تولیدات دامی
دوره ۲۰ ■ شماره ٤ ■ زمستان ۱۳۹۷
صفحه‌های ۵۲۵-۵۱۳

اهمیت اثرات مادری در تنظیم پاسخ شاخص‌های التهابی و الگوی بیان ژن‌های TNF-α و Zo-1 در بافت روده و یا کبد جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸

مهدی وفای واله[1*]، ناهید کریمی زندی[2]، فرزانه بازماندگان شمیلی[2]

۱ .استادیار، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۷/۱۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۹/۱۳

چکیده

در این پژوهش، اثرات تزریق زرده تخم‌مرغ خزک به تخم‌مرغ سویه تجاری راس ۳۰۸ بر برخی شاخص‌های التهابی و ایمنی، و نیز بیان نسبی ژن‌های TNF-α و یا Zo-1 در بافت روده و کبد نتاج بررسی شد. به این منظور تعداد ۲۵۰ تخم‌مرغ بارور سویه راس ۳۰۸ به‌طور تصادفی به دو گروه آزمایشی یکسان شامل گروه آزمون (تزریق زرده خزک) و گروه شاهد (تزریق زرده راس) تخصیص داده شدند. پس از تفریخ، جوجه‌ها در شرایط یکسان استاندارد تحت برخی چالش‌های التهابی در سنین ۲۸-۲۱ روزگی برای مدت شش هفته پرورش یافتند. نمونه‌های خون و یا بافت پرندگان در روزهای ۱۰ و ٤۲ جمع‌آوری و برای پارامترهای موردنظر بررسی شدند. نتایج نشان داد که ترکیبات زرده خزک سبب کاهش بیان سیتوکین التهابی TNF-α در بافت‌های کبد و روده نتاج شد (P<۰/۰۵). در مقایسه با گروه شاهد، تزریق زرده خزک سبب افزایش میزان تیتر آنتی‌بادی طبیعی IGA و تیتر آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه بر ضد گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) و کاهش غلظت سرمی پروتئین CRP و آنزیم کبدی ALT در نتاج شد (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج این پژوهش تزریق زردهٔ تخم‌مرغ‌های بومی خزک به زرده تخم‌مرغ‌های سویهٔ تجاری راس ۳۰۸ می‌تواند به‌طور مؤثری سبب کاهش میزان بیان سیتوکین التهابی TNF-α در بافت‌های کبد و روده نتاج شود.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌بادی‌های طبیعی، التهاب دستگاه گوارش، ایمنی، زرده تخم‌مرغ، مرغ خزک.

* نویسنده مسئول
Email: Mehdi.Valleh@uoz.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

انتخاب برای صفات رشد در طیور سبب افت عملکرد سامانه ایمنی می‌شود؛ به‌طوری‌که نشان داده شده است که سویه‌های با نرخ رشد سریع در زمان مواجهه با چالش‌های محیطی پاسخ ایمنی ضعیف‌تری در مقایسه با نژادهای بومی دارند [۲۲]. افت کارایی عملکرد سامانه ایمنی طیور نه تنها تبعات منفی گسترده‌ای بر بازدهی اقتصادی سامانه‌های پرورشی دارد، بلکه عوارض منفی ناشی از مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها در گله‌های طیور بر سلامت انسان نیز به اثبات رسیده است [۳]. سازوکارهای مؤثر در افت عملکرد ایمنی تا حدود زیادی ناشناخته می‌باشند؛ با این وجود نظریه‌هایی برمبنای سازوکارهای تکاملی پیشنهاد شده‌اند که عمدتاً بر مبنای تئوری توازن (Trade-Off Theory) استوار هستند [۲٤].

پژوهشگران گزارش کرده‌اند که انتخاب برای افزایش میزان نرخ رشد در جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش میزان تولید رادیکال‌های آزاد و نیز تشدید بروز پاسخ‌های التهابی در مقایسه با جوجه‌های با نرخ رشد پایین می‌شود [۵]. در این رابطه نتایج پژوهش‌های اخیر دلالت بر اهمیت سیتوکین‌های التهابی و به‌طور خاص سیتوکین TNF-α در بروز اختلال در عملکرد و نیز یکپارچگی ساختار حفاظتی روده (Intestinal barrier integrity) دارند. افزایش میزان نفوذپذیری سد دفاعی روده نسبت به عوامل بیماری‌زا به‌واسطه تغییر الگوی بیان ژن‌های مؤثر در حفظ ساختار یکپارچه سد دفاعی روده نظیر پروتئین ZO-1 (Zonula occludens) می‌تواند در نهایت منجر به بروز اندوتوکسمی (عفونت‌های عمومی) گردد [۱۷]. اندوتوکسمی ناشی از افزایش میزان نفوذپذیری سد دفاعی روده به‌دلیل تضعیف کارایی سازوکارهای هموستازی در بدن، پیامدهای منفی گسترده‌ای روی عملکرد سامانه ایمنی و نیز کارکرد ارگان‌های داخلی نظیر کبد دارد [۸،٦].

از جمله عوامل مؤثر در بروز پاسخ‌های التهابی در روده پایین بودن غلظت سرمی ایمنوگلوبولین‌ها است. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که تغذیه با ایمنوگلوبولین‌ها [۲۰] و یا تزریق سیاهرگی ایمنوگلوبولین‌ها نقشی مؤثر در کنترل فعالیت سامانه ایمنی، هموستازی دستگاه گوارش و نیز تخفیف شدت میزان بروز پاسخ‌های التهابی دستگاه گوارش دارند [۲۰، ۲۱]. به‌علاوه اهمیت نقش ایمنوگلبولین‌های مادری در کنترل فعالیت سامانه ایمنی و نیز کنترل بروز پاسخ‌های التهابی بافت روده در نتاج به اثبات رسیده است [۱۳]. در این راستا نشان داده شده است که زرده تخم‌مرغ منبع اصلی آنتی‌بادی‌های طبیعی شامل ایمنوگلوبولین‌های (IgM, IgY, IgA) با منشأ مادری می‌باشد. این دسته از ایمنوگلوبولین‌ها، به‌واسطه عدم تکامل دستگاه ایمنی طیور در طی هفته‌های اول پس از تولد، نه تنها نقش تعیین‌کننده‌ای در محافظت پرندگان تازه متولد در برابر بیمارگرها دارند، بلکه نقشی مؤثر در تکوین سامانه ایمنی دستگاه گوارش طیور دارند [۱۱، ۱٦، ۲۱].

