ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷
صفحه ۲۰۳ - ۱۹۷

بررسی بیان ژن‌های اینترفرون‌گاما، اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ در بافت تیموس جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف میوه‌ی بلوط

Expression analysis of IFN-γ, IL-2 and IL-13 genes in Thymus tissue of broiler chickens fed with different levels of oak acorn

انسیه نوبخت*[۱]، مصطفی محقق دولت‌آبادی[۱]

۱- به‌ترتیب کارشناس ارشد، دانشیار، ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ایران

Nobakht E*[1], Muhaghegh Dolatabadi M[1]

1- MSc Student, Associated Professor Animal Genetics and Breeding, Animal Science Department, Agriculture Faculty, Yasouj University, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: nc.nobakht0043@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱۵)

چکیده

امروزه استفاده از خوراک‌های بومی مانند میوه‌ی بلوط در جیره‌ی غذایی جوجه‌های گوشتی به‌منظور جایگزینی با ذرت، مورد توجه پرورش‌دهندگان این صنعت قرار گرفته است. آرد میوه‌ی بلوط حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی نظیر تانن‌ها می‌باشد. مصرف مواد غذایی حاوی ترکیبات فنولی می‌تواند میزان بیان ژن‌های سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی اثر سطوح مختلف آرد میوه‌ی بلوط روی بیان ژن‌های اینترفرون‌گاما (IFN-γ)، اینترلوکین-۲ (IL-2) و اینترلوکین-۱۳ (IL-13) در بافت تیموس جوجه‌های گوشتی بود. در این آزمایش، از سه جیره (فاقد بلوط، جیره حاوی ۱۵ درصد و جیره حاوی ۲۰ درصد بلوط) برای تغذیه جوجه‌های گوشتی در طول دوره‌ی ٤٢ روزه استفاده شد. در سن ٤٢ روزگی پرورش، RNA کل از بافت تیموس ۱۸ جوجه‌ی گوشتی (٦ جوجه برای هر تیمار) استخراج و بیان ژن‌های IL-2، IL-13 و IFN-γ بررسی و با ژن مرجع بتا اکتین مقایسه شد. برای آنالیز داده‌های بیان ژن از نرم‌افزار REST, 2009, V2.0.13 استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان بیان ژن‌های IL-2 و IL-13 در تیمار ۱۵ درصد میوه‌ی بلوط نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). در تیمار ۲۰ درصد میوه‌ی بلوط، هیچ تغییر معنی‌داری در میزان mRNA ژن‌های IL-2 و IL-13 یافت نشد، در حالی‌که بیان این دو ژن در مقایسه با تیمار ۱۵ درصد میوه‌ی بلوط به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود ($P<۰/۰۵$). با توجه به نتایج این پژوهش به‌نظر می‌رسد که با مصرف میوه‌ی بلوط در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی در سطوح پایین‌تر، افزایش توان سیستم ایمنی در بافت تیموس قابل مشاهده است، اما افزایش مقدار میوه‌ی بلوط می‌تواند منجر به سرکوب بیان ژن‌های IL-2 و IL-13 در بافت تیموس جوجه‌های گوشتی شود.

