DOI: 10.22055/IVJ.2022.321098.2427
DOR: 20.1001.1.17356873.1402.19.2.13.0

تأثیر سطوح مختلف آرد میوه بلوط بر بیان ژن‌های IL-5 و IL-6 در بافت بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی

نسرین طهماسبی[۱]، مصطفی محقق‌دولت‌آبادی[۲*] و محمدرضا بحرینی‌بهزادی[۲]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
[۲] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۵ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۱۵

چکیده

امروزه اهمیت میوه بلوط به عنوان یک ماده غذایی به عنوان جایگزین ذرت در صنعت طیور شناخته شده است. این میوه حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی مانند تانن است که استفاده از آن را در رژیم‌های غذایی طیور محدود می‌کند. به طور کلی، مواد غذایی حاوی ترکیبات فنلی می‌توانند بر بیان ژن‌ها در سیستم ایمنی بدن تأثیر بگذارند. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف آرد میوه بلوط بر بیان ژن‌های اینترلوکین -۵ و اینترلوکین -۶ در بافت بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی بود. بدین منظور، از سه جیره آزمایشی حاوی صفر، ۱۵ درصد و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط برای تغذیه جوجه‌های گوشتی در یک دوره پرورشی ۴۲ روزه استفاده شد. در پایان دوره، از ۶ قطعه از جوجه‌های مربوط به هر تیمار (تعداد تکرار برای هر تیمار) پس از کشتار نمونه بافت بورس فابریسیوس جدا سازی و RNA کل از هر کدام استخراج گردید. بیان ژن‌ها بررسی و با ژن بتا اکتین نرمال‌سازی شد. داده‌های حاصل از بیان ژن‌های هدف و مرجع با استفاده از نرم‌افزار Rest 2009 V2.0.13 ارزیابی آماری گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد بیان ژن IL-6 در بافت بورس فابریسیوس در بین تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت اگر چه بیان آن در تیمار ۲۰ درصد آرد میوه بلوط روند کاهشی نشان داد، اما در هر دو تیمار ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط نسبت به تیمار شاهد بیان ژن اینترلوکین -IL 5 در بافت بورس فابریسیوس به طور معنی‌داری کاهش یافت. به طور کلی جایگزینی ۱۵ تا ۲۰ درصد ذرت جیره با آرد میوه بلوط به علت افزایش ترکیبات فنولی جیره می‌تواند منجر به کاهش بیان ژن‌های سیستم ایمنی در بافت بورس فابریسیوس در جوجه‌های گوشتی گردد. از این رو، پیشنهاد می‌گردد از سطوح کم‌ترآرد میوه بلوط در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده گردد.

کلمات کلیدی: اینترلوکین، بیان ژن، سیستم ایمنی، جوجه گوشتی، میوه بلوط

مقدمه

امروزه، با توجه به مزیت‌های پرورش طیور گوشتی در کشور، میزان تولید فرآورده‌های این صنعت در سال‌های اخیر به طور قابل توجهی افزایش یافته است. ذرت، یکی از خوراک‌های عمده و اصلی در جیره طیور و دام‌های اهلی محسوب می‌شود که در ایران عمدتاً وارداتی می‌باشد. استفاده از منابع خوراکی غیر مرسوم و غیرقابل مصرف برای انسان و افزایش بازدهی استفاده از آن‌ها نقش مهمی در تأمین مواد خوراکی مورد نیاز دام و طیور دارد. در این

*نویسنده مسئول: مصطفی محقق‌دولت‌آبادی، دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
E-mail: mmuhaghegh@yu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

