DOI: 10.22092/VJ.2023.358939.1983
شماره ۱۴۱ زمستان ۱۴۰۲
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

اثر عصاره آبی زردچوبه بر پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در بافت کبد جنین جوجه تحت تیمار با نانوذرات نقره

• تکتم‌سادات وفا (نویسنده مسئول)
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
• مژده عمادی
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱-۰۳-۲۴ تاریخ پذیرش:۱۴۰۱-۱۱-۲۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱-۱۱-۱۷ تاریخ انتشار: ۱۴۰۲-۱۰-۰۱
Email: vafa.t@pnurazavi.ac.ir

چکیده
عصاره زردچوبه دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد التهابی است و بعلاوه کورکومین موجود در عصاره زردچوبه مي‌تواند عامل حفاظتي قدرتمندي در برابر تغييرات بيوشيميايي و آسيب‌هاي اكسيداتيو سلولی باشد. بمنظور بررسی اثر عصاره آبی زردچوبه بر پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد جنین جوجه تحت تیمار با نانوذرات نقره، ۴۵ تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد راس ۳۰۸ به‌طور تصادفی به گروه‌های شاهد (یک‌بار تزریق ۰/۵ ml محلول سالین) و ۴ گروه تحت تیمار تقسیم شدند. در روز ۱۰ انکوباسیون، گروه‌های تحت تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ نانوذرات نقره دریافت کردند (یک‌بار تزریق ۰/۵ ml نانوذره نقره، ۲۰۰ppm و ۶۰ nm). در روز ۱۲ انکوباسیون، گروه‌های تحت تیمار ۲، ۳ و ۴ عصاره آبی زردچوبه با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دریافت کردند (یک‌بار تزریق ۰/۵ ml عصاره آبی زردچوبه). تزریق در کیسه آمنیون جنین‌ها انجام شد. در روز ۲۰ انکوباسیون، غلظت مالون‌دي‌آلدئید و نیز فعالیت آنزیم‌هاي سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در بافت کبد توسط روش الایزا سنجش شد. تحلیل آماري توسط آزمون‌های واریانس یکطرفه و تعقیبی Tukey انجام شد (p<۰/۰۵). در مقایسه با گروه تحت تیمار ۱، غلظت بافتی سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در گروه‌های تحت تیمار ۲، ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری افزایش و غلظت بافتی مالون‌دي‌آلدئید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). تزریق وابسته به دوز عصاره آبی زردچوبه با کاهش سمیت ناشی از نانوذرات نقره، موجب کاهش استرس-اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد جنین جوجه می‌شود.

کلمات کلیدی: استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، زردچوبه، کبد، نانو ذرات نقره

Veterinary Researches & Biological Products No 141 pp: 37-43

Effect of Aqueous Turmeric Extract on Lipid Peroxidation and Activity of Antioxidant Enzymes in Liver Tissue of Chick Embryo Treated with silver nanoParticles

By: Vafa, T.S., (Corresponding author) Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran. and Emadi, M., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran.

Received: 2022-06-14 Accepted: 2023-02-13

Revised: 2023-02-06 Published: 2023-12-22

Email: vafa.t@pnurazavi.ac.ir

Turmeric extract has antioxidant, antibacterial, antifungal, antiviral, and anti-inflammatory effects, and in addition, curcumin present in turmeric extract can be a powerful protective factor against biochemical changes and cellular oxidative damages. In order to investigate the effect of turmeric aqueous extract on lipid peroxidation and the activity of antioxidant enzymes in the liver tissue of chick embryos treated with silver nanoparticles, 45 race Ross 308 fertilized eggs were randomly divided into control groups (single injection of 0.5 ml saline solution) and 4 treated groups. On the 10th day of incubation, treated groups of 1, 2, 3 and 4 received silver nanoparticles (a single injection of 0.5 ml silver nanoparticles, 200 ppm and 60 nm). On the 12th day of incubation, treated groups of 2, 3 and 4 received turmeric aqueous extract with concentrations of 100, 200 and 300 µg/ml (single injection of 0.5 ml turmeric aqueous extract). The injection was done in the amnion sac embryos. On the 20th day of incubation, the concentration of malondialdehyde and the activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase enzymes in liver tissue were measured by ELISA method. Statistical analysis was carried out by using one-way ANOVA and post-hoc Tukey tests ($p<0.05$). Compared to treated group 1, the tissue concentration of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in treated groups 2, 3 and 4 significantly increased and the tissue concentration of malondialdehyde decreased significantly ($p<0.05$). Dose-dependent injection of turmeric aqueous extract dreduces the toxicity caused by silver nanoparticle and reduces oxidative stress and lipid peroxidation in liver tissue of chick embryos.

