

## 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<sup>1</sup>, Seyed Reza Hashemi<sup>2</sup>, Saeed Hassani<sup>3</sup> and Sharif Rostami<sup>4</sup>

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 42<sup>nd</sup> 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 42<sup>nd</sup> 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



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 42<sup>nd</sup> 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



## مقاله پژوهشی

# بررسی اثرات ضد تنش اکسایشی اسید آرگانیک و نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت در کبد و روده جوجه‌های گوشتی

فاطمه اصغر نژاد<sup>۱</sup>، سید رضا هاشمی<sup>۲</sup> ID، سعید حسنی<sup>۳</sup> و شریف رستمی<sup>۴</sup>

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 پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۸  
صفحه ۱۱ تا ۲۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۷

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** تنش اکسایشی یکی از عوامل اصلی محدودکننده رشد است که به دلیل 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، به واسطه خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان یک راهکار نوین در بهبود سلامت و عملکرد حیوانات مطرح شده‌اند. سمیت نانوذرات نسبت به نانو نقره 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 به دلیل 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 داده شده بر زئولیت به دلیل 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 آرگانیک بر بیان ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز 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 نانو نقره، (۴) تیمار شاهد مکمل شده با ۰/۱۵ درصد اسید آرگانیک و (۵) تیمار شاهد مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانو نقره و ۰/۱۵ درصد اسید آرگانیک بودند. برای دوره‌های آغازین (۲۱-۱ روزگی) و رشد (۲۲-۴۲ 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 دوره پرورش، ۳ تکرار بیولوژیکی و ۳ تکرار تکنیکال به‌طور تصادفی انتخاب و نمونه‌برداری از بافت کبد و روده کوچک (دئودنوم) جهت بررسی بیان ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز 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 ( $P < 0/05$ ) 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 نانو نقره موجب افزایش بیان نسبی ژن SOD و GPX شد و تیمار زئولیت و اسید آرگانیک دارای اثر کاهشی بر بیان هر سه ژن مورد مطالعه بود ( $P < 0/05$ ). سطح بیان نسبی ژن SOD در بافت روده نشان داد که کلیه تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ( $P < 0/05$ ). 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 روده اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای NS، OA و Z با تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). تیمار NS بیانی بیشتر و تیمارهای Z و OA 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 اکسیداتیو بود. از طرف دیگر، تیمار اسید آرگانیک موجب کاهش بیان نسبی ژن‌های مذکور گردید که این امر می‌تواند بیانگر اثر ضد تنش اکسایشی اسید آرگانیک باشد. از سوی دیگر، با افزایش دوره پرورش، ژن‌های دخیل در تنش اکسایشی 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 اکسایشی، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز

## مقدمه

اکسایشی یکی از عوامل اصلی محدودکننده رشد است که به‌دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> (ROS) رخ

رشد و عملکرد بهینه در صنعت طیور به‌شدت تحت تأثیر شرایط تغذیه‌ای و محیطی قرار دارد (Surai, 2020). تنش

<sup>1</sup> Reactive Oxygen Species

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 بر این، 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 به عنوان افزودنی‌های خوراکی در تغذیه طیور می‌تواند نیاز به آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش دهد. این اثرات عمدتاً به دلیل 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، به واسطه خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، به عنوان 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 مسدود کردن انتقال الکترون در زنجیره تنفسی مختل کند و در نتیجه تولید ROS را افزایش دهد (AshaRani *et al.*, 2009). از طرفی، نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت به دلیل ترکیب ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوذرات نقره و ساختار متخلخل زئولیت، پتانسیل بالایی در کاربردهای مختلف زیستی و محیطی دارند. این ترکیبات نه تنها 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 به طور قابل توجهی فعالیت ژن‌های مرتبط با سیستم آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار دهد. با این حال، اطلاعات محدودی درباره اثرات ترکیبی این افزودنی‌ها بر پاسخ ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در کبد و روده جوجه‌های گوشتی موجود است. از این رو،