لذا با توجه به اهمیت التهاب‌های روده‌ای در بروز اندوتوکسمی و اثرات بعدی آن روی فعالیت سامانه ایمنی، ممکن است بخشی از تفاوت‌های نژادی بواسطه اثر نژاد روی کنترل بروز پاسخ‌های التهابی در دستگاه گوارش باشد. بر این اساس، با توجه اهمیت نقش اثرات مادری و به‌طور خاص ترکیبات زرده تخم مرغ در کنترل عملکرد رشد و ایمنی نتاج در طیور [۱٦، ۲۱]، هدف از این پژوهش ارزیابی نقش اثرات مادری در کنترل بیان نماگرهای التهابی و ایمنی نتاج با تزریق زرده تخم‌مرغ بومی خزک به زرده تخم سویه راس ۳۰۸ بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۵۰ عدد تخم‌مرغ بارور سویه راس ۳۰۸، تهیه شده از گله مادر (شرکت مرغ مادر جنوب خراسان- بیرجند) با

Archive of SID
www.SID.ir

متوسط سن ۳۶-۳۴ هفته، در قالب طرح کاملاً تصادفی به دو گروه آزمایشی کنترل (تزریق زرده سویه راس) و گروه آزمون (تزریق زرده نژاد خزک) اختصاص داده شدند. تخم‌مرغ‌های نژاد خزک از پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل تهیه شدند. به‌منظور تعدیل اثرات برخی از عوامل مؤثر برروی ترکیبات تخم‌مرغ نظیر سن، جیره و نیز سایر عوامل محیطی، از تخم‌مرغ‌های با متوسط سن ۳۸-۳۴ هفته تغذیه شده با جیره استاندارد مرغان تخم گذار پرورش‌یافته در شرایط توصیه‌شده استفاده شد. به‌منظور بررسی تأثیر ترکیبات زرده بر کنترل بروز شاخص‌های التهابی و ایمنی در جوجه‌های سویه راس به‌ترتیب تعداد هفت زرده تخم‌مرغ خزک و نیز هفت زرده تخم‌مرغ راس (برای تعدیل اثرات تنش ناشی از تزریق و نیز تبعات ناشی از تغییرات نسبت زرده به سفیده بر روی فرآیند تکوین جنین‌ها)، با یکدیگر مخلوط و در نهایت مخلوط زرده‌های حاصل برای تسهیل روند تزریق به نسبت سه به یک با آب سترون رقیق‌سازی شدند. برای تزریق ماده آزمایشی (زرده تخم‌مرغ)، قبل از انکوباسیون تخم‌مرغ‌ها، ابتدا دیواره تخم‌مرغ‌ها با الکل اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی و پس از ایجاد سوراخ در دیواره تخم‌مرغ، مقدار ۴۰۰ میکرولیتر از زرده رقیق‌شده خزک یا راس با استفاده از سرنگ های ۱۰ میلی‌لیتر و سر سوزن نمره ۱۸ به کیسه زرده هر یک از تخم‌مرغ‌های گروه آزمون یا کنترل تزریق شد. منفذ ایجاد شده به‌وسیله پارافین مذاب مسدود و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی (دستگاه جوجه‌کشی ۱۶۸ تایی تمام اتوماتیک کرچ نوین- ایران) منتقل شدند.

پس از پایان دوره جوجه‌کشی، جوجه‌های تفریخ‌شده یک‌روزه متعلق به هر گروه آزمایشی به اتاق ایزوله منتقل و تا سن شش هفتگی در شرایط یکسان پرورش یافتند. درجه حرارت سالن نگهداری در روز ورود جوجه‌ها به اتاق در دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم و پس از آن به‌تدریج براساس اصول پیشنهادی پرورشی به‌صورت هفتگی کاهش یافت [۱]. میزان رطوبت سالن در دوره پرورش در دامنه ۳۵ تا ۵۵ درصد نوسان داشت. برنامه نوری برای سه روز اول پس از هچ به‌صورت روشنایی دائم و برای باقی‌مانده دوره پرورش به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی تنظیم و اجرا شد. جیره مورد استفاده شامل خوراک استاندارد آماده (خوراک دام و طیور بنفش تپه- گلستان)، متوازن‌شده برای دوره‌های مختلف سنی شامل پیش آغازین (تا هفت‌روزگی)، آغازین (زمان مصرف جیره آغازین۱ از ۸ تا ۱۵ روزگی و آغازین۲ از ۱۶ تا۲۵ روزگی)، رشد (۳۵-۲۵ روزگی)، و پایانی (۴۲-۳۵ روزگی) بود (جدول ۱). غذا و آب به‌صورت آزادانه در طی دوره در اختیار پرندگان بود. در سن ۲۱ روزگی به‌منظور القای بروز پاسخ‌های التهابی در بافت روده از دز بالای واکسن کوکسیدوز (دو برابر دز استاندارد) به‌صورت محلول در آب آشامیدنی استفاده شد [۴]، برای تشدید و تداوم بروز پاسخ‌های التهابی در بافت روده، سامانه خنک‌کننده و تهویه سالن در طی روزهای ۲۱-۲۸ به‌مدت ۶ ساعت (ساعت‌های ۱۸-۱۲) خاموش و جوجه‌ها در شرایط تنش گرمائی(۳۱±۱°C) نگهداری شدند.

برای بررسی تأثیر عوامل مادری بر سطوح آنتی‌بادی‌های طبیعی در سرم خون نتاج، در روز ۱۰ دوره پرورش تعداد سه جوجه از هر گروه آزمایشی به‌طور تصادفی انتخاب و خون‌گیری از سیاهرگ بال انجام شد. پس از جداسازی سرم، تا زمان تعیین غلظت ایمنوگلوبولین‌ها نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به‌منظور بررسی پاسخ سامانه ایمنی، تغییرات تیتر آنتی‌بادی در پرندگان مورد پژوهش در زمان چالش SRBC بررسی شد.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. انرژی و ترکیب شیمیایی جیره