واژه‌های کلیدی

اینترفرون‌گاما
اینترلوکین‌ها
بیان ژن
جوجه گوشتی
سیستم ایمنی

مقدمه

درخت بلوط یکی از گیاهان بومی مناطق گرمسیری و خشک ایران است که مقدار زیادی میوه تولید می‌کند. کربوهیدرات‌ها به ویژه نشاسته بخش اعظم میوه‌ی بلوط را تشکیل می‌دهند و این خوراک پتانسیل استفاده به‌عنوان منبع انرژی در جیره طیور را دارد. میوه‌ی بلوط علاوه بر ترکیبات تغذیه‌ای مقادیر قابل توجهی ترکیبات فعال بیولوژیکی دارد که از آن جمله می‌توان به تانن، اسید گالیک[1]، اسید الاجیک[2] و مشتقات گالویل[3] یا هگزا هیدروکسی دی فنوئیل[4] اشاره کرد که تمامی این ترکیبات خواص آنتی‌اکسیدانی دارند (Rakic et al. 2007). میوه‌ی بلوط یکی از غنی‌ترین گیاهان از نظر میزان ترکیبات فنولی و تانن بوده و به خاطر ترکیبات فلاونوئیدی[5] خاصیت ضد التهابی دارد. تانن‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدرادیکالی داشته و می‌توان از آن‌ها به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی استفاده کرد. فلاونوئیدها نیز مجموعه‌ی قابل توجهی از اقدامات بیوشیمیایی و دارویی را نشان‌می‌دهند که بر عملکرد سلول‌های سیستم ایمنی و التهابی نظیر سلول‌های T، سلول‌های B، ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها، ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها تاثیر می‌گذارند (Garcia-Lafuente et al. 2009). گزارش شده که ترکیبات فنولی موجود در علف چای توانایی تحریک سیستم ایمنی همورال، سلولی و سلول‌های فاگوسیت کننده‌ی تک هسته را دارند (Evstifeeva et al. 1996). هم‌چنین گزارش شده که تانن‌ها ایمنی همورال و پاسخ ایمنی را در جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهند و باعث کاهش عفونت بورس فابریسیوس و طحال می‌شوند (Lee et al. 2008). از طرفی مشاهده شده که تغذیه جوجه‌ها با درصد بالای اسید تانیک باعث کاهش نرخ رشد و وزن نسبی بورس فابریسیوس، تیموس و طحال می‌شود و این نشان می‌دهد که ترکیبات پلی‌فنولی باعث اختلال در رشد می‌شوند (Marzo et al. 1990). ترکیبات فنولی به دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل متعدد در ساختار می‌توانند سیستم ایمنی بدن را تحریک یا سرکوب کنند. این گروه‌ها می‌توانند بر سیستم آنزیمی انتقال الکترون تاثیر بگذارند و منجر به تعدیل پاسخ‌های ایمنی خاص شوند (Park et al. 2011).

سلول‌های سیستم ایمنی تعداد بسیار متنوعی از سیتوکین‌ها[6] را ترشح می‌کنند که در تنظیم پاسخ‌های ایمنی شرکت دارند. سیتوکین‌ها، گلیکوپروتئین‌هایی هستند که از سلول‌های ایمنی ترشح شده و عملکردهای مهم سلولی مانند بقا، تکثیر و تمایز را تنظیم می‌کنند. بیان متفاوت سیتوکین‌ها در بدن مشخص‌کننده‌ی نوع پاسخ ایمنی از نوع Th1[7] یا Th2[8] است که خود این پاسخ متفاوت نقش مهمی در بیماری‌زایی دارد. از مهم‌ترین سیتوکین‌های سلول‌های Th1 می‌توان به IFN-γ[9] و IL-2[10] اشاره کرد؛ درحالی‌که IL-4، IL-5، IL-10 و IL-13 جزء سیتوکین‌های Th2 هستند.

در حال حاضر رابطه‌ی بین اجزای رژیم غذایی و عملکرد سیستم ایمنی روشن است (Ramiro et al. 2005). تمرکز اصلی پژوهش حاضر، امکان تغییر سیستم ایمنی جوجه‌های سالم جهت بهبود سلامت از طریق تغذیه می‌باشد. به‌عنوان مثال، برخی از دانشمندان گزارش کرده‌اند که خوراک‌های حاوی مواد مغذی خاص، به‌ویژه آن‌هایی که خواص آنتی‌اکسیدانی دارند، ممکن است باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن شوند (Kelly and Bendich 1996; Meydani et al. 1998). با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی تانن‌ها می‌توان انتظار داشت که میوه‌ی بلوط بتواند سیستم ایمنی جوجه‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف آرد میوه‌ی بلوط روی بیان ژن‌های اینترلوکین-۲، اینترلوکین-۱۳ و اینترفرون‌گاما در بافت تیموس جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از تعداد ۲٦٤ قطعه جوجه‌ی یک روزه‌ی نر و ماده سویه‌ی کاب ۵۰۰ در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تیمار و چهار تکرار استفاده شد. تیمار اول، با جیره‌ی بر پایه‌ی ذرت

[1] Gallic acid
[2] Ellagic acid
[3] Galloyl
[4] Hexahydroxydiphenoyl
[5] Flavonoids
[6] Cytokine
[7] T helper 1
[8] T helper 2
[9] Interferon gamma (IFN-γ)
[10] Interleukin-2 (IL-2)

کنجاله‌ی سویا (بدون استفاده از آرد میوه‌ی بلوط) به‌عنوان جیره‌ی شاهد، و تیمارهای دوم و سوم به‌ترتیب با جیره‌های حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه‌ی بلوط تغذیه شدند. جیره‌ها بر اساس مقادیر توصیه شده‌ی مواد مغذی برای جوجه‌های گوشتی NRC (1994) برای دو دوره‌ی آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی) و پایانی (۲۲ تا ٤۲ روزگی) با نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند.