راستا، میوه بلوط یکی از خوراک‌هایی است که می‌تواند به عنوان جایگزین ذرت در ترکیب جیره غذایی طیور مورد استفاده قرار گیرد (Bouderoua and Selselet, 2003). در ایران نیز موضوع استفاده از بلوط در جیره طیور و بررسی اثرات آن بر صفات تولیدی و عملکرد سیستم ایمنی مورد بررسی قرار گرفته است (Ghorbani and Muhaghegh-Dolatabady, 2017; Moradalipour et al, 2019; Nobakht and Muhaghegh-Dolatabady, 2018). این میوه سرشار از نشاسته بوده و بنابراین می‌تواند به عنوان منبع مهمی از انرژی جیره محسوب شود (Makkar, 2003). همچنین درصد پروتئین خام، چربی و عصاره بدون نیتروژن میوه بلوط به ترتیب ۶/۱، ۶/۸ و ۶۴/۴ درصد است (Saeidi et al, 2017). با وجود ارزش غذایی و مزایای میوه بلوط در تغذیه دام و طیور، این خوراک دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات ضد تغذیه‌ای به نام تانن (۱۱/۷۲–۷/۲۸ درصد) می‌باشد (Marzo et al, 1990). تانن یک اصطلاح کلی برای گروهی از مواد پلی‌فنولی با وزن مولکولی بالا می‌باشد که جزء یکی از گروه‌های مهم متابولیت‌های ثانویه در گیاهان محسوب می‌شود. میوه بلوط به دلیل وجود تانن در ترکیب خود دارای خواص ضدعفونی‌کننده بوده و بنابراین از رشد عوامل بیماری‌زا جلوگیری کرده و اثر ضد خون-ریزی دارد. همچنین، این میوه به خاطر تانن موجود در آن دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشد (Pietta, 2000). مهم‌ترین عواملی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی تانن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، ساختار شیمیایی آن‌ها، توانایی اهداء الکترون یا هیدروژن، تشکیل کمپلکس با فلزات و فعالیت ضدرادیکالی این ترکیبات با تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک و موقعیت قرار گرفتن آن‌ها است. همچنین تانن‌ها ایمنی همورال و پاسخ ایمنی را در جوجه‌های گوشتی افزایش داده و باعث کاهش عفونت بورس فابریسیوس می‌شوند (Lee et al, 2008). بلوط علاوه بر تانن دارای ترکیبات فلاونوئیدی بوده که خاصیت ضدالتهابی دارند. ترکیبات فنولی تنظیم‌کننده فعالیت آنزیم‌های هدف و نیز تنظیم‌کننده بیان ژن هستند و باعث ایجاد تغییر در فعالیت‌های آنزیمی و رونویسی می‌شوند (Kumari and Jain, 2012).

سیتوکین‌ها پروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم بوده که توسط گلبول‌های سفید و یا دیگر سلول‌ها در پاسخ به تعدادی از محرک‌ها ترشح می‌شوند. این پروتئین‌ها باعث گسترش سلول‌های مؤثر ایمنی شده و حتی تعدادی از آن‌ها نیز اعمال خود را به صورت مستقیم انجام می‌دهند. سیتوکین‌ها بسیار متنوع بوده، گروهی از آن‌ها را اینترلوکین می‌نامند (Den Hartog et al, 2011). یکی از انواع آن‌ها اینترلوکین-۵ (IL-5) می‌باشد از لنفوسیت‌های T کمک کننده و ماست‌سل‌ها منشأ می‌گیرد در تولید و تمایز IgA دخالت دارد. اینترلوکین-۶ (IL-6) نیز توسط سلول‌های Tو ماکروفاژها برای تحریک پاسخ ایمنی ترشح می‌شود و به عنوان یک سیتوکین التهابی در غشا بسیاری از رگ‌های خونی توسط سلول‌های عضلانی صاف تولید می‌شود و بر TNF-α، IL-1 و فعال‌سازی IL-10 از طریق مهارکنندگی اثر دارد (Banks et al, 1994). از طرف دیگر، تفاوت در بیان ژن‌ها مسئول ایجاد تفاوت‌های مورفولوژیکی و فنوتیپی و همچنین نشان‌گر پاسخ سلولی به محرک‌های محیطی (مانند ترکیبات مواد غذایی یا تنش گرمایی) در موجودات محسوب می‌شود (Arabiyan et al, 2019; Lee et al, 2008; Sabahi et al, 2020). از این رو، هدف از این پژوهش، بررسی اثر تانن موجود در بلوط بر روی بیان ژن‌های IL-5 و IL-6 در بافت بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی آرد میوه بلوط بود.

مواد و روش کار

در پژوهش حاضر، در مجموع تعداد ۱۳۲ قطعه جوجه یک روزه گوشتی مخلوط دو جنس از سویه تجاری کاب ۵۰۰ در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۳ تیمار به