### 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 به مدت 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 مکمل شده با ۱ درصد زئولیت (Z)، ۳) تیمار شاهد مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره (NS)، ۴) تیمار شاهد مکمل شده با ۰/۱۵ درصد اسید آرگانیک (OA) و ۵) تیمار شاهد مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره و ۰/۱۵ درصد اسید آرگانیک (NSOA) بودند. اسید آرگانیک مورد استفاده در این تحقیق با ترکیب اسید فرمیک و اسید پروپیونیک از شرکت بایومین‌های ایتوک فردا<sup>۱</sup> از کشور تهیه شد. از چینه‌های زئولیتی واقع در منطقه استان سمنان، زئولیت (با فرمول شیمیایی زئولیت خالص 3  $Al_6Si_3O_{72} \cdot 24H_2O$  (K<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>, Ca, Mg)) مورد استفاده در این آزمایش به دست آمد. ترکیب شیمیایی زئولیت با استفاده از تکنیک فلورسانس اشعه ایکس (XRF) مورد بررسی قرار گرفت. مراحل تهیه نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت شامل ترکیب زئولیت با آب مقطر و قرارگیری محلول اولیه (pH آن در محدوده ۷-۵) به مدت یک ساعت در دستگاه همزن و سپس افزودن نانونقره آماده با درصد مورد نظر به آن و مخلوط کردن 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 پوشش داده شده بر زئولیت، از دستگاه‌های پراش اشعه ایکس (X-ray diffraction) (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیلی (FESEM, Mira, XMU<sup>۳</sup>-) در مرکز پژوهش متالورژی رازی استفاده شد. همچنین، آنالیز عنصری نمونه‌های سنتز شده برای به دست آوردن اطلاعات ساختاری به وسیله روش SEM-EDX انجام گردید. علاوه بر این، گروه‌های عاملی در زئولیت و زئولیت پوشش داده شده بر نانو نقره با استفاده از فن‌های طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوری (Fourier-

<sup>1</sup> Biomin Etouk Farda

ژن مرجع بتا‌کتین برای نرمال‌سازی نتایج qRT-PCR استفاده شد. طراحی پرایمرهای مورد نیاز جهت بررسی بیان ژن هدف و ژن مرجع، بر اساس اطلاعات موجود در سایت NCBI و با استفاده از نرم‌افزار 7 Oligo 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  $Y=2^{-\Delta\Delta Ct}$  داده‌های حاصل از دستگاه PCR-RT مربوط به هر ژن توسط نرم‌افزار GenEx6.0 محاسبه شد (Biosystems, 1997) و به منظور نرمال‌سازی 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).

(FTIR) (transform infrared spectroscopy) 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 سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز انجام شد (Smaili et al., 2017). قطعه جدا شده به طول ۱ سانتی‌متر پس از انتقال به میکروتیوپ به ازت مایع منتقل شد. با استفاده از کیت استخراج تریزول (TRIzol) ساخته شرکت سیگما آلدریج (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) بر اساس 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

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی (برحسب درصد هوا خشک)<sup>۱</sup>

اجزاء جیره غذایی (Diet component)	شروع (Starter) (1-21)	رشد (Grower) (22-42)	شروع (Starter) (1-21)	رشد (Grower) (22-42)
ذرت (Corn)	51.6	59.96	53.7	57.84
کنجاله سویا (Soybean meal)	39.95	33.25	39.52	33.68
روغن سویا (Soybean oil)	3.69	3.41	3	4.11
نانوتقره پوشش‌دهنده بر زئولیت (% (Nanosilver coated on zeolite))	1	0	0	1
دی‌کلسیم فسفات (Di-calcium phosphate)	1.47	1.09	1.47	1.09
سنگ آهک (Limestone)	1.18	1.29	1.19	1.28
نمک (Salt)	0.43	0.32	0.43	0.32
مکمل ویتامینی <sup>۲</sup> (Vitamin premix)	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی <sup>۳</sup> (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)	0.05	0.13	0.06	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
ترونین (% (Threonine))	0.84	0.74	0.84	0.74

<sup>۱</sup> جیره بر پایه توصیه راهنمای نگهداری سویه کاب ۵۰۰ تهیه شد.

<sup>۲</sup> هر کیلوگرم خوراک حاوی ویتامین A: ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی، کوله‌کلسیفرول: ۲۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۱۰ واحد بین‌المللی، ریبوفلاوین: ۳/۵ میلی‌گرم، پانتوتیک 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.