در سن ٤۲ روزگی پرورش، ۱۸ جوجه‌ی گوشتی (٦ جوجه از تیمار فاقد بلوط، ٦ جوجه از تیمار ۱۵ درصد بلوط و ٦ جوجه از تیمار ۲۰ درصد بلوط) به صورت تصادفی انتخاب و بافت تیموس آن‌ها جدا شد. برای استخراج RNA قطعات کوچکی از بافت تیموس هر جوجه توسط تیغ استریل جدا و سریعا داخل تانک ازت (دمای ۱۹٦- درجه‌ی سانتی‌گراد) تا شروع آزمایش ذخیره شد. استخراج RNA کل از ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تیموس و طبق دستورالعمل کیت استخراج (شرکت سیناژن) صورت گرفت. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز ژل آگارز و دستگاه اسپکتروفوتومتر ارزیابی شد. برای سنتز cDNA از مسترمیکس لیوفیلیزه بایونیر (شرکت تکاپوزیست) استفاده شد. بدین منظور مقدار ۱۰ پیکومول از آغازگر تصادفی هگزامر به‌همراه ٦ میکرولیتر RNA استخراج شده به میکروتیوب‌های حاوی مسترمیکس اضافه شده و نهایتا حجم نهایی مواد افزوده شده به میکروتیوب با آب RNase Free به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. پس از تهیه‌ی مخلوط کامل، سنتز cDNA تحت شرایط دمایی ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ٦۰ دقیقه و دمای ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه صورت گرفت و برای ادامه‌ی پژوهش، cDNA سنتز شده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد. کیفیت cDNA سنتز شده با استفاده از ژل آگارز یک درصد ارزیابی شد.

برای بررسی بیان ژن‌های هدف و ژن مرجع از آغازگرهای اختصاصی استفاده شد که ویژگی‌های آن‌ها در جدول ۱ آمده است. در روش تعیین کمی بیان ژن، تصحیح تغییرات آزمایشی ضروری است. برای این منظور، از یک ژن کنترل داخلی، *β-Actin*، استفاده شد. برای واکنش Real Time PCR از مسترمیکس Q-RT-PCR (شرکت سیناژن) استفاده شد. برای هر نمونه در هر تیوب ۵ میکرولیتر مسترمیکس سایبرگرین، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر رفت با غلظت ۱۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول، ۱ میکرولیتر cDNA سنتز شده و ۳ میکرولیتر آب DNase Free اضافه شد که در کل حجم نهایی هر تیوب به ۱۰ میکرولیتر رسید. هر نمونه نیز در دو تکرار اجرا شد. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده در واکنش Real Time PCR برای ژن‌های هدف شامل ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ٦۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه بود، که دو مرحله‌ی آخر ٤۰ بار تکرار شدند.

جدول ۱- توالی، شماره دسترسی و جایگاه آغازگرها

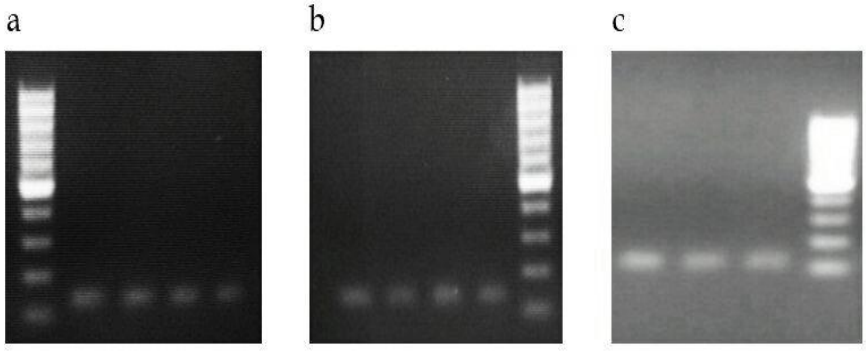
Primer	Sequence	SIZE bp	GeneBankID	Reference
INF-γ	F:5′- AAGTCAAAGCCGCACATCAAAC-3′ R: 5′- CTGGATTCTCAAGTCGTTCATCG-3′	132	X99774.1	Haiwen et al. 2010
IL-2	F: 5′-TTCTGGGACCACTGTATGCTCTT-3′ R:5′-TACCGACAAAGTGAGAATCAATCAG-3′	129	AF000631.1	Haiwen et al. 2010
IL-13	F:5′- CTGCCCTTGCTCTCCTCTGT-3′ R:5′- CCTGCACTCCTCTGTTGAGCTT-3′	123	AJ621250.1	Haiwen et al. 2010
β-actin	F:5′- CTGTGCCCATCTATGAAGGCTA-3′ R: 5′-ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG-3′	139	NM_205518	Yang et al. 2013