مدت ۴۲ روز داخل جایگاه بسته (پن[1]) نگهداری شدند. تیمارهای مربوطه در این آزمایش به ترتیب شامل صفر، ۱۵ درصد و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط مخلوط شده با دان بودند که بر اساس توصیه‌های انجمن ملی تحقیقات (NRC, 1994) فرموله شدند (Council, 1994). در پایان دوره پرورشی، تعداد ۱۸ جوجه (۶ جوجه از گروه شاهد، ۶ جوجه از تیمار ۱۵ درصد و ۶ جوجه از تیمار ۲۰ درصد بلوط) از سالن مرغ‌داری دانشگاه یاسوج انتخاب شدند و پس از کشتار، بافت بورس فابریسیوس از هر جوجه توسط تیغ سترون (استریل) شده جدا گردید و به سرعت درون تانک ازت مایع قرار داده شد. سپس استخراج RNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج (ترایزول) و بر پایه دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز و همچنین با روش طیف سنجی (اسپکتوفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر) تعیین شد. نمونه‌های RNA استخراج شده، برای انجام مرحله نسخه‌برداری معکوس و ساخت cDNA توسط کیت مستر میکس لیوفیلیزه بایونیر شرکت تکاپوزیست مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور میزان ۱۰ پیکومول از آغازگرهای تصادفی هگزامر به همراه ۵ میکروگرم RNA استخراج به میکروتیوب‌های حاوی مستر میکس اضافه شد و در نهایت حجم نهایی مواد افزوده شده به تیوب توسط آب عاری از DNase به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. پس از تهیه مخلوط کامل ساخت cDNA در شرایط دمایی ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه و دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. cDNA سنتز شده پس از ساخت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. همچنین کیفیت cDNA سنتز شده با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد.

از آغازگرهای اختصاصی جهت بررسی بیان ژن‌های هدف و مرجع استفاده شد. در روش تعیین کمی بیان نسبی ژن، تصحیح تغییرات آزمایشی ضروری می‌باشد. برای این منظور، از یک ژن کنترل داخلی به نام β-Actin استفاده شد. در این تحقیق، جهت تکثیر ژن‌های IL-5 و β-Actin از آغازگرهای مقالات چاپ شده استفاده شد (Liu et al, 2010; Yang et al, 2013) ولی برای تکثیر ژن IL-6 با استفاده از توالی این ژن در بانک اطلاعاتی، آغازگرهای جدید توسط نرم‌افزار Primer3plus طراحی شدند (Table 1).

Table 1. The sequences, accession numbers and amplified fragment size

Primer	Sequence	Product Size (bp)	Accession No.	Reference
IL-5	F: 5′- GGAACGGCACTGTTGAAAAATAA -3′ R:5′- TTCTCCCTCTCCTGTCAGTTGGTG -3′	111	AF000631.1	Liu et al. 2010
IL-6	F:5′- AATGACATCCAGGGAGAGGTTTC -3′ R:5′- ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG -3′	410	HM179640.1	Designed
β-actin	F:5′- CTGTGCCCATCTATGAAGGCTA-3′ R: 5′-ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG-3′	139	NM_205518	Yang et al. 2013

جهت اندازه‌گیری بیان ژن‌ها از روش تکثیر ژن طی واکنش Real Time PCR در دستگاه Bio Rad مدل CFX 96 و با استفاده از رنگ فلورسنت سایبرگرین بر پایه روش استاندارد نسبی صورت گرفت. برای واکنش Real Time PCR از مستر میکس *HotTaq EvaGreen* qPCR kit شرکت سینا ژن استفاده شد. برای هر نمونه در هر تیوب ۵ میکرولیتر مستر میکس سایبرگرین، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغازگر رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول، ۵۰ نانوگرم cDNA سنتز شده و ۳ میکرولیتر آب عاری از DNase اضافه شد که در کل حجم نهایی هر واکنش به ۱۰ میکرولیتر

[1] Pen

رسید. برای هر نمونه نیز دو تکرار در نظر گرفته شد. برنامه گرمایی استفاده شده در واکنش Real Time PCR برای ژن‌های هدف شامل دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و مرحله اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه بود که دو مرحله آخر به تعداد ۴۰ بار تکرار شد. این برنامه برای β-Actin شامل ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه بود که مراحل ۲ تا ۴ به تعداد ۴۵ بار تکرار شدند. تجزیه و تحلیل منحنی ذوب بلافاصله پس از آخرین مرحله گسترش شروع شد و شامل افزایش دما از ۶۵ درجه سانتی‌گراد به ۹۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش ۰/۵ درجه سانتی‌گراد در هر مرحله بود. در انتهای واکنش RT-PCR نرم‌افزار دستگاه به طور خودکار خط آستانه را رسم و نتایج را به صورت چرخه آستانه (Ct) گزارش می‌کند. در اندازه‌گیری نسبی تغییر در سطوح mRNA یک ژن نسبت به یک ژن مرجع که به عنوان کالیبرکننده اندازه‌گیری می‌شود. در تحقیق حاضر تغییرات نسبی بیان ژن‌های IL-5 و IL-6 نسبت به ژن β-Actin نرمال شد. برای مقایسه بیان ژن‌های هدف از نرم‌افزار REST (REST, http://rest.gene- quantification.info) 2009 استفاده شد.