ترکیب	پیش آغازین	آغازین۱	آغازین۲	رشد	پایانی
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۸۶۰	۲۸۶۵	۲۹۰۰	۲۹۳۵	۲۹۵۰–۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۵	۲۰/۵	۱۹	۱۸	۱۷–۱۷/۵
فیبر خام (حداکثر) (درصد)	۳/۵۵	۳/٤۵	۳/۳۰	۳/۰۸	٤
کلسیم (درصد)	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۱	۰/۹۸	۰/۸۵
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۵	۰/۵	۰/٤۸	۰/٤۷	۰/٤۲
سدیم (درصد)	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱٦	۰/۱٦	۰/۱٦
کلر (درصد)	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰
متیونین (درصد)	۰/۵۹	۰/۵۰	۰/٤٤	۰/٤۰	۰/۳۸
متیونین + سیستین (درصد)	۰/۹۲	۰/۸۸	۰/۸۱	۰/۷۵	۰/٦۷
لیزین (درصد)	۱/۲	۱/۱۵	۱/۰۵	۰/۹۳	۰/۸۷
آرژنین (درصد)	۱/۳۳	۱/۱۵	۱/۰٤	۰/۹۷	۰/۹۳
ترئونین (درصد)	۰/۸۲	۰/۷۱	۰/٦٤	۰/٦۰	۰/۵۷
اسید لینولئیک (درصد)	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۲	۱/۲
ماده خشک (درصد)	۸۸	۸۸	۸۸	۸۸	۸۸

برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی علیه SRBC، در روزهای ۲۸ و ۳۵ دوره پرورش، مقدار ۰/۵ سی‌سی از سوسپانسیون ۱۰ درصد SRBC (گلبول قرمز گوسفندی رقیق‌شده در بافر فسفات سالین استریل) از طریق سیاهرگ بال به پرندگان تزریق، و هفت روز پس از هر تزریق مقدار یک سی‌سی از خون همان پرندگان از طریق ورید بال جمع‌آوری و با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (Eppendorf 5810R, Germany)، نمونه‌ها برای جداسازی سرم در دمای ٤ درجه به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند. در پایان میزان پادتن تولیدشده علیه سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند با استفاده از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر (روش رقیق سازی متوالی) تعیین شد. عیار آنتی‌بادی بر علیه SRBC براساس لگاریتم در مبنای دو، برای بیشترین نرخ رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌دهد، بیان شد.

برای تعیین متابولیت‌های خونی و نیز آنالیز بیان ژن در بافت‌های هدف در پایان دوره آزمایش (٤۲ روزگی) پس از سه ساعت گرسنگی، از هر گروه آزمایشی تعداد سه جوجه به‌طور تصادفی انتخاب و کشتار شدند. نمونه‌های روده و کبد جمع‌آوری و برای جلوگیری از تجزیه RNA به‌سرعت در ازت مایع فریز و تا زمان آنالیز بیان ژن به فریزر با دمای ۸۰- منتقل و نگهداری شدند. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ جدا شد. تمامی نمونه‌ها تا زمان تعیین فراسنجه‌های خونی در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم شامل فعالیت آنزیم‌های کبدی AST (آسپارتات آمینوترانسفراز)، ALT (آلانین آمینوترانسفراز)، ALP (آلکالین فسفاتاز)، آلبومین، پروتئین CRP (C-reactive protein) و ایمنوگلوبولین‌های IGM و IGA به‌روش فتومتری به‌وسیله کیت‌های شرکت پارس آزمون طبق دستورالعمل مربوط به هر کیت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL CE 2020, England) و یا توسط

Archive of SID
www.SID.ir

دستگاه اتوآنالایزر (Biotechnica BT-3000, Italy) اندازه‌گیری شد. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل هتروفیل و لنفوسیت از طریق تهیه گسترش خونی و بعد از رنگ‌آمیزی گیمسا در زیر میکروسکوپ نوری انجام و نسبت هتروفیل به لنفوسیت محاسبه شد.

برای بررسی تأثیر تزریق زرده خزک بر الگوی بیان نسبی ژن‌های ZO-1, TNF-α، ابتدا RNA تام بافت‌های روده (ژژنوم) و کبد نمونه‌های آزمایشی با استفاده از محلول RiboExTM LS (GeneAll Biotechnology Co, LTD, Seoul, Korea) طبق دستورالعمل پیشنهادی استخراج شد. سنتز cDNA از نمونه‌های RNA، با استفاده از کیت HyperscriptTM One-step RT-PCR Mastermix (GeneAll, Seoul, Korea) و پس از افزودن مخلوطی از آغازگرهای Random hexamer و Oligo (dT)، آب دیونیزه و RNA در حجم ۲۵µL و بر اساس الگوی برنامه دمایی پیشنهادی (۵۵ درجه به‌مدت یک ساعت) انجام شد. پس از اتمام زمان انکوباسیون برای از بین بردن ساختارهای ثانویه باقی‌مانده تیوب‌های حاوی cDNA برای مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵ انکوبه و به‌سرعت روی یخ منتقل شدند. جهت ارزیابی بیان ژن‌های هدف از آغازگرهای اختصاصی پس از مقایسه با توالی ثبت‌شده در NCBI، استفاده شد (جدول ۲).

بیان نسبی ژن‌های هدف با استفاده از مسترمیکس آماده 5x Hot FIREPOL Eva Green qPCR Mix بررسی شد. براساس دستورالعمل پیشنهادی، اجزای واکنش شامل پرایمرهای رفت و برگشت، آب دیونیزه، cDNA و مستر میکس به نسبت‌های معین (Master mix: 4µl, cDNA: 1µl, Primer mix: 1µl, ddH_20:14µl)، مخلوط و درنهایت واکنش‌های مربوط به تکثیر نواحی هدف براساس برنامه دمایی بهینه‌سازی‌شده با استفاده از دستگاه Corbett Rotor-Gene 3000 انجام شد (جدول ۳). پس از پایان واکنش‌ها، C_T های خام مربوط به بیان ژن‌های رفرنس و هدف در نمونه‌های گروه‌های آزمون و کنترل ثبت و بیان نسبی ژن‌های هدف نسبت به میانگین ژئومتریک ژن‌های مرجع (β-actin، 18sRNA) به‌روش 2^(-ΔΔCt) محاسبه شد. برای بررسی صحت انجام واکنش‌ها، محصولات واکنش‌های Real-Time PCR برروی ژل آگارز دو درصد رنگ‌آمیزی شده با ژل رد (Gel Red) بارگذاری شد.

درنهایت کلیه داده‌ها (به استثنای اطلاعات مربوط به فاکتور CRP) با استفاده از رویه الگوهای خطی تعمیم‌یافته (GLM) نرم‌افزار آماری JMP برای مدل آماری ۱ تجزیه و میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. حداکثر میزان احتمال خطای نوع اول ۵ درصد درنظر گرفته شد.