جدول ۲- میزان بیان ژن‌های *IL-2* و *IL-13* در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمار ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه‌ی بلوط

Gene	Treatment	Expression rates	P value	Results
Interleukine-2	15% oak acorn	28.286*	0.011	UP
	20% oak acorn	0.848	0.915	-
Interleukine-13	15% oak acorn	17.852*	0.023	UP
	20% oak acorn	1.556	0.595	-

جدول۳- میزان بیان ژن‌های *IL-2* و *IL-13* در جوجه‌های تغذیه شده با تیمار ۲۰ درصد بلوط نسبت به تیمار ۱۵ درصد بلوط

Gene	Treatment	Expression rates	P value	Results
Interleukine-2	20% oak acorn	0.030*	0.046	Down
Interleukine-13	20% oak acorn	0.087*	0.057	Down



شکل ۱- قطعات تکثیر شده توسط آغازگرها همراه با نشانگر با اندازه ۱۰۰ جفت‌باز. a) قطعه تکثیر شده از ژن اینترلوکین-۱۳، b) قطعه تکثیر شده از ژن اینترلوکین-۲ و c) قطعه تکثیر شده از ژن بتا اکتین

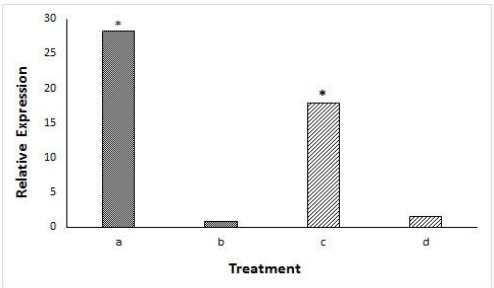
در پایان مقایسه‌ی بیان ژن در سن ٤٢ روزگی با تیمارهای ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه‌ی بلوط با استفاده از برنامه REST, 2009, V2.0.13 و براساس مقادیر Ct (تعداد چرخه‌ی مورد نیاز برای رسیدن به یک سطح آستانه) به‌دست آمده از Real Time PCR نسبت به گروه شاهد انجام شد. اساس مدل ریاضی این نرم‌افزار بر بازده PCR و میانگین مقادیر Ct بین گروه شاهد و نمونه استوار است و با استفاده از تکنیک تصادفی‌سازی، نسبت بیان ژن را نشان می‌دهد (Pfaffl et al. 2002).

نتایج

پس از تکثیر قطعات مورد نظر از ژن‌های اینترلوکین-۲، اینترلوکین-۱۳ و بتا اکتین توسط آغازگرها (جدول ۱)، مشاهده‌ی محصولات در ژل آگارز همراه با نشانگر، صحت اندازه‌ی قطعات تایید شد (شکل ۱). همان‌طور که در این تصویر مشاهده می‌شود اندازه قطعات تکثیر شده برای ژن‌های اینترلوکین-۲، اینترلوکین-۱۳ و بتا اکتین به‌ترتیب ۱۲۹، ۱۲۳ و ۱۳۹ جفت‌باز می‌باشد. ژن اینترفرون‌گاما نیز تکثیر نشد.

نتایج حاصل از بررسی میزان بیان ژن‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ در سن ٤٢ روزگی پرورش در جدول ۲ آمده است. این جدول میزان بیان نسبی ژن‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ در تیمارهای ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه‌ی بلوط نسبت به گروه شاهد را نشان می‌دهد که نسبت به ژن بتا اکتین نرمال شده‌اند.