نتایج

پس از تکثیر موفق قطعه‌های مورد نظر از ژن‌های IL-5 و IL-6 و β-Actin توسط آغازگرها اختصاصی، مشاهده محصولات در ژل آگارز همراه با نشان‌گر، درستی اندازه قطعه‌های مورد نظر را تأیید می‌کند (Figure 1). همان طور که در این شکل مشاهده می‌شود اندازه قطعات تکثیر شده برای ژن‌های IL-5، IL-6 و β-Actin به ترتیب ۱۱۱، ۴۱۰ و ۱۳۹جفت باز است.

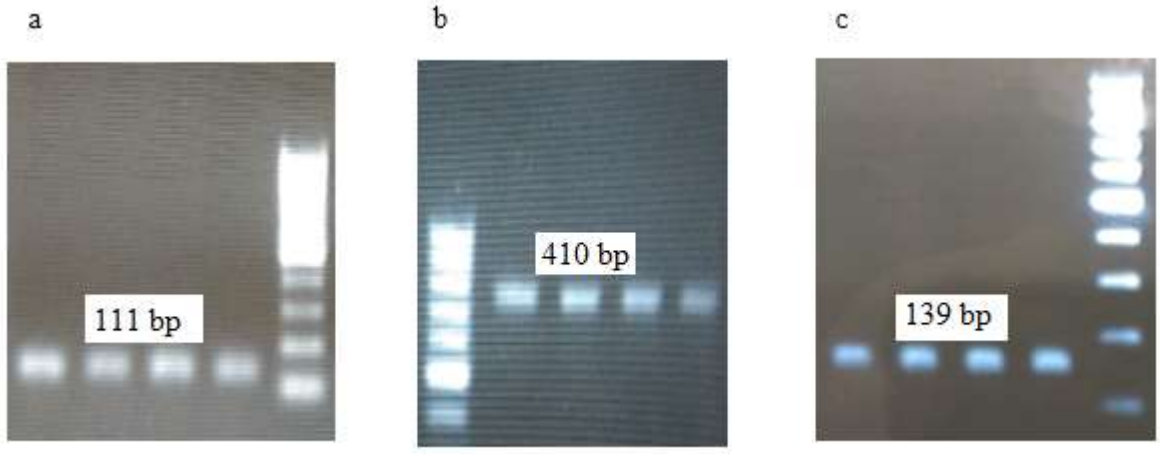

Figure 1. Amplified fragments using specific primers along with 100 bp ladder. a) Amplified fragment of *IL-5* gene; b) Amplified fragment of *IL-6* gene; c) Amplified fragment of β-actin gene

نتایج این مطالعه نشان داد بیان ژن IL-5 در جیره حاوی ۱۵ درصد آرد میوه بلوط کاهش معنی‌داری (p=۰/۰۲) نسبت به گروه کنترل داشت. در این تیمار میزان بیان ژن IL-5 نسبت به تیمار کنترل ۰/۲۴ برابر شده است (Figure 2). در همین تیمار اختلاف معنی‌داری برای بیان ژن IL-6 نسبت به بیان این ژن در گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۱). در تیمار ۲۰ درصد آرد میوه بلوط، بیان ژن IL-5 کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۱) نسبت به جیره شاهد

داشت. در این تیمار میزان بیان ژن IL-5 نسبت به تیمار شاهد ۰/۰۵ برابر شده است به عبارت دیگر میزان ژن IL-5 در گروه شاهد ۲۰ برابر مقدار بیان این ژن در تیمار ۱۵ درصد بلوط بود. بیان ژن IL-6 در تیمار ۲۰ درصد آرد میوه بلوط علی‌رغم روند کاهشی نسبت به تیمار شاهد، اختلاف معنی‌دار نشان نداد (p=۰/۳۹) در این تیمار میزان بیان ژن IL-6 نسبت به بیان این ژن در گروه شاهد ۰/۱۹ برابر شده بود (Figure 2). در این مطالعه، استفاده از آرد میوه بلوط در سطح ۲۰ درصد منجر به کاهش بیان ژن‌های IL-5 و IL-6 شد که این روند کاهشی برای ژن IL-5 معنی‌دار بود.