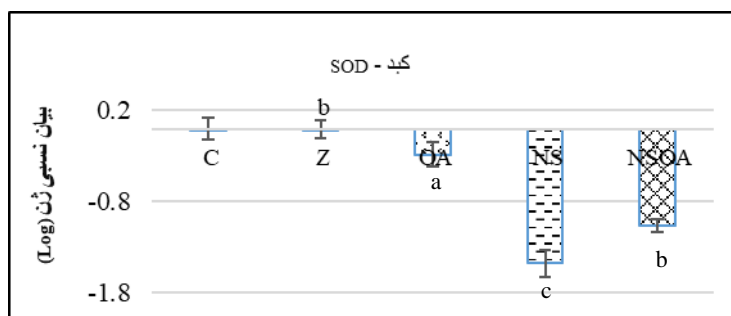
جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده در واکنش RT-PCR

نام پرایمر (Primer's name)	نوع پرایمر (Primer's type)	توالی 5' ..... 3' Sequence (5' ..... 3')	دمای ذوب (°C) (Melting point)	Accession No.
β-actin	Forward	AAGTTACTCGCTCTGTGGA	59	NM_001101
	Reverse	GCTTCTTCCAATCCAAGTCTA		
SOD	Forward	TGGTGTAAATTGGAATAGC	55	NM017050.1
	Reverse	AGTAGTAAATGAGATTAAGTGAT		
GPX	Forward	GTGAGTGTGGGTTTACAGATAGT	60	NM030826.3
	Reverse	CCTTGTGGTGTCTGGTCTTTG		
CAT	Forward	TTACTTCCCTCTCCCTTACCA	60	NM012520.2
	Reverse	GCTTCTTCCAATCCAAGTCTA		

### نتایج و بحث

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 ( $P < 0.05$ ) و کمترین میزان بیان نسبی مربوط به تیمار NSOA بود. اختلافات بین تیمارهای NS و Z با تیمار شاهد معنی‌دار نبودند ( $P > 0.05$ ). در بیان نسبی ژن CAT، تیمارهای NS و NSOA با تیمار شاهد اختلافات معنی‌داری نشان دادند ( $P < 0.05$ ) 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 ( $P > 0.05$ ).

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 به صورت کاهشی بود و بین تیمارهای Z و OA تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). تیمارهای NS و NSOA به ترتیب از کمترین میزان بیان نسبی معنی‌دار نسبت به شاهد برخوردار بودند ( $P < 0.05$ ).



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

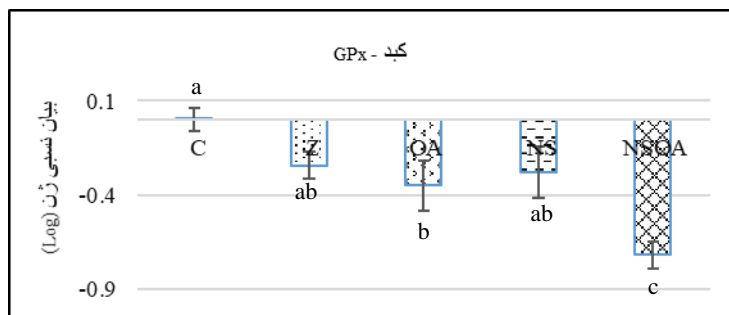
<sup>a,b,c,d</sup> Values with different superscripts for each figure are significantly different ( $P < 0.05$ )

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید آرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

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

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

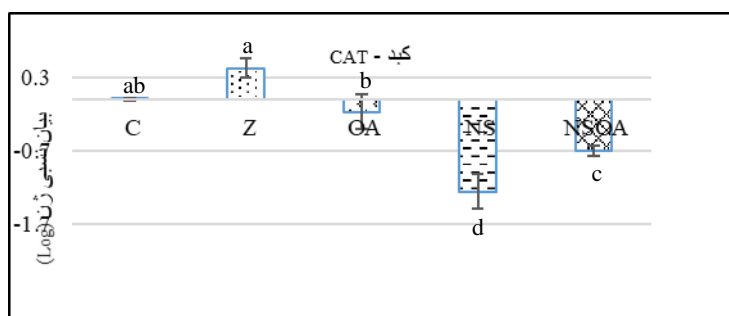
<sup>a,b,c,d</sup> Values with different superscripts for each figure are significantly different ( $P < 0.05$ )

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید آرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش‌داده شده بر زئولیت

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

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

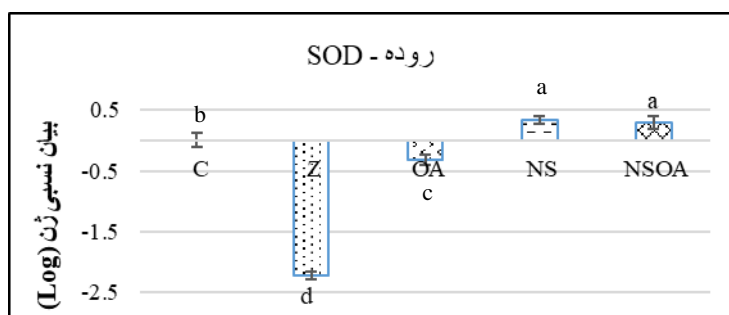
Figure 3. Relative expression of the CAT gene in the liver tissue on day 42 of the experiment  
a,b,c,d Values with different superscripts for each figure are significantly different ( $P < 0.05$ )