رابطه ۱) $Yij=\mu+Ti+eij$

در این رابطه، Y_{ij}، مقدار رکورد اندازه‌گیری‌شده در تکرار jام از تیمار iام، µ میانگین کل؛ T_i، اثر تیمار تزریق زرده و e_{ij}، اثرات تصادفی خطاهای آزمایشی(با توزیع نرمال) هستند. همبستگی بین الگوی بیان ژن‌های مورد بررسی با استفاده از آماره Hoeffding's D بررسی شد.

جدول ۲. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن‌های TNF-α, ZO-1, β-actin , 18S rRNA

ژن	پرایمر(3′→5′)	شماره ثبت بانک ژن	اندازه قطعه (جفت‌باز)
TNF-α	GCCCTTCCTGTAACCAGATG ACACGACAGCCAAGTCAACG	GU230788.1	۷۱
ZO-1	CTTCAGGTGTTTCTCTTCCTCCTC CTGTGGTTTCATGGCTGGATC	XM_413773	۱۳۱
β-actin	AGACATCAGGGTGTGATGGTTGGT TCCCAGTTGGTGACAATACCGTGT	NM_205518.1	۱۲۵
18S rRNA	GACTTGCCTCCAATGGATCCTC TAGATAACCTCGAGCCGATCGCA	AF173612.1	۳۱۲

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۳. شرایط دمایی و زمانی واکنش Real time PCR برای تکثیر ژن‌های 18S rRNA, ZO-1, TNF-α, β-actin

مراحل چرخه	دما (سانتی‌گراد)- ژن	زمان (ثانیه)	تعداد چرخه
واسرشت اولیه	۹۵	۹۰۰	۱
واسرشت ثانویه	۹۵	۲۰	۵۵
اتصال آغازگرها به الگو	β-actin–۵۸°C	۲۵	
	TNFα–۵۸°C	۲۵	
	ZO-1–۶۰°C	۲۵	
	18sRNA-۶۲°C	۲۵	
طویل‌سازی	۷۲	۳۰	
ترسیم منحنی ذوب	افزایش دما از۵۵ درجه تا ۹۹ درجه، هر پنج ثانیه یک درجه		

اطلاعات مربوط به سطح سرمی فاکتور التهابی CRP (متغیر کیفی شامل چهار سطح منفی (N– عدم آگلوتیناسیون)، التهاب خفیف (۱+) التهاب متوسط (۲+) و التهاب شدید (۳+)) با استفاده از رویه رگرسیون لجستیک چندگانه آنالیز شد. نتایج توسط آزمون مربع‌کای مقایسه شدند. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

تزریق زرده خزک اثری بر تیتر IGM سرم نداشت (P>۰/۰۵)، ولی سبب افزایش میزان تیتر IGA سرم شد (P<۰/۰۵؛ جدول ٤).

جدول ٤. تأثیر تزریق زرده بر تیتر آنتی‌بادی در زمان عدم چالش با آنتی‌ژن در سرم خون جوجه‌های گوشتی[1]

تیمار	تیتر آنتی‌بادی (mg/mL)	
	IGM	IGA
کنترل (تزریق زرده راس)	۰/٤۸۹±۰/۲۷٦	۰/٤۲۹±۰/۰۷۵[b]
آزمون (تزریق زرده خزک)	۰/۵۰۲±۰/۲٦۳	۰/٦۷۹±۰/۱۱۱[a]
P-value	۰/۹۵٦	۰/۰۳۲

۱. ارزیابی تیتر آنتی‌بادی‌های طبیعی در سن ۱۰ روزگی انجام شد.

a-b: تفاوت میانگین‌ها (± SEM) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌داراست (P<۰/۰۵).

غلظت سرمی آنتی‌بادی های طبیعی از جمله عوامل مؤثر بر روی سلامت، عملکرد و زنده‌مانی طیور می‌باشد [۲۱، ۲۵]. نژاد بر میزان ذخیره ایمنوگلوبولین‌های تخم‌مرغ و نیز سطح سرمی ایمنوگلوبولین‌های نتاج، مؤثراست [۱۱]؛ به‌طوری‌که پژوهشگران گزارش کرده‌اند که میزان تیتر آنتی‌بادی‌های طبیعی IGM، IGG در سرم جوجه‌های بومی در مقایسه با جوجه‌های آمیخته و یا اصلاح‌نژادشده بالاتر می‌باشد [۲۵]. به‌علاوه همبستگی بین غلظت سرمی ایمنوگلوبولین‌های مادری، ایمنوگلوبولین‌های زرده و سطح سرمی غلظت ایمنوگلوبولین‌های طبیعی سرم نتاج در سنین مختلف گزارش شده است [۱۱]. در این رابطه پژوهشگران گزارش کرده‌اند که نیمه عمر آنتی‌بادی‌های مادری در سرم نتاج تابعی از نوع آنتی‌بادی و نیز نرخ رشد نتاج است، به‌طوری‌که در حیوانات با نرخ رشد آهسته آنتی‌بادی‌های مادری نیمه‌عمر بالاتری دارند [۷، ۱۱]. آنتی‌بادی‌های مادری در طیور که از طریق زرده تخم مرغ به نتاج منتقل می‌شوند با کاهش عفونت‌های دستگاه گوارش و نابودی عوامل بیماری‌زا سبب بهبود نرخ رشد و ضریب تبدیل می‌شوند [۱۵، ۱٦]؛ این آنتی‌بادی‌ها نقشی کلیدی در کاهش میزان بروز پاسخ‌های التهابی، جایگزینی باکترهای دستگاه گوارش، افزایش تعداد انواع خاصی از

Archive of SID
www.SID.ir

سلول‌های لنفوئیدی مؤثر در کنترل بروز پاسخ‌های التهابی (Type 3 innate lymphoid cells (ILC3) در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش و نیز تقویت ساختار یکپارچه دفاعی روده دارند [۱۰، ۱۳].

در بین ایمنوگلوبولین‌های شناسایی‌شده، به‌طور خاص، ایمنوگلوبولین‌های IGA و IGM نقشی کلیدی در کنترل تکوین و تنظیم فعالیت سامانه ایمنی دستگاه گوارش دارند [۲]. ایمنوگلوبولین IgA نقش مهمی در محافظت لایه‌های مخاطی و نیز سلول‌های لایه پوششی موجود در زیر لایه موکوسی در برابر عوامل بیماری‌زا دارد و IGM به‌واسطه قابلیت اتصال با آنتی‌ژن‌های پلی‌والانت نظیر باکتری‌ها و یا ویروس‌ها، شناسایی اپی‌توپ‌های اکسیدشده و هم چنین قابلیت فعال‌سازی سامانه کمپلمان نقشی کلیدی در جلوگیری و نیز سرکوب پاسخ‌های التهابی ایفا می‌کند [۲۰، ۲۱]. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که ایمنوگلوبولین‌های پلی‌کلونال غنی از IgM/IgA نقش مؤثری در حفاظت میزبان در برابر اندوتوکسمی دارند [۱۹، ۲۰].