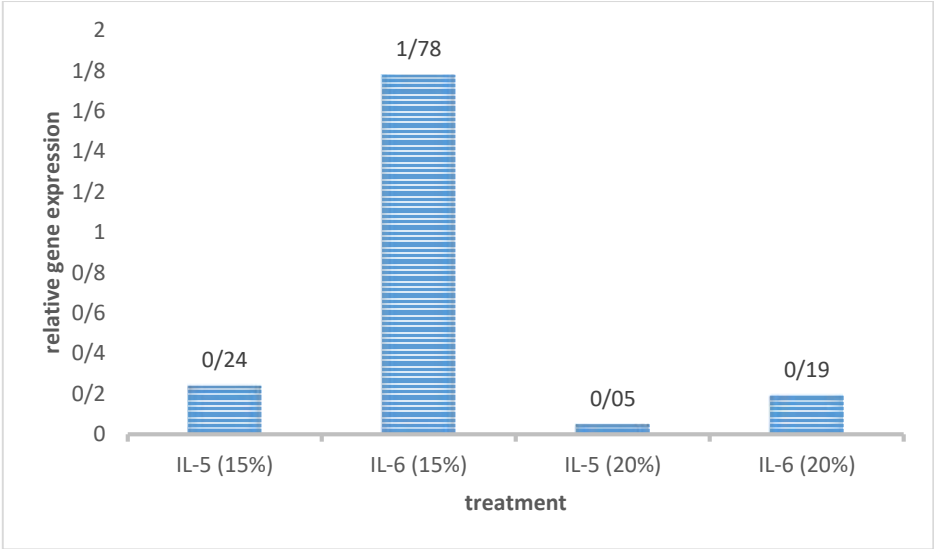

Figure 2. Expression of IL-5 and IL-6 genes in broiler chickens fed diets containing 15% and 20% oak acorn relative to control group on day 42.

بحث

از مهم‌ترین اندام‌های ایمنی در طیور، تیموس، طحال و بورس فابریسیوس را می‌توان نام برد. در طی پاسخ سیستم ایمنی، با درگیر شدن اندام‌های ایمنی ممکن است اندازه بافت مورد نظر را تحت تأثیر قرار دهد. برای مثال، استفاده از تانیک اسید در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش معنی‌دار وزن تیموس، طحال و بورس فابریسیوس شده بود (Marzo et al, 1990). بر اساس نتایج آن تحقیق، اسید تانیک رشد و نمو سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی را مختل کرده که شدت آن به مقدار تانیک اسید جیره بستگی دارد (Marzo et al, 1990).

همچنین استفاده از عصاره پوست انار (حاوی ترکیبات فنولی) در جیره جوجه‌های گوشتی با کاهش معنی‌دار در وزن بورس فابریسیوس به همراه بود (Saleh et al, 2015). علاوه بر این، افزودن پودر زردچوبه که حاوی ترکیبات فنولی می‌باشد منجر به کاهش وزن نسبی بورس در جوجه‌های گوشتی شد (Hosseini-Vashan et al, 2012). کاهش وزن بورس فابریسیوس به نظر می‌رسد با بیان ژن‌های سیستم ایمنی در ارتباط باشد. به طور کلی ترکیبات فنولی به ویژه تانن‌ها، جذب کربوهیدرات و اسیدهای آمینه از روده را کاهش داده (Santidrian and Marzo, 1989)، که با کاهش در دسترسی اسیدهای آمینه در جیره‌های حاوی تانن، سنتز پروتیین در بافت لنفاوی کاهش می‌یابد (Marzo et al, 1990). در جیره حاوی ۲۰ درصد آرد میوه بلوط، به دلیل بالا بودن ترکیبات فنولی آن به ویژه تانن‌ها، می‌تواند کاهش مصرف خوراک را در جوجه‌های گوشتی به همراه داشته باشد (Hamou et al, 2012). از طرف دیگر، یکی از

مهم‌ترین ویژگی‌های ترکیبات فنلی توانایی اتصال آن‌ها به گروه‌های دارای بار مثبت موجود در ساختار پروتئین و اسیدهای آمینه و بنابراین کاهش زیست فراهمی این ترکیبات می‌باشد. از آن جایی که یکی از ترکیبات مهم و مؤثر در جیره پروتئین بوده و سنتز اینترلوکین‌ها نیز نیازمند پروتئین است، به نظر می‌رسد کاهش مصرف خوراک و کاهش زیست فراهمی پروتئین می‌تواند تولید و بیان اینترلوکین‌ها را کاهش دهد که با نتایج به دست آمده مطابقت دارد. تانن‌های شاه بلوط یکی از ترکیبات فیتوبیوتیکی است که به دلیل دارا بودن قابلیت ضد میکروبی و تقویت رشد، به عنوان افزودنی‌های خوراکی، به ویژه در آمریکای جنوبی، در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه‌ای استفاده از تانن شاه بلوط در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های IL-6 و IL-10 در سلول‌های روده را در روزهای ۲ و ۶ دوره پرورش گردید، در حالی که برای سایر سیتوکین-های پیش‌التهابی افزایش معنی‌داری در بیان آن‌ها مشاهده نشد (Lee et al, 2021).