بیان ژن‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ در تیمار ۱۵ درصد بلوط افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. مقدار بیان ژن *IL-2* در تیمار ۱۵ درصد ۲۸/۲۸٦ برابر بیش‌تر از تیمار شاهد می‌باشد (P=۰/۰۱۱) و ژن *IL-13* نیز ۱۷/۸۵۲ برابر بیش‌تر از تیمار شاهد بیان شده‌است (P=۰/۰۲۳)، اما بیان این ژن‌ها در تیمار ۲۰ درصد بلوط تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت (شکل ۲). هم‌چنین بررسی بیان ژن‌های *IL-2* و *IL-13* در تیمار ۲۰ درصد بلوط نشان داد که میزان بیان این ژن‌ها در مقایسه با تیمار ۱۵ درصد بلوط به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (جدول ۳). هم‌چنین در این پژوهش، ژن اینترفرون‌گاما بیان نشد.



شکل ۲- بیان نسبی ژن‌های *IL-2* و *IL-13* در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی آرد بلوط نسبت به گروه شاهد در سن ٤٢ روزگی. a) ژن *IL-2* در تیمار ۱۵ درصد، b) ژن *IL-2* در تیمار ۲۰ درصد، C) ژن *IL-13* در تیمار ۱۵ درصد و d) ژن *IL-13* در تیمار ۲۰ درصد

بحث

در این پژوهش در بافت تیموس جوجه‌های گوشتی و در سن ٤٢ روزگی پرورش، بیان ژن‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ در تیمار ۱۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت. با توجه به این نتایج به‌نظر می‌رسد که مصرف سطوح پایین‌تر بلوط به علت داشتن ترکیبات محرک سیستم ایمنی می‌تواند باعث افزایش بیان ژن‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ شود.