در این پژوهش، تزریق زرده خزک به تخم‌مرغ سویه راس ۳۰۸ سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن TNF-α در بافت‌های روده و کبد نتاج شد (P<۰/۰۵؛ جدول ۵). همچنین با وجود این‌که تأثیر تزریق زرده خزک بر بیان ZO-1 معنی‌دار نبود، اما میانگین بیان ZO-1 در روده گروه تزریق خزک (گروه آزمون) در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود (P<۰/۱). نتایج آنالیز همبستگی الگوی بیان ژن‌های مورد بررسی دلالت بر وجود همبستگی معنی‌دار بین سطح بیان ژن TNF-α در بافت‌های روده و کبد و نیز همبستگی بین سطح بیان ژن ZO-1 در بافت روده و ژن TNF-α در کبد داشت (P<۰/۰۵)، هرچند ارتباط معنی‌داری بین بیان ZO-1 و TNF-α در بافت روده مشاهده نشد. در این پژوهش منحنی ذوب کلیه ژن‌های مورد بررسی به‌صورت تک‌قله به‌دست آمد که دلالت بر اختصاصی بودن واکنش‌های Real-Time PCR داشت (شکل ۱). به‌علاوه الکتروفورز محصولات Real-Time PCR برروی ژل آگارز صحت اختصاصی بودن واکنش‌ها را تأیید کرد (شکل ۲).

از جمله عوامل مؤثر در بروز التهاب‌های روده‌ای اختلال در عملکرد سامانه ایمنی دستگاه گوارش می‌باشد [۱۳، ۱۸]. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که سیتوکین التهابی TNF-α می‌تواند به‌واسطه القای فاکتورهای التهابی نظیر اینترلوکین۱ (IL-1) و نیتریک اکسید (NO) سبب تخریب ساختار محکم و یکپارچه روده، افزایش میزان نفوذپذیری لایه مخاطی روده و درنهایت بروز اندوتوکسمی شود [۱۷، ۲۰]. به‌علاوه TNF-α نه تنها سبب کاهش بیان کمپلکس پروتئینی مؤثر در حفظ ساختار یکپارچه سد دفاعی روده (PAR3-aPKC-PAR6) می‌شود، بلکه بواسطه ایجاد تغییراتی در ساختار کمپلکس اکتین- میوزین، سرکوب بیان پروتئین مسئول حفظ اتصالات بین‌سلولی(ZO-1) و نیز القای آپوپتوزیس در سلول‌های روده، سبب بروز اختلال در ساختار اتصال‌های محکم اپیتلیوم روده می‌شود [۱۷، ۱۸]. بر اساس نتایج پژوهش‌های انجام‌شده، به‌دلیل ارتباط دوطرفه محور کبد- روده بروز التهاب و اختلال در عملکرد هر یک از ارگان‌های مذکور، متقابلاً سبب بروز پاسخ‌های التهابی، اختلال در عملکرد و نیز تشدید الگوی بیان TNF-α در ارگان دیگر می‌شود [٦، ۲۳].

تزریق زرده خزک سبب افزایش عیار آنتی‌بادی اولیه و ثانویه تولیدشده بر علیه چالش SRBC شد (P<۰/۰۵)، اما تأثیری بر میانگین نسبت هتروفیل به لنفوسیت نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ٦).

هتروفیل‌ها شکل غالب لوکوسیت‌ها در زمان بروز پاسخ‌های التهابی حاد هستند و نسبت هتروفیل به لنفوسیت عمدتاً به‌عنوان شاخصه‌ای برای بررسی وضعیت فیزیولوژیکی حیوان پیشنهاد شده است [۲۱].

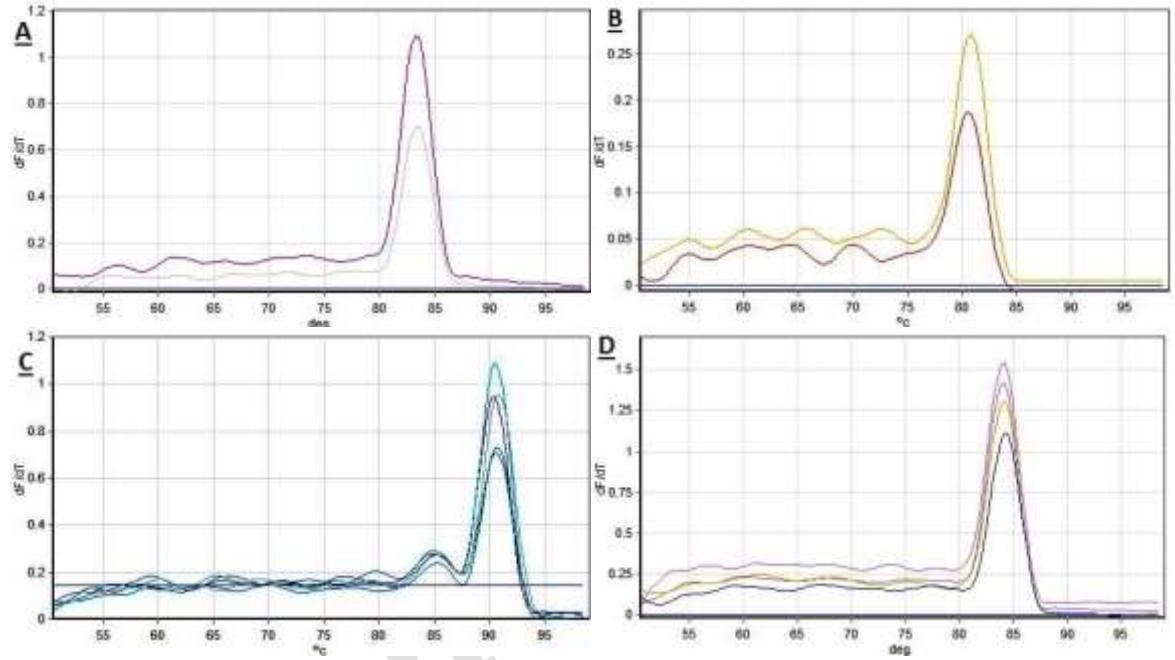
Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۵. تأثیر تزریق زرده بر الگوی بیان نسبی ژن‌های TNF، ZO-1 در بافت‌های کبد و روده جوجه‌های گوشتی[1]