Keywords: oxidative Stress, Lipid Peroxidation, Liver, Turmeric, silver nanoparticle

مقدمه

نانوذرات نقره، ذرات کوچکی از فلز نقره با اندازه‌ای بین ۱۰۰ nm-۱ می‌باشند و امروزه کاربردهای گسترده‌ای در علوم مختلف، به‌ویژه بیولوژی و پزشکي پیدا کرده‌اند. نانوذرات نقره دارای خواص ضد باکتریایي، ضد قارچي، ضد ویروسي و ضد پروتوزوئرها بوده و نیز داراي خواص حرارتی، مکانیکی، مغناطیسی و نوري منحصر به فردي هستند که می‌توانند جهت تحقیقات زیست پزشکی و بسیاري از بخش‌هاي صنعتی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گیرند (۱۲). با توجه به استفاده گسترده از نانوذرات نقره، نگرانی در مورد اثرات بیولوژیکی آن‌ها بر محیط زیست و سلامت انسان به‌وجود آمده است (۲۲). طی تحقیقات انجام شده نانوذرات نقره موجب کاهش فعالیت میتوکندري و افزایش معنی‌دار سطح سرمی لاکتات دهیدروژناز می‌شود که این امر نشان‌دهنده تخریب سلولی است. همچنین می‌توانند با تغییر در مورفولوژی و نفوذپذیری غشاء وارد سلول شده و با تاثیر در زنجیره تنفسي، تغییر ماده ژنتیکی و اختلال در تقسیم سلولي، سبب مرگ سلول‌ها شوند (۱۹). مشخص شده است پس از ورود نانوذرات نقره به جریان خون، در بافت‌های مختلف انباشته شده و موجب آسیب کبدي، کلیوي و نیز موجب آسیب بافت بیضه می‌شوند (۲۲).

کبد، اندام مرکزي جهت تجزیه، سم‌زدایی و دفع مواد زاید از بدن است. طی عمل سم‌زدایی، فعال‌سازي میکروزوم‌هاي کبدي توسط آنزیم‌های سیتوکروم P۴۵۰، سبب ایجاد متابولیت‌هاي ثانویه سمی و فعال می‌شود. این ترکیبات می‌توانند موجب آسیب بافت‌هاي مختلف از جمله کبد شوند. رادیکال‌هاي آزاد طی واکنش‌های بیوشیمیایی متابولیسم طبیعی بدن تولید می‌شوند، همچنین می‌توانند منشأ خارجی داشته باشند (۶). گونه‌های فعال اکسیژن به‌عنوان یکی از انواع رادیکال‌های آزاد که در اصطلاح عوامل اکسیدان خوانده می‌شوند، بسیار واکنش‌پذیر بوده و به غشای سلولی و اندامک‌های حیاتی مانند میتوکندری آسیب می‌رسانند (۱۸). همچنین رادیکال‌های آنیون سوپراکسید با شرکت در واکنش‌های سلولی سبب افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مانند پراکسید هیدروژن می‌شوند که سمیت بیشتری در مقایسه با سایر رادیکال‌های آزاد دارد (۱۶). در صورت توقف مکانیسم‌های کنترلی و نیز تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن، رادیکال‌هاي آزاد می‌توانند براي سلول و در نتیجه بافت‌ها مخرب باشند. همچنین عدم تناسب تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، شرایط را برای ایجاد استرس‌اکسیداتیو محیا

می‌کند (۲۳). تجمع درون سلولی رادیکال‌های آزاد موجب پراکسید شدن لیپیدهای غشا، تغییر ساختار غشای سلولی و در نتیجه موجب اختلال در عملکرد طبیعی سلول می‌شود. محصول نهایی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها، مالون دی‌آلدئید (MDA: Malondialdehyde) است (۱۶).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که موجب غیرفعال شدن رادیکال‌های آزاد می‌شوند. همچنین می‌توانند غشاهای سلولی و اندامک‌های درون غشایی را در مقابل اکسیدان‌ها محافظت نمایند (۵). در تمام سلول‌ها و بافت‌ها ترکیباتی به نام آنتی‌اکسیدان جهت حفظ هموستاز اکسیداتیو و مقابله با استرس‌اکسیداتیو وجود دارد. از جمله آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز (SOD: Superoxide dismutase)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX: Glutathione peroxidase) و کاتالاز (CAT: Catalase) اشاره کرد (۱۷). آنیون سوپراکسید توسط سوپراکسید دیسموتاز به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز موجب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند. تری‌پپتید گلوتاتیون، تیول غیر پروتئینی اصلی موجودات هوازی و فراوان‌ترین آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی داخل سلولی می‌باشد (۱۴).