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید آرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت مکمل شده با اسید آرگانیک

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

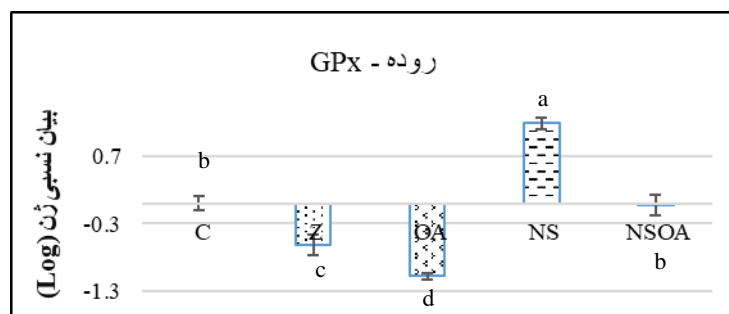
Figure 4. Relative expression of the SOD gene in the intestinal tissue on day 42 of the experiment  
a,b,c,d Values with different superscripts for each figure are significantly different ( $P < 0.05$ )

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید آرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت مکمل شده با اسید آرگانیک

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

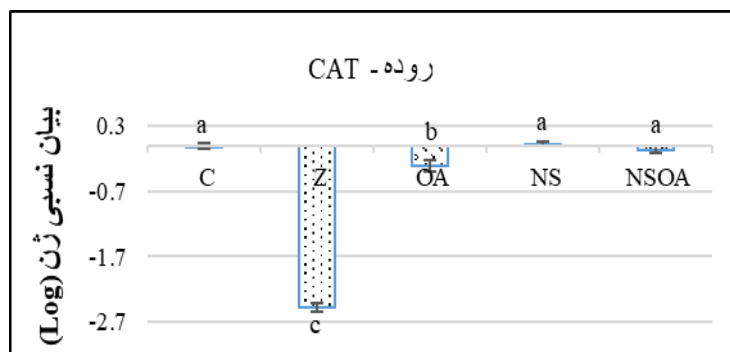
Figure 5. Relative expression of the GPX gene in the intestinal tissue on day 42 of the experiment  
a,b,c,d Values with different superscripts for each figure are significantly different ( $P < 0.05$ )

C: شاهد، Z: زئولیت، OA: اسید آرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت مکمل شده با اسید آرگانیک

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 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: اسید آرگانیک

NS: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت

NSOA: نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت مکمل شده با اسید آرگانیک

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.

گردید، اگرچه تغییرات مصرف خوراک و افزایش وزن بدن از نظر آماری معنادار نبود. علاوه بر این، سطوح آنزیم‌های قلبیایی فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز در سرم پرندگان تحت تیمار با نانوذرات نقره-کلینوپتیلولیت به طور معناداری کاهش یافتند. همچنین، این ترکیب با کاهش غیر معنادار غلظت کلسترول، تری گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم و افزایش لیپوپروتئین با چگالی بالا همراه بود. بر اساس این یافته‌ها، نانوذرات نقره پوشش یافته 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 اکسیداتیو، اکسیژن با دریافت کنترل شده الکترون در زنجیره تنفسی به مولکول آب تبدیل می‌شود. برخی الکترون‌ها از زنجیره انتقال الکترون فرار می‌کنند و توسط مولکول اکسیژن پذیرفته می‌شوند که تشکیل رادیکال آزاد سوپراکسید آنیون را می‌دهند. در اغلب موارد، رادیکال‌های آزاد سوپراکسید آنیون به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شوند که به نوبه خود می‌توانند به طور کامل به آب احیا شوند و یا تا حدودی رادیکال‌های هیدروکسیل تولید کنند (Boonstra & Post, 2004). ترکیبات سمی و زئوبیوتیک‌ها از دو طریق نرخ تولید سوپراکسید آنیون میتوکندریایی را افزایش می‌دهند. برخی از این ترکیبات با مسدود کردن انتقال الکترون در افزایش تنش اکسیداتیو دخیل هستند و دیگر ترکیبات زئوبیوتیک با دریافت یک الکترون از یک حامل تنفسی و انتقال آن به مولکول اکسیژن، و تحریک تشکیل سوپراکسید 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

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 ( $P < 0.05$ ). 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 ( $P < 0.05$ ). 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 ( $P < 0.05$ ). 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 ( $P > 0.05$ ).