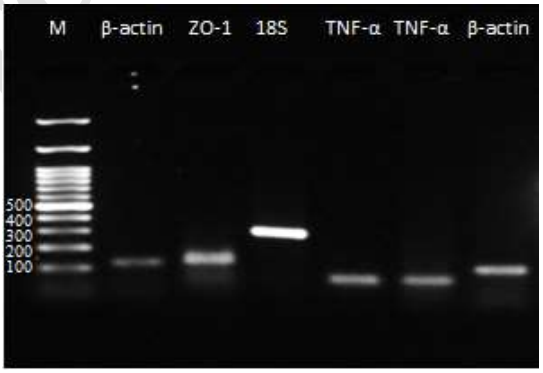
گروه آزمایشی	TNF-α (روده)	ZO-1 (روده)	TNF-α (کبد)
کنترل (تزریق زرده راس)	۰/۰۲۲±۰/۰۰٤[a]	۰/۸٤۳±۰/۲۷۷	۰/۰۰۷±۰/۰۰۱[a]
آزمون (تزریق زرده خزک)	۰/۰۱۳±۰/۰۰۲[b]	۱/۷۵۱±۰/۵۵۳	۰/۰۰۲±۰/۰۰۰۳[b]
P-value	۰/۰۳۲	۰/۰٦٤	۰/۰۰۱

۱. ارزیابی بیان ژن در سن ٤۲ روزگی؛ پس از چالش با دز بالای واکسن خوراکی کوکسیدوز و تنش گرمایی.

a-b: تفاوت میانگین‌ها (± SEM) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<۰/۰۵).



شکل ۱. منحنی ذوب ژن‌های(ZO-1(1-A), TNF-α (1-B), 18sRNA (1-C), β-actin (1-D



شکل ۲. الکتروفورز محصولات تکثیرشده ژن‌های β-actin, ZO-1, TNF-α, 18sRNA بر روی ژل آگارز دو درصد. چاهک شماره ۱ نشانگر (Marker) با اندازه قطعات ۱۰۰ جفت باز را نشان می‌دهد. طول قطعهٔ تکثیری برای محصولات بارگذاری‌شده در چاهک‌های شماره (۲) β-actin، ۱۲۵ جفت باز؛ (۳) ZO-1، ۱۳۱ جفت باز؛ (٤) 18S rRNA، ۳۱۲ جفت باز؛ (۵) TNF-α در بافت روده، ۷۱ جفت باز؛ (٦) TNF-α در بافت کبد، ۷۱ جفت باز؛ (۷) β-actin، ۱۲۵ جفت باز می‌باشد.

www.SID.ir

جدول ٦. تأثیر تزریق زرده بر نسبت هتروفیل به لنفوسیت و پاسخ‌های اولیه و ثانویه سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی در مقابل تزریق SRBC[1] (برحسب Log_2)

گروه آزمایشی	نسبت هتروفیل به لنفوسیت	عیار اولیه پادتن بر ضدگلبول قرمز گوسفند (روز۳۵)	عیار ثانویه پادتن بر ضدگلبول قرمز گوسفند (روز٤٢)
کنترل (تزریق زرده راس)	۰/۵۳٦±۰/۰٦۱	۵/۵٦۷±۱/۵۲۷[a]	۷/۰۰۰±۰/۰۰٤[a]
آزمون (تزریق زرده خزک)	۰/٤۳۰±۰/۰٦۰	۸/۳۳۳±۰/۵۷۷[b]	۹/۳۳٤±۰/۵۷۷[b]
P-value	۰/۰۹۷۲	۰/۰٤۷٤	۰/۰۲٤۹

۱. تزریق SRBC در دو مرحلهٔ ۲۸ و ۳۵ روزگی و خون‌گیری به‌ترتیب در ۳۵ و ٤۲ روزگی انجام شد.
a-b: تفاوت میانگین‌ها (± SEM) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بر این اساس نشان داده شده است که این نسبت به‌شدت تحت تأثیر گلوکوکورتیکوئیدها می‌باشد، و بنابراین، تعداد بالای هتروفیل‌ها در مقایسه به لنفوسیت‌ها به نوعی بیانگر غلظت بالای گلوکوکورتیکوئیدها می‌باشد. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که چالش با اندوتوکسین‌ها سبب فعال شدن محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال و در پی آن افزایش میزان ترشح گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود، هرچند میزان شدت پاسخ تا حدود زیادی تحت کنترل هورمون‌های جنسی است [۲۱]. همچنین پژوهشگران گزارش کردند که مکمل‌سازی جیره با ایمنوگلوبولین‌های استحصال‌شده از زرده تخم‌مرغ، مانع از تکثیر و جایگزینی باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش، کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت، افزایش نسبت طول ویلی به عمق کریپت و نیز بهبود ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی چالش‌یافته با اشرشیاکلی می‌شود [١٦].

آنتی‌بادی‌های مادری نه تنها نقشی تعیین‌کننده در حفاظت نتاج در دوران اولیه زندگی در برابر عوامل بیماری‌زا (پاتوژن‌ها) دارند، بلکه در کنترل روند تکوین و فعالیت سامانه ایمنی نتاج در زمان مواجهه با چالش‌های آتی دخالت دارند [۲۱،۷]. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که سطح آنتی‌بادی‌های طبیعی در لاین‌هایی از طیور که به‌دلیل انتخاب برای تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه پاتوژن‌ها، مقاومت بالاتری در برابر بیماری‌ها دارند، بالاتر می‌باشد [۲۱]. در مقابل نتایج تحقیقات پژوهشگران دلالت بر تأثیر منفی تداوم بروز پاسخ‌های التهابی بر عملکرد سامانه ایمنی به‌واسطه ایجاد اختلال در عملکرد ماکروفاژها، القای آپوپتوزیس و نیز سرکوب قابلیت تکثیر در لنفوسیت‌ها، تغییر موازنه نسبت سلول‌های کمکی TH1/TH2، افزایش میزان بیان سلول‌های Tregs (Regulatory T cells) و القای پدیده خستگی در لنفوسیت‌ها دارند [۸، ۲۰]. همچنین نتایج پژوهش‌های پژوهشگران دلالت بر اهمیت التهاب کبد در بروز اختلال در عملکرد سامانه ایمنی دارد [٦].