تاثیر ترکیبات فنولی بر سیستم ایمنی، در چندین پژوهش بررسی شده است. برای مثال، گزارش شده که پلی‌فنول‌های چای سبز ترشح ژن اینترلوکین-۲ را در انسان و موش افزایش می‌دهند و این به ویژگی آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنول چای مربوط است (Katiyar et al. 1999; Chen et al. 2009). هم‌چنین گزارش شده که چای سبز مصرف شده در یک رژیم غذایی متعادل، وضعیت کلی آنتی‌اکسیدان‌ها را بهبود می‌بخشد و از آسیب‌های اکسیداتیو در انسان جلوگیری می‌کند (Erba et al. 2005). ساختار شیمیایی که به فعالیت آنتی‌اکسیدانی موثر پلی‌فنول‌های چای سبز کمک می‌کند، شامل ساختار دی هیدروکسی و تری هیدروکسی می‌باشد که می‌تواند یون‌های فلزی را جذب و از تولید رادیکال‌های آزاد جلوگیری کند (Chen et al. 2009). در همین راستا، نتیجه‌ی یک مطالعه نشان داد که پلی‌فنول‌های کاکائو باعث ترشح ژن *IL-4* در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی انسان می‌شوند (Mao et al. 2000). در پژوهش دیگری نیز پس از افزودن پلی‌فنول‌های کاکائو ترشح ژن *IL-4* به وضوح افزایش یافت (Ramiro et al. 2005). با توجه به شباهت ساختاری و بیولوژیکی *IL-13* با *IL-4*، بنابراین افزایش بیان ژن *IL-13* نیز قابل پیش‌بینی است. در پژوهشی تاثیر هم‌زمان پلی‌فنول‌های موجود در چای و باکتری‌های تولید کننده‌ی اسید لاکتیک روی بیان ژن در روده‌ی جوجه‌های گوشتی بررسی شد (Li et al. 2015). نتایج این پژوهش نشان داد که خوراندن پلی‌فنول‌های چای و باکتری‌های تولید کننده‌ی اسید لاکتیک، بیان سیتوکین‌های *IL-1β*، *IL-6*، *IL-10*، *TNF-α* و *IFN-γ* را تحریک می‌کند که این سیتوکین‌ها نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن و پاسخ التهابی ایفا می‌کنند. هم‌چنین، گزارش شده که پلی‌فنول‌های چای لیپوپلی‌ساکارید ناشی از التهاب مزمن را از طریق سرکوب تولید TNF-α[1] متوقف می‌کنند (Shen et al. 2011). به‌علاوه، پلی‌فنول‌های چای در ٦ هفته باعث کاهش فراوانی TNF-α، IL-1β و IL-6 و افزایش بیان پروتئین‌های ضد التهابی در موش‌های مقاوم به انسولین شدند (Qin et al. 2010). ترکیبات فنولی موجود در پوست درخت *Pinus radiata* نیز به‌طور قابل توجهی باعث افزایش بیان سیتوکین تولید شده توسط سلول‌های Th1 (INF-γ) و کاهش بیان سیتوکین تولید شده توسط سلول‌های Th2 (IL-6) در جوجه‌های سفید لگهورن شدند (Park et al. 2011). هم‌چنین مشاهده شده پرندگانی که با سورگوم قرمز دارای تانن تغذیه شدند پاسخ ایمنی هومورال بهتری داشتند (Kumar et al. 2007). در بافت تیموس و با تیمار ۲۰ درصد بلوط، بیان ژن‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ نسبت به تیمار شاهد تغییر معنی‌داری نداشت اما نسبت به تیمار ۱۵ درصد به‌طور معنی‌داری بیان این ژن‌ها کاهش یافت. جیره‌ی حاوی ۲۰ درصد آرد میوه‌ی بلوط به‌علت دارا بودن ترکیبات فنولی و مواد ضد تغذیه‌ای بیشتر مانند تانن‌ها، خوشخوراک نبوده و منجر به کاهش مصرف خوراک می‌شود (Nedaei et al. 2017). از آنجایی که یکی از ترکیبات مهم و موثر در جیره پروتئین است و از طرف دیگر ساخت اینترلوکین‌ها نیازمند پروتئین می‌باشد، به نظر می‌رسد کاهش مصرف خوراک بتواند باعث کاهش تولید اینترلوکین‌ها شود که با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش هم‌سو می‌باشد. در همین راستا، گزارش شده حضور تانن در میوه‌ی بلوط باعث کاهش مصرف خوراک می‌شود (Hamou et al. 2012). میوه‌ی بلوط به علت مزه‌ی تلخ و گس بودن خوشخوراک نبوده و در نتیجه مصرف خوراک را کاهش می‌دهد (Bouderoua et al. 2003). در واقع تانن‌ها با گلیکوپروتئین‌های بزاق تشکیل کمپلکس می‌دهند (Fahey and Jung 1989) و با تاثیر مستقیم بر گیرنده‌های چشایی، حس نامطلوبی را در دهان ایجاد کرده که موجب ایجاد خاصیت گسی در زمان مصرف آن‌ها می‌شود (Quideau 2008). در پژوهش حاضر ژن اینترفرون‌گاما بیان نشد. اینترفرون‌گاما در نتیجه‌ی تحریک میتوژن‌ها و پادگن‌ها ساخته می‌شود. بنابراین، سلول‌های طبیعی تا زمانی که برای سنتز اینترفرون‌گاما القا نشده باشند، معمولا این کار را انجام نمی‌دهند و عفونت‌های ویروسی

[1] Tumor necrosis factor alpha (TNF-α)

یکی از عومل قوی تولید اینترفرون‌ها هستند. با توجه به این که در این پژوهش جوجه‌ها تحت تاثیر چالش ایمنی قرار نداشتند و میوه‌ی بلوط نیز دارای ترکیبات میتوژنی نمی‌باشد، به‌نظر می‌رسد که میوه‌ی بلوط نتواند باعث تحریک بیان ژن اینترفرون‌گاما شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که در بافت تیموس، با مصرف سطوح پایین‌تر آرد میوه‌ی بلوط (۱۵ درصد) به‌علت وجود ترکیبات محرک سیستم ایمنی، افزایش توان سیستم ایمنی را می‌توان مشاهده نمود. اما افزایش مقدار مصرف آرد میوه‌ی بلوط و به دنبال آن افزایش بیش از حد تانن در جیره می‌تواند باعث سرکوب بیان ژن‌های اینترلوکین-۲ و اینترلوکین-۱۳ وابسته به سیستم ایمنی شود.

منابع

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 52:377-382.

Chen WQ, Zhao XL, Hou Y, Li ST, Hong Y, Wang DL, Cheng YY (2009) Protective effects of green tea polyphenols on cognitive impairments induced by psychological stress in rats. Behavioural Brain Research 202:71-76.

Erba D, Riso P, Bordoni A, Foti P, Biaqi PL, Testolin G (2005) Effectiveness of moderate green tea consumption on antioxidative status and plasma lipid profile in humans. The Journal of Nutritional Biochemistry 16:44-9.