به طور کلی، تأثیر بازدارندگی ترشح و سنتز سیتوکین‌ها توسط ترکیبات فنولی مانند تانن‌ها در تحقیقات متعددی تأیید شده است. برای مثال بیان ژن‌های IL-2 و IL-13 در بافت بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۲۰ درصد آرد میوه بلوط کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد (Nobakht and Muhaghegh Dolatabady, 2019). علاوه بر این، در معرض قرار دادن سلول‌های CD+T طحال مورین با ترکیبات فنولی چای، کاهش بیان ژن‌های IL-2، IL-4 و IL-5 در این سلول‌ها را به همراه داشت (Tomita et al, 2002). در سلول‌های ماکروفاژ تحریک شده با لیپو پلی‌ساکارید، ترکیبات فلاونوئیدی منجر به کاهش سطوح ترشحی IL-6 و TNF-α می‌شود (Mueller et al, 2010). در پژوهشی اثرات عصاره ترکیبی کاکائو، قهوه و چای سبز بر روی پاسخ‌های التهابی در همستر بررسی و کاهش ۲۹/۵ درصدی در بیان ژن IL-6 در گروه‌هایی مشاهده شد که اپی‌گالوکاتچین-گالات (ترکیب فلاونوئیدی) نسبت به گروه شاهد مصرف کرده بودند (Bouderoua and Selselet, 2003). استفاده از عصاره پلی‌فنولی کاکائو باعث کاهش سیتوکین‌های ضد التهابی IL-6 و TNF-α در ماکروفاژها گردید (Dugo et al, 2017)، ولی در پژوهشی دیگر ترکیبات پلی فنولی کاکائو تأثیری بر تولید IL-6 و IL-8 نداشت (Goya et al, 2016).

به طور کلی، فاکتورهای رونویسی مانند NF-kB و AP-1 نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌های درگیر در پاسخ‌های ایمنی به عهده دارند (Fujioka et al, 2004; Mao et al, 2000; Pietta, 2000). از طرف دیگر، ترکیبات فنولی می-توانند فعالیت فاکتورهای رونویسی مانند NF-kB و Nrf-2 را در مسیرهای التهابی و آنتی‌اکسیدانی تنظیم کنند (Maroon et al, 2010). برای مثال اپی‌گالوکاتچین‌گالات موجود در چای سبز با مهار و یا کاهش اتصال NF-κB به DNA منجر به کاهش بیان سیتوکین‌هایی مانند IL-6 در سلول‌های اپی‌تلیال روده‌ای و سلول‌های مغزی انسان می-شود (Lagha and Grenier, 2016). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات فنولی فاکتور رونویسی NF-κB را از طریق کاهش اتصال به DNA مهار کرده و منجر به کاهش رونویسی ژن و سنتز برخی از سیتوکین‌ها و اینترلوکین‌ها می‌شود.

به عنوان جمع‌بندی و خلاصه، در پژوهش حاضر، استفاده از آرد میوه بلوط در دو سطح ۱۵ و ۲۰ درصد جیره جوجه‌های گوشتی بررسی و مشخص شد که استفاده از آرد میوه بلوط در هر دو سطح منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن IL-5 در بافت بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی نسبت به تیمار شاهد شد. در مورد بیان ژن IL-6 در سطح ۲۰ درصد روندی کاهشی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که البته معنی‌دار نبود. به طور کلی ترکیبات فنولی مانند تانن‌ها در بلوط با کاهش مصرف خوراک، کاهش جذب کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آمینه در دستگاه گوارش و ممانعت از اتصال فاکتورهای رونویسی به DNA هنگام

رونویسی منجر به کاهش بیان ژن‌های سیستم ایمنی می‌شوند که میزان تأثیر آن‌ها رابطه مستقیمی با مقدار ترکیبات فنولی جیره دارد. بر اساس نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌گردد جایگزین کردن ذرت با آرد میوه بلوط در جیره جوجه‌های گوشتی باید در سطوحی کم‌تر از ۱۵ درصد جیره اعمال گردد. البته تعیین مقدار دقیق این جایگزینی بدون تأثیر منفی بر عملکرد و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی، نیازمند تحقیقات بیش‌تری است.

تشکر وقدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه یاسوج به خاطر پشتیبانی مالی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این پژوهش در غالب پایان نامه دانشجویی دوره کارشناسی ارشد دانشگاه یاسوج تأمین شده است.

منابع

Arabiyan, E., Hashemi, S.R., Yamchi, A., Davoodi H., & Rostami, S. (2019). Evaluation of NF-kB gene expression in liver tissue of broiler chickens fed with silver nanoparticles as an indicator of inflammation induction in heat stress conditions. *Research on Animal Production*, 10(24), 103-111.