در این پژوهش سطح سرمی پروتئین CRP در گروه‌های آزمایشی متفاوت بود (X^2<۰/۰۵)؛ به‌طوری‌که ارزیابی غلظت سرمی پروتئین CRP در سرم حیوانات گروه تزریق خزک دلالت بر عدم شناسایی پروتئین CRP در سرم ۳۳/۳ از افراد مورد بررسی (N) و وجود التهاب خفیف (+۱) در ٦٦/۷ درصد افراد مورد بررسی داشت. در مقابل در گروه شاهد، بیان سطوح متفاوتی از پروتئین CRP در کلیه افراد مورد بررسی مشاهده شد، به‌طوری‌که غلظت سرمی پروتئین CRP در ۳۳/۳ درصد از افراد جامعه بیانگر التهاب شدید (+۳) و در ٦٦/۷ درصد مابقی افراد بیانگر التهاب متوسط (+۲) بود (X^2<۰/۰۵). به‌علاوه تزریق زرده خزک به راس در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش میزان غلظت سرمی آنزیم کبدی ALT (P<۰/۰۵؛ جدول ۷) شد، اما تأثیری بر غلظت سرمی آنزیم‌های کبدی ALP و AST و نیز میزان غلظت سرمی آلبومین نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ۷).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۷. مقایسه فعالیت آنزیم‌های کبدی وپروتئین فاز حاد (آلبومین) در گروه‌های آزمایشی

گروه آزمایشی	آنزیم‌های کبدی (U/L)			پروتئین فاز حاد
	ALT	AST	ALP	آلبومین (g/L)
کنترل (تزریق زرده راس)	[a]۵/۰۷۲±۰/۷٦٤	۱۲۸/۳٦۳±۱۲/۹۱۵	٦۳٦/۵٦۱±۱۲۳/۵۳٤	۱۳/۹۲۵±۱/۸۲۸
آزمون (تزریق زرده خزک)	[b]۳/۳۰۸±۰/٦٦۱	۱۲۳/۹۵۲±۸/۸۱۱	۵۷٦/۸۲٦±٦۲/٤۹٤	۱٦/۲۵۱±۰/۲۵٦
P-value	۰/۰۳۹	۰/٦۵۱	۰/٤۹٦	۰/۰۹٤۵

a-b: تفاوت میانگین‌ها (± SEM) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌تواند انعکاس‌دهنده آسیب‌های کبدی باشد [۹]. پژوهشگران گزارش کرده‌اند، که نشتی روده (Leaky gut) و در پی آن اندوتوکسمی به‌واسطه انتقال پاتوژن‌ها از طریق محور کبد–روده، سبب بروز التهاب و نیز آسیب‌های کبدی می‌شود [۲۳]. اندوتوکسین‌های با منشأ روده‌ای نقش مهمی در بروز آسیب و نیز اختلال در عملکرد فعالیت کبد به‌واسطه القای سیتوکین‌های التهابی نظیر TNF-α دارند. آسیب‌های کبدی عمدتاً با علائمی نظیر کاهش میزان سنتز آلبومین، افزایش سنتز پروتئین واکنش‌گر با ماده سی (CRP) و نیز افزایش میزان غلظت سرمی آنزیم‌های ALT و AST شناسایی می‌شود [۹، ۱٤].

آلبومین و CRP از اعضای خانواده پروتئین‌های فاز حاد هستند که غلظت سرمی آنها در زمان التهابات به‌ترتیب کاهش و افزایش می‌یابد [۱۲]. آلبومین مهم‌ترین پروتئین پلاسمای خون است که غلظت سرمی آن در زمان وقوع التهاب به‌دلایلی از قبیل کاهش میزان سنتز کبدی، افزایش میزان کاتابولیزم، اتلاف از طریق دستگاه گوارش و یا اختلال در بازجذب پروتئین‌ها از طریق کلیه‌ها، کاهش می‌یابد [۱٤]. نشان داده شده است که سیتوکین التهابی IL-1 با تأثیر روی هپاتوسیت‌های کبدی از سنتز آلبومین جلوگیری و سنتز پروتئین‌های فاز حاد شامل CRP را القا می‌کند [۲۰]. سیتوکین التهابی IL-6 نیز از دیگر عوامل اصلی محرک سنتز CRP است [۲۰]. سطح بیان سیتوکین التهابی IL-32 در کبد با سطح سرمی ALT ارتباط مستقیم و با میزان آلبومین سرم ارتبط منفی دارد [۲۰]. سیتوکین التهابی TNF-α از عوامل اصلی تحریک بیان سیتوکین‌های التهابی نظیر IL-6، IL-1 و IL-32 می‌باشد [۲۰].

براساس نتایج این پژوهش تزریق زردۀ تخم‌مرغ‌های بومی خزک به تخم‌مرغ‌های سویۀ تجاری راس سبب بهبود تیتر آنتی‌بادی طبیعی IGA، بهبود پاسخ ایمنی اولیه و ثانویه در زمان چالش با آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفندی و در مقابل کاهش بیان سیتوکین التهابی TNF-α در بافت روده و یا کبد و نیز میزان پروتئین التهابی CRP در سرم خون نتاج در زمان مواجهه با چالش‌های التهابی شد؛ که دلالت بر اهمیت تکاملی عوامل مادری در تنظیم پاسخ شاخص‌های التهابی در نتاج دارد. بر این اساس، با توجه به اثرات بلندمدت عوامل مادری در کاهش میزان بروز پاسخ‌های التهابی ممکن است دست‌کاری محیط تکوین جنین در طیور از طریق انجام انتخاب ژنتیکی برای ترکیبات زرده تخم‌مرغ، در نهایت سبب بهبود عملکرد سامانه ایمنی در گله‌های طیور شود.