Turmeric یا زردچوبه نام عامیانه‌ی گیاه Curcuma longa و از خانواده Zingiberaceae می‌باشد (۱۲). قسمت مورد استفاده این گیاه، ریزوم آن است و نیز عصاره ریزوم آن کورکومینوئید (Curcuminoid) نامیده می‌شود که شامل مقدار زیادی کورکومین (Curcumin)، دمتوکسی‌کورکومین (Demethoxycurcumin)، بیس‌دمتوکسی‌کورکومین (Bisdemethoxycurcumin) و یک جزء تازه شناخته شده به نام سیکلوکورکومین (Cyclocurcumin) می‌باشد (۱۵). مطالعات متعددی در زمینه اثرات بیولوژیکی زردچوبه و ترکیبات آن صورت گرفته است و مشخص شده است عصاره زردچوبه دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد التهابی و پتانسیل درمانی فوق‌العاده‌ای علیه بیماری‌های عصبی، تورم مفاصل، آلرژی، مسمویت کلیوی، بیماری‌های قلبی عروقی و به ویژه دیابت و اختلالات هورمونی است (۱۵). تحقیقات نشان داد کورکومین در مقایسه با ویتامین‌های C و E فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی‌تری دارد و موجب مهار سنتز رادیکال‌های آزاد و غیر فعال کردن آن‌ها می‌شود (۲۲ و ۲۴). همچنین مشخص شده است کورکومین می‌تواند عامل حفاظتی قدرتمندی در برابر تغییرات بیوشیمیایی و آسیب‌های اکسیداتیو سلولی باشد (۷). در پژوهشی مشخص شد کورکومین با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی خود و نیز با تعدیل سیستم هورمونی می‌تواند در کاهش علائم تخمدان پلی‌کیستیک موثر باشد(۲۵). تحقیقات نشان داد کورکومین دارای اثر مهاری وابسته به دوز بر رگزایی در حلقه آئورت موش صحرایی است (۴)، همچنین با اثرات کاهندگی قند خون، قبل و بعد از ایجاد دیابت، می‌تواند مکمل مناسبی به همراه متفورمین باشد (۳). علاوه بر این، کورکومین به‌طور مستقیم می‌تواند موجب کاهش بیان سیتوکین‌های پیش التهابی و کموکاین‌ها شود که نقش مهمی در التهاب ایفا می‌کنند. در نتیجه مشخص شد کورکومین فعالیت ضد التهابی بسیار قوی دارد (۱۱). در پژوهشی مشخص شد درمان دراز مدت با کورکومین می‌تواند سطح سرمی آلانین و آسپارتات آمینوترانسفراز و همچنین برخی شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو را در بافت قلب موش‌های دیابتی بهبود بخشد (۲۰). با توجه به روند رو به رشد استفاده از گیاهان دارویی و خواص آنتی‌اکسیدانی زردچوبه، پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر عصاره آبی زردچوبه بر پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد جنین جوجه تحت تیمار با نانوذرات نقره انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۴۵ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد راس ۳۰۸ با میانگین وزنی ۳±۸۲ gr به‌طور تصادفی به گروه شاهد و ۴ گروه تحت تیمار تقسیم شدند (n=۹). گروه شاهد: نمونه‌های گروه شاهد در در روز ۱۰ انکوباسیون ۰/۵ ml محلول سالین دریافت کردند. گروه اول: در روز ۱۰ انکوباسیون با یک‌بار تزریق ۰/۵ ml نانوذره نقره (سیگما- آلدریچ؛ آلمان) ۲۰۰ ppm و اندازه ۶۰ nm تیمار شدند. گروه دوم: در روز ۱۰ انکوباسیون با یک‌بار تزریق ۰/۵ ml نانوذره نقره ۲۰۰ ppm و اندازه ۶۰ nm تیمار شدند. همچنین در روز در روز ۱۲ انکوباسیون با یک‌بار تزریق ۰/۵ ml عصاره آبی زردچوبه با غلظت ۱۰۰ µg/ml تحت تیمار قرار گرفتند. گروه سوم: در روز ۱۰ انکوباسیون با یک‌بار تزریق ۰/۵ ml نانوذره نقره ۲۰۰ ppm و اندازه ۶۰ nm تیمار شدند. همچنین در روز ۱۲ انکوباسیون با یک‌بار تزریق ۰/۵ ml عصاره آبی زردچوبه با غلظت ۲۰۰ µg/ml تحت تیمار قرار گرفتند. گروه پنجم: در روز ۱۰ انکوباسیون با یک‌بار تزریق ۰/۵ ml نانوذره نقره ۲۰۰ ppm و اندازه ۶۰ nm تیمار شدند. همچنین در روز ۱۲ انکوباسیون با یک‌بار تزریق ۰/۵ mml عصاره آبی زردچوبه با غلظت ۳۰۰ µg/ml تحت تیمار قرار گرفتند.