Evstifeeva TA, Sibiriak SV (1996) The immune tropic properties of biologically active products obtained from Klamath weed (*Hypericum perforatum* L.). Eksperimental'naia I Klinicheskaia Farmakologiia Journal 59:51-54.

Fahey Jr GC, Jung HJG (1989) Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. Toxicants of Plant Origin 4:123-190.

Garcia-Lafuente A, Guillamon E, Villares A, Rostagno MA, Martinez JA (2009) Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. Inflammation Research 58:537-552.

Haiwen L, Manfu Z, Haitang H, Jihong Y, Zandong L (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 7:364.

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.

Katiyar SK, Challa A, McCormick TS, Cooper KD, Mukhtar H (1999) Prevention of UVB-induced immunosuppression in mice by the green tea polyphenol (2)-epigallocatechin-3-gallate may be associated with alterations in IL-10 and IL-12 production. Carcinogenesis 20:2117-2124.

Kelly DS, Bendich A (1996) Essential nutrients and immunologic functions. The American Journal Clinical Nutrition 63:994S-996S.

Kumar V, Elangovan AV, Mandal AB, Tyagi PK, Bhanja SK, Dash BB (2007) Effects of feeding raw and reconstituted high tannin red sorghum on nutrient utilization and certain welfare parameters of broiler chickens. British Poultry Science 48:198-204.

Lee YS, Owens CM, Meullenet JF (2008) On the quality of commercial boneless skinless broiler breast meat. Journal of Food Science 73:253-261.

Li HL, Li ZJ, Wei ZS, Liu T, Zou XZ, Liao Y, Luo Y (2015) Long-term effects of oral tea polyphenols and *Lactobacillus brevis*M8 on biochemical parameters, digestive enzymes, and cytokines expression in broilers. Journal of Zhejiang University- Science B (Biomedicine & Biotechnology) 16:1019-1026.

Mao TK, Powell JJ, Van de Water J, Keen CL, Schmitz HH, Gershwin ME (2000) Effect of cocoa procyanidins on the secretion of Interleukin-4 in peripheral blood mononuclear cells. Journal of Medicinal Food 3:107-114.

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

Meydani SN, Meydani M, Blumberg J, Leka LS, Pedrosa M, Diamond R, Schaefer EJ (1998) Assessment of the safety of supplementation with different amounts of vitamin E in healthy older adults. The American Journal Clinical Nutrition 68:311-318.

Nedaei F, Houshmand M, Parsaei S, Meamar M (2017) Effect of oak acorn and dietary methionine level on performance, some organs weight and tibia characteristics in broiler chicken. Iranian Journal of Animal Science 48:219-228. (In Farsi)

Park IJ, Cha SY, Kang M, So YS, Go HG, Mun SP, Ryu KS, Jang HK (2011) Effect of proanthocyanidin-rich extract from *Pinus radiate* bark on immune response of specific-pathogen-free White Leghorn chickens. Poultry Science 90:977-982.

Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L (2002) Relative Expression Software Tool (REST) for group wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Research 30: e36.

Qin BL, Polansky MM, Harry D, Anderson RA (2010) Green tea polyphenols improve cardiac muscle mRNA and protein levels of signal pathways related to insulin and

Shen CL, Yeh JK, Samathanam C, Cao JJ, Stoecker BJ, Dagda RY, Chyu MC, Wang JS (2011) Protective actions of green tea polyphenols and alfacalcidol on bone microstructure in female rats with chronic inflammation. The Journal of Nutritional Biochemistry 22:673-680.

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. BMC Research Notes 6:402.

lipid metabolism and inflammation in insulin-resistant rats. Moleculer Nutrition and Food Research 54: S14-S23.

Quideau S (2008) Chemistry and biology of ellagi tannins, an underestimated class of bioactive plant polyphenols. World Scientific Publishing Co, London 78-86.

Rakic S, Petrovic S, Kukic J, Jadranin M, Tesevic V, Povrenovic D, Siler-Marinkovic S (2007) Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry Journal Impact 104:830-834.

Ramiro E, Franch A, Castellote C, Andres-Lacueva C, Izquierdo-Pulido M, Castell M (2005) Effect of Theobroma cacao flavonoids on immune activation of a lymphoid cell line. British Journal of Nutrition 93:859-866.