سپاسگزاری

این پروژه در قالب طرح پژوهشی با شماره **۲۷-۹٤/٦۹٤/طپ** و با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه زابل انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه زابل به جهت تأمین اعتبار طرح و نیز از همه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

1. Aviagen, Ross broiler management handbook (2014) Aviagen Group Huntsville, AL.
2. Cerutti A, Chen K and Chorny A (2011) Immunoglobulin responses at the mucosal interface. Annual Review of Immunology, 29: 273-93.
3. Chang Q, Wang W, Regev-Yochay G, Lipsitch M and Hanage WP (2015) Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? Evolutionary Applications 8(3): 240-7.
4. Chen J, Tellez G, Richards JD and Escobar J (2015) Identification of Potential Biomarkers for Gut Barrier Failure in Broiler Chickens. Frontiers in Veterinary Science 2: 1-10.
5. Dou T, Zhao S, Rong H, Gu D, Li Q, Huang Y, Xu Z, Chu X, Tao L, Liu L, Ge C, Pas Te and Jia J (2017) Biological mechanisms discriminating growth rate and adult body weight phenotypes in two Chinese indigenous chicken breeds. BMC Genomics 18(1): 469-481.
6. Fukui H (2015) Gut-liver axis in liver cirrhosis: How to manage leaky gut and endotoxemia. World Journal of Hepatology, 7(3): 425-42.
7. Garnier R, Ramos R, Staszewski V, Militao T, Lobato E, Gonzalez-Solis J, Boulinier T (2012) Maternal antibody persistence: a neglected life-history trait with implications from albatross conservation to comparative immunology. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 279(1735): 2033-41.
8. Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, Ang D, Bihorac A and McKinley BA (2012) Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. Journal of Trauma and Acute Care Surgery 72(6): 1491-501.
9. Giannini E.G, Testa R and Savarino V (2005) Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. Canadian Medical Association Journal 172(3): 367-79.
10. Gomez de Aguero M, Ganal-Vonarburg SC, Fuhrer T, Rupp S, Uchimura Y and Li H (2016) The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. Science 351(6279): 1296-302.
11. Hamal K. R, Burgess S, Pevzner I, and Erf G (2006) Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chickens. Poultry science, 85(8):1364-1372.
12. Jain S, Gautam V and Naseem S (2011) Acute-phase proteins: As diagnostic tool. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, 3(1): 118-127.
13. Koch MA, Reiner GL, Lugo KA, Kreuk LS, Stanbery AG, Ansaldo E (2016) Maternal IgG and IgA Antibodies Dampen Mucosal T Helper Cell Responses in Early Life. Cell 165(4): 827-841.
14. Levitt DG and Levitt MD (2016) Human serum albumin homeostasis: a new look at the roles of synthesis, catabolism, renal and gastrointestinal excretion, and the clinical value of serum albumin measurements. International Journal of General Medicine 9: 229-55.
15. Li X, Wang L, Zhen Y, Li S and Xu Y (2015) Chicken egg yolk antibodies (IgY) as non-antibiotic production enhancers for use in swine production: a review. Journal of Animal Science and Biotechnology 6(1): 40-50.
16. Mahdavi AH, Rahmani HR, Nili N, Samie AH, Soleimanian-Zad S and Jahanian R (2010) Effects of dietary egg yolk antibody powder on growth performance, intestinal Escherichia coli colonization, and immunocompetence of challenged broiler chicks. Poultry Science 89(3): 484-94.
17. Mashukova A, Wald FA and Salas PJ (2011) Tumor necrosis factor alpha and inflammation disrupt the polarity complex in intestinal epithelial cells by a posttranslational mechanism. Molecular and Cellular Biology 31(4): 756-65.
18. Mehta M, Ahmed S and Dryden G (2017) Immunopathophysiology of inflammatory bowel disease: how genetics link barrier dysfunction and innate immunity to inflammation. Innate Immunity 23(6): 497-505.
19. Oesser S, Schulze C and Seifert J (1999) Protective capacity of a IgM/IgA-enriched polyclonal immunoglobulin-G preparation in endotoxemia. Research in Experimental Medicine 198(6): 325-39.
20. Parnham MJ, (2016) Compendium of Inflammatory Diseases (First Edition). Basel, Switzerland: Springer.
21. Schat KA, Kaspers B and Kaiser P (2014) Avian Immunology (Second Edition) Boston, Academic Press. Elsevier
22. Tirawattanawanich C, Chantakru S, Nimitsantiwong W and Tongyai S (2011)

Archive of SID
www.SID.ir

The effects of tropical environmental conditions on the stress and immune responses of commercial broilers, Thai indigenous chickens, and crossbred chickens. The Journal of Applied Poultry Research 20(4): 409-420.

23. Tripathi A, Debelius J, Brenner DA, Karin M, Loomba R and Schnabl B (2018) The gut–liver axis and the intersection with the microbiome. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 15(7): 397-411.

24. Van der Most, P. J., de Jong, B., Parmentier, H. K. & Verhulst, S. 2011. Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments. Functional Ecology 25: 74-80.

25. Wondmeneh E, Van Arendonk JA, Van der Waaij EH, Ducro BJ and Parmentier HK (2015) High natural antibody titers of indigenous chickens are related with increased hazard in confinement. Poultry Science. 94(7): 1493-8.

Archive of SID

www.SID.ir

Animal Production
(*College of Abouraihan – University of Tehran*)

Vol. 20 ■ No. 4 ■ Winter 2019

Importance of maternal effects in the regulation of response of inflammatory markers and expression pattern of TNF-α and Zo-1 genes in intestine and/or liver of Ross 308 broiler chickens

Mehdi Vafaye Valleh[1*], Nahid Karimi Zandi[2], Farzaneh Bazmandegan Shomeyli[2]

1. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Former M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

Received: October 2, 2018 Accepted: December 4, 2018

Abstract

In this study, effects of the in ovo injection of Khazak egg yolk into the yolk of the Ross 308 eggs on some of offspring's inflammatory and immune indices as well as on the relative expression of intestinal and hepatic TNF-α and/or Zo-1 genes, were investigated. For this purpose, 250 fertile Ross 308 eggs were randomly assigned into two equal experimental groups including test (In ovo injection of Khazak yolk) and control (In ovo injection of Ross yolk) group. After hatching, chickens were reared for six weeks under the same standard environmental conditions with exposure to some certain inflammatory stimuli between 21-28 days of age. Chicken's blood and/or tissues samples were collected on days 10 and 42, and the samples were analyzed for the target traits. Results showed that Khazak yolk component caused a reduction in the levels of pro-inflammatory TNF-α cytokine in both offspring's liver and intestinal tissue ($P<0.05$). Compared to the control group, khazak yolk injection was found to enhance the titer of IgA natural antibody as well as primary and secondary antibody titer response against sheep red blood cells (SRBC) and reduces both serum levels of offspring's CRP protein and liver ALT enzyme ($P<0.05$). According to the results of the present study, injection of Khazak native hen egg-yolk into the yolk of eggs from Ross 308 commercial broiler breeder can effectively suppress the expression of TNF-α inflammatory cytokine in the offspring's liver and intestinal tissue.

Keywords: Egg yolk, Immunity, Intestinal inflammation, Khazak chicken, Natural antibody.

Corresponding author: Mehdi.Valleh@uoz.ac.ir

www.SID.ir