عصاره‌گیری توسط دستگاه سوکسله انجام شد. ابتدا ۵۰ g پودر خشک زردچوبه داخل کاغذ کارتوش ریخته شد و در محل تعبیه شده دستگاه سوکسله قرار گرفت. سپس ۴۰۰ ml آب مقطر به عنوان حلال در داخل بالن دستگاه ریخته شد. آب مقطر توسط گرم‌کن دستگاه به جوش می‌آید و در نهایت موجب جداسازی عصاره زردچوبه می‌شود. پس از حدود ۱۰ ساعت مایع نسبتا غلیظی در ته بالن جمع شد. سپس با حذف حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تام استخراج شده است (۳۸). لازم به ذکر است غلظت ۲۰۰۰ µg/ml کروسین به‌عنوان LD۵۰ در نظر گرفته شد. همچنین ED۵۰ عصاره آبی زردچوبه در محدوده بین ۵۰ µg/ml تا ۴۰۰ بوده است. به همین دلیل غلظت‌های ۱۰۰ µg/ml، ۲۰۰ و ۳۰۰ جهت تیمار انتخاب شدند.

تخم مرغ‌ها به‌مدت ۲۰ روز در دستگاه انکوباسیون (دستگاه جوجه‌کشی) مدل M-۳۲ (طیوران صنعت فاخته؛ ایران)، دمای ۳۷/۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد قرار داده شدند(۲۴). در روز ۱۰ و ۱۲ انکوباسیون، ابتدا محل کیسه آمنیون جنین با استفاده از روش نوربینی مشخص شد و تمام تزریقات یک‌بار و توسط سرنگ با سوزن شماره ۲۵ به مایع آمنیوتیک انجام شد. در گام بعد جهت جلوگیری از ورود میکروب‌ها، محل تزریق توسط پارافین مسدود شد (۱۵). در روز ۲۰ انکوباسیون جنین جوجه از تخم مرغ‌ها خارج شدند. سپس بافت کبد از بدن جنین‌ها خارج شد. پس از شستشو با محلول سالین به همراه بافر تریس (سیگما- آلدریچ؛ آلمان) به مدت ۵ دقیقه با دستگاه هموژنایزر digital ULTRA-TURRAX (IKA T۲۵ مدل؛ آلمان) با ۵۰۰۰ دور در

دقیقه هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار مدل Z۳۶۶ (Hermle؛ آلمان) سانتریفوژ شد. براي جلوگيري از تخريب آنزيم‌ها و پروتئين‌ها، تمامی مراحل در دماي ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتريفوژ يخچال‌دار) انجام شد و از محلول ۰/۵ ميلي‌مولار فنيل متيل سولفونيل فلوراید (سيگما- آلدريچ؛ آلمان) به‌عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد (۲۰). پس از انجام سانتريفوژ، محلول رويی شفاف از بخش زيرين رسوب كرده تفكيک و جهت سنجش پارامترهای سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید بافت کبد مورد استفاده قرار گرفت. کیت سوپراکسید دیسموتاز دارای حساسیت < ۹/۳۷۵ pg/ml ، محدوده ۱۵/۶-۱۰۰۰ pg/ml ، کیت گلوتاتیون پراکسیداز دارای حساسیت < ۱۸/۷۵ pg/ml ، محدوده ۳۱/۲۵-۲۰۰۰ pg/ml ، کیت کاتالاز دارای حساسیت> ۱۸/۷۵ میلی واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر، محدوده ۳۱/۲-۲۰۰۰ میلی واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر) و کیت مالون دی‌آلدئید دارای حساسیت> ۱۸/۷۵ ng/ml ، محدوده ۳۱/۲۵-۲۰۰۰ ng/ml می‌باشد. سنجش پارامترهای سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید بافت کبد توسط روش ELISA، دستگاه الایزاریدر مدل ۲۱۰۰(Stat Fax؛ امریکا) و کیت‌های شرکت فاین تست (Finetest؛ چین) انجام شده است. لازم به ذکر است تمام مراحل این پژوهش بر اساس دستور العمل و قوانین بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی طراحی و اجرا شده است و توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی نیشابور با کد ۱۳۹۵،۴۷.IR.NUMS.REC مورد تصویب قرار گرفته است.

اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم‌افزار آماري SPSS ویرایش۲۰ تحلیل شد. با توجه به این‌که نتایج به‌دست آمده کمي است، توسط آزمون کلوموگروف اسمیرنوف فرض طبيعي بودن توزيع فراوانی داده‌ها بررسی شد (p>۰/۰۵). جهت مