتیجه‌گیری کلی

تیمارهای حاوی نانوذرات نقره و زئولیت بیشترین اثرگذاری را در بیان ژن‌های SOD, GPX و CAT از خود نشان دادند، درصورتی‌که تیمار OA موجب کاهش بیان نسبی ژن‌های مذکور گردید. از طرفی با افزایش دوره پرورش، ژن‌های دخیل در تنش اُکسایشی بیشتر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. اثر نانوذرات نقره بر ژن‌های سیستم اکسیداتیو به‌شدت وابسته به شرایط استفاده است. غلظت مناسب این نانوذرات می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی مؤثر در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن عمل کند، اما استفاده نادرست از آن ممکن است اثرات نامطلوبی داشته باشد. برای کاربرد ایمن و مؤثر این ترکیبات، مطالعات بیشتری برای تعیین دوز بهینه و اثرات بلندمدت آن‌ها مورد نیاز هستند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

Adil, S., Banday, T., Bhat, G. A., Mir, M. S., & Rehman, M. (2010). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, (1), 479485. https://doi.org/10.4061/2010/479485.

Asgharnezhad, F., Hashemi, S. R., Hassani, S., & Rostami, S. (2023). Effect of Environmental Heat Stress on Oxidative Stress Genes in Liver and Intestine of Broilers Fed with Silver Nanoparticles Coated on Zeolite and Organic Acids. *Journal of Alternative Veterinary Medicine Atummn*, *6*(18).

AshaRani, P., Low Kah Mun, G., Hande, M. P., & Valiyaveettil, S. (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano*, *3*(2), 279-290. https://doi.org/10.1021/nn800596w.

Azizi-Lalabadi, M., Alizadeh-Sani, M., Khezerlou, A., Mirzanajafi-Zanjani, M., Zolfaghari, H., Bagheri, V., Divband, B., & Ehsani, A. (2019). Nanoparticles and zeolites: Antibacterial effects and their mechanism against pathogens. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *20*(13), 1074-1086. https://doi.org/10.2174/1573397115666190708120040.

Biosystems, A. (1997). Relative quantification of gene expression: ABI PRISM 7700 sequence detection system. *User Bulletin*, (2).

Bohlool, Z., Hashemi, S. R., Sadeghi, A., Heidari, M., Seifdavati, J., & Jafari, S. M. (2024). Loading Levi Lactobacillus brevis into chitosan-coated alginate microcapsules and their effect on the testicular tissue redox system in roosters of hen's broiler breeders. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *7*, 100494. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100494.

Bolandi, N., Hashemi, S. R., Davoodi, D., Dastar, B., Hassani, S., & Ashayerizadeh, A. (2021). Performance, intestinal microbial population, immune and physiological responses of broiler chickens to diet with different levels of silver nanoparticles coated on zeolite. *Italian Journal of Animal Science*, *20*(1), 497-504. https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1892546.

Boonstra, J., & Post, J. A. (2004). Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene*, *337*, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.04.032.

Bragg, P. and D. Rainnie. 1974. The effect of silver ions on the respiratory chain of Escherichia coli. *Canadian Journal of Microbiology*, *20*(6), 883-889. https://doi.org/10.1139/m74-135.

Coccini, T., Gornati, R., Rossi, F., Signoretto, E., Vanetti, I., Bernardini, G., & Manzo, L. (2014). Gene expression changes in rat liver and testes after lung instillation of a low dose of silver nanoparticles. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, *5*(5), 1-12. https://dx.doi.org/10.4172/2157-7439.1000227.

Edition, T. (2010). Base SAS® 9.2 Procedures Guide.

Ferket, P., Van Heugten, E., Van Kempen, T., & Angel, R. (2002). Nutritional strategies to reduce environmental emissions from nonruminants. *Journal of Animal Science*, *80*(E-suppl_2), E168-E182. https://doi.org/10.2527/animalsci2002.80E-Suppl_2E168x.

Friedrich, T. (1998). The NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) from Escherichia coli. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, *1364*(2), 134-146. https://doi.org/10.1016/S0005-2728(98)00024-3.

Hassanpour, H., Mirshokraei, P., Sadrabad, E. K., Dehkordi, A. E., Layeghi, S., Afzali, A., & Mohebbi, A. (2015). In vitro effect of nanosilver on gene expression of superoxide dismutases and nitric oxide synthases in chicken Sertoli cells. *Animal*, *9*(2), 295-300. https://doi.org/10.1017/S1751731114002262.

Ishida, A., Kameshita, I., Okuno, S., Kitani, T., & Fujisawa, H. (1995). A novel highly specific and potent inhibitor of calmodulin-dependent protein kinase II. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *212*(3), 806-812. https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2040.

Khan, S. H., & Iqbal, J. (2016). Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. *Journal of Applied Animal Research*, *44*(1), 359-369. https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1079527.

Kulak, E., Ognik, K., Stępniowska, A., & Sembratowicz, I. (2018). The effect of administration of silver nanoparticles on silver accumulation in tissues and immune and antioxidant status of chickens. 44-54.

Lewin, M., Hume, R., Howie, A., Richard, K., Arthur, J., Nicol, F., Walker, S., & Beckett, G. (2001). Thioredoxin reductase and cytoplasmic glutathione peroxidase activity in human foetal and neonatal

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-09-03]

[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]

liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1526*(3), 237-241. https://doi.org/10.1016/S0304-4165(01)00133-7.

Livak, K. (1997). Relative quantification of gene expression: ABI Prism 7700 sequence detection system. *Applied Biosystems User Bulletin, 2*.

Ricke, S. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science, 82*(4), 632-639. https://doi.org/10.1093/ps/82.4.632.

Schreurs, W., & Rosenberg, H. (1982). Effect of silver ions on transport and retention of phosphate by Escherichia coli. *Journal of Bacteriology, 152*(1), 7-13. https://doi.org/10.1128/jb.152.1.7-13.1982.

Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants, 9*(9), 852. https://doi.org/10.3390/antiox9090852.

Silver, S., Phung, L. T., & Silver, G. (2006). Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 33*(7), 627-634. https://doi.org/10.1007/s10295-006-0139-7.

Smaeili, M., Hashemi, S. R., Davoodi, D., Jafari Ahangari, Y., Hassani, S., Bolandi, N., & Shabani, A. (2016). The effect of silver nanoparticles coated on clinoptilolite on performance, liver enzymes and blood lipid concentrations of broiler chickens. *Journal of Animal Production, 18*(1), 161-171. https://doi.org/10.22059/jap.2016.54849.

Smaili, M., Hashemi, S. R., Davoodi, D., Ahangari, Y. J., Hassani, S., & Shabani, A. (2017). Effect of supplementing diet with zeolite coated with silver nanoparticles on performance, intestinal morphology characteristics and ilium microbial population of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science, 47*(4), 579-588. 10.22059/ijas.2017.130905.653345.

Surai, P.F. (2020). Antioxidants in poultry nutrition and reproduction: An update. *Antioxidants, 25*;9(2), 105. https://doi.org/10.3390/antiox9020105.

Turrens, J.F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of physiology, 552*(2), 335-344. https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2003.00335.x.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39*(1), 44-84. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-03]

[DOI: 10.61882/rap.2024.1388]