Banks, W. A., Kastin, A. J., & Gutierrez, E. G. (1994). Penetration of interleukin-6 across the murine blood-brain barrier. *Neuroscience letters*, 179(1-2), 53-56.

Bouderoua, K., & Selselet-Attou, G. (2003). Fatty acid composition of abdominal adipose tissue in broilers fed green-oak (*Quercus ilex*), cork oak acorn (*Quercus Suber L.*) based diets. *Animal Research*, 52(4), 377-382.

Council, N. R. (1994). Nutrient Requirement of Poultry. 9th revised editionNational Academic Press. Washington, DC, USA.

Den Hartog, G., Savelkoul, H. F., Schoemaker, R., Tijhaar, E., Westphal, A. H., De Ruiter, T., Van De Weg-schrijver, E., & Van Neerven, R.J. (2011). Modulation of human immune responses by bovine interleukin-10. *PloS one*, 6(3), e18188.

Dugo, L., Belluomo, M. G., Fanali, C., Russo, M., Cacciola, F., Maccarrone, M., & Sardanelli, A. M. (2017). Effect of cocoa polyphenolic extract on macrophage polarization from proinflammatory M1 to anti-inflammatory M2 state. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 6293740.

Fujioka, S., Niu, J., Schmidt, C., Sclabas, G. M., Peng, B., Uwagawa, T., Li, Z., Evans, D.B., Abbruzzese, J.L., & Chiao, P.J. (2004). NF-κB and AP-1 connection: mechanism of NF-κB-dependent regulation of AP-1 activity. *Molecular and Cellular Biology*, 24(17), 7806-7819.

Ghorbani, F., & Muhaghegh-Dolatabady, M. (2017). Expression analysis of trypsin gene in pancreatic tissue of broiler chicken fed diets containing oak acorn. *Iranian Journal of Animal Science*, 48(3), 363-370.

Goya, L., Martín, M. Á., Sarriá, B., Ramos, S., Mateos, R., & Bravo, L. (2016). Effect of cocoa and its flavonoids on biomarkers of inflammation: studies of cell culture, animals and humans. *Nutrients*, 8(4), 212.

Hamou, H., Bouderoua, K., Sisbane, I., & Mourot, J. (2012). Effect of green oak acorn based diet on performance and fatty acid composition of cooked breast meat. *International Journal of Applied Animal Sciences*, 1, 94-101.

Hosseini-Vashan, S., Golian, A., Yaghobfar, A., Zarban, A., Afzali, N., & Esmaeilinasab, P. (2012). Antioxidant status, immune system, blood metabolites and carcass characteristic of broiler chickens fed turmeric rhizome powder under heat stress. *African Journal of Biotechnology*, 11(94), 16118-16125.

Kumari, M., & Jain, S. (2012). Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Sciences ISSN*, 2277, 2502.

Lagha, A. B., & Grenier, D. (2016). Tea polyphenols inhibit the activation of NF-κB and the secretion of cytokines and matrix metalloproteinases by macrophages stimulated with Fusobacterium nucleatum. *Scientific Reports*, 6(1), 1-11.

Lee, A., Dal Pont, G. C., Farnell, M. B., Jarvis, S., Battaglia, M., Arsenault, R. J., & Kogut, M. H. (2021). Supplementing chestnut tannins in the broiler diet mediates a metabolic phenotype of the ceca. *Poultry Science*, 100(1), 47-54.

Lee, Y., Owens, C., & Meullenet, J. (2008). On the quality of commercial boneless skinless broiler breast meat. *Journal of Food Science*, 73(6), S253-S261.

Liu, H., Zhang, M., Han, H., Yuan, J., and Li, Z. (2010). Comparison of the expression of cytokine genes in the bursal tissues of the chickens following challenge with infectious bursal disease viruses of varying virulence. *Virology Journal*, 7(1), 1-9.

Makkar, H. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241-256.

Mao, T. K., Powell, J., Van de Water, J., Keen, C. L., Schmitz, H. H. Hammerstone, J. F., & Gershwin, M. E. (2000). The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1β in peripheral blood mononuclear cells. *Life Sciences*, 66(15), 1377-1386.

Maroon, J. C., Bost, J. W., & Maroon, A. (2010). Natural anti-inflammatory agents for pain relief. *Surgical Neurology International*, 1.

Marzo, F., Tosar, A., & Santidrian, S. (1990). Effect of tannic acid on the immune response of growing chickens. *Journal of Animal Science*, 68(10), 3306-3312.

Moradalipour, A., Muhaghegh-Dolatabady, M., & Houshmand, M. (2019). Effects of Different Levels of oak acorn in the diet on Pancreatic Weight and expression of pancreatic Charboxypeptidase gene in Broiler Chickens. *Animal Sciences Journal*, 31(121), 39-52. (in persia)

Mueller, M., Hobiger, S., & Jungbauer, A. (2010). Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chemistry*, 122(4), 987-996.