به طور 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 ژن‌های مورد آزمایش بودند. اگر به طور اختصاصی‌تر بیان شود، داده‌های این تحقیق در بافت کبد نشان دادند که تیمار حاوی نانوذرات نقره پوشش-داده شده بر زئولیت مکمل شده با اسید آرگانیک در بافت کبد، اثر مستقیم بر تولید یا افزایش پراکسید هیدروژن داشت و سلول با افزایش بیان ژن GPX و به دنبال آن به تعادل رساندن سیستم آنتی‌اکسیدانی، درصدد کاهش اثرات مضر  $H_2O_2$  موجود برآمده است (Valko et al., 2007).

در مطالعه پیشین ما، تأثیر نانوذرات نقره پوشش یافته 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

بافت کبد سرشار از گلوکاتایون است. توانایی و ظرفیت سیستم گلوکاتایون برای تخریب  $H_2O_2$  در کبد و سایر بافت‌ها به فعالیت GPX، میزان  $NADPH-H^+$  ذخیره از مسیر پنتوز فسفات و محتوای GSH بستگی دارد که در زمان یک روز متفاوت است. در کبد سیستم گلوکاتایون 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 اکسیداتیوی، مؤثر واقع شود. اما آزمایش ما نشان داد که زئولیت اثر دوجانبه بر فعالیت و مهار بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارد. علت این عکس‌العمل زئولیت مشخص نیست زیرا هیچ تحقیقی در مورد اثر زئولیت بر بیان ژن‌های اکسیداتیو 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 ( $P < 0.05$ ). این نتایج با مطالعات گذشته همسو هستند (Asgharnezhad et al., 2023; Bohlool et al., 2024). اسیدهای آروگانیک 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 جایی که 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 آروگانیک 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 اکسیداتیوی را تقلیل دهد، که نتایج حاصل از آزمایش حاضر اثرات آنتی‌اکسیدانی اسید آروگانیک به‌عنوان یک افزودنی آلی را تأکید و اثبات کرد. اما علت این که ترکیب اسید آروگانیک با نانوذرات نقره چگونه موجب افزایش بیان برخی از ژن‌های اکسیداتیو 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 اکسیداتیو در برابر ترکیبات غذایی اکسیدانی از خود نشان دهد یا ژن‌های بیشتری در سیستم آنتی‌اکسیدانی دخیل شوند. در آزمایش حاضر نیز تغییرات و افزایش بیان هر سه ژن SOD، GPX و CAT در بافت روده مشاهده شدند.

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 /اشریشیا کلی حاوی سیستمین با قدرت جذب بالا برای نقره است (Bragg & Rainnie, 1974; Friedrich, 1998). اتصال Ag به این آنزیم‌های زنجیره تنفسی باکتری باعث ناکارآمدی الکترون‌ها به اکسیژن در اکسیداز 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 گلوکاتایون پراکسیداز هر دو در کاهش پراکسید هیدروژن نقش دارند. بیشتر بافت‌های حیوانی هم دارای CAT و هم دارای GPX هستند. در میزان زیر حد نرمال تولید  $H_2O_2$ ، به‌طور عمده GPX مسئولیت حذف آن را بر عهده می‌گیرد. در صورتی که 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 این‌گونه تفسیر کرد که تیمارهای مذکور تا حدی بر افزایش پراکسید 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.

### نتیجه‌گیری کلی

تیمارهای حاوی نانوذرات نقره و زئولیت بیشترین اثرگذاری را در بیان ژن‌های SOD, GPX, CAT و از خود نشان دادند، در صورتی که تیمار OA موجب کاهش بیان نسبی ژن‌های مذکور گردید. از طرفی با افزایش دوره پرورش، ژن‌های دخیل در تنش آکسایشی بیشتر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. اثر نانوذرات نقره بر ژن‌های سیستم اکسیداتیو به شدت 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., Bandy, 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 Atummm*, 6(18).
- AshaRani, P., Low Kah Mun, G., Hande, M. P., & Valiyaveetil, 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 *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](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](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., Stepniowska, 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

- liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1526(3), 237-241. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(01\)00133-7](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 ileum microbial population of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 47(4), 579-588. [10.22059/ijas.2017.130905.653345](https://doi.org/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>.