Nobakht, E., & Muhaghegh-Dolatabady, M. (2018). Expression analysis of IFN-γ, IL-2 and IL-13 genes in Thymus tissue of broiler chickens fed with different levels of oak acorn. *Genetic Novin*, 2, 197-203. (in persia)

Nobakht, E. & Muhaghegh Dolatabady, M. (2019). Effect of Feeding Oak Acorn on Expression of IL-2, IL-13 and IFN-γ Genes in Bursa Fabricius Tissue of Broiler Chickens. *Poultry Science* Journal, 7(2), 95-100.

Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.

Sabahi, R., & Nazari, M. (2020). The Effect of Vitex Agnuse Castus fruit powder on hypothalamic GnRH gene expression in laying hens. *Research On Animal Production (Scientific and Research)*, 11(30), 92-100. (in persia)

Saeidi, F., Houshmand, M., Parsaei, S., & Zarrin, M. (2017). Potential of oak acorn with and without polyethylene glycol as an alternative to corn in broiler diets. *South African Journal of Animal Science*, 47(6), 895-903.

Saleh, H., Golian, A., Kermanshahi, H., Mirakzehi, M. T., & Agah, M. J. (2015). Effects of natural antioxidant on the immune response, antioxidant enzymes and hematological broilers chickens. *Iranian Veterinary Journal*, 11(3), 67-69. (in persian)

Santidrian, S., & Marzo, F. (1989). Effect of feeding tannic acid and kidney bean (Phaseolus vulgaris) on the intestinal absorption of D-galactose and L-leucine in chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 47(4), 435-442.

Tomita, M.; Irwin, K. I.; Xie, Z. J. and Santoro, T. J. (2002). Tea pigments inhibit the production of type 1 (TH1) and type 2 (TH2) helper T cell cytokines in CD4+ T cells. P*hytotherapy Research*, 16(1), 36-42.

Yang, F., Lei, X., Rodriguez-Palacios, A., Tang, C., & Yue, H. (2013). Selection of reference genes for quantitative real-time PCR analysis in chicken embryo fibroblasts infected with avian leukosis virus subgroup J. *BMC research notes*, 6(1), 1-5.

Received: 26.12.2021
Accepted: 04.04.2022

Vol. 19, No. 2, Summer, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2022.321098.2427
DOR: 20.1001.1.17356873.1402.19.2.13.0

The effect of different levels of oak acorn on expression of IL-5 and IL-6 genes in Bursa Fabricius tissue of broiler chickens

Nasrin Tahmasebi[1], Mustafa Muhaghegh Dolatabady[2*] and Mohammadreza Baherini Behzadi[2]

[1] M.Sc Graduated of Genetics and Animal Breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj, Yasouj, Iran
[2] Associate Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj, Yasouj, Iran

Received: 26.12.2021 Accepted: 04.04.2022

Abstract

Today, oak fruit as a food ingredient is identified as a substitute for corn in the poultry industry. However, this fruit contains significant amounts of phenolic compounds, such as tannins, which limits its use in poultry diets. Generally, food ingredients containing phenolic compounds can affect the expression of genes in the immune system. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of different levels of oak acorn on the expression of interleukin-5 (IL-5) and interleukin-6 (IL-6) genes in the bursa Fabricius tissue of broiler chickens. In this study, three diets containing zero, 15% and 20% oak fruits were used to feed broiler chicks in a 42-day period. Total RNA were extracted from bursa Fabricius tissue of 6 chickens for each treatment (18 broiler chickens) on day 42. The expression levels of IL-5 and IL-6 genes were normalized with β-actin gene as a reference gene. To analyze the gene expression data, REST, 2009, V2.0.13 software was used. The results of this study showed that expression of IL-6 gene in bursa Fabricius was not significantly different between treatments at day 42 although its expression in the treatment of 20% of oak acorn was decreasing. The expression of IL-5 gene in bursa Fabricius was significantly decreased in 15% and 20% oak acorn treatments compared to control group. Generally, replacing 15 to 20% of dietary corn with oak acorn can reduce the expression of immune system genes in the tissue of the Bursa Fabricius in broilers due to increased phenolic compounds in the diet. Therefore, it is recommended that lower levels of oak acorn be used in diet of broiler chickens.

Key Words: Immune system, Interleukin, Gene expression, Oak acorn, Broiler chicken

[*] **Corresponding Author**: Mustafa Muhaghegh Dolatabady**,** Associate Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj, Yasouj, Iran
E-mail: mmuhaghegh@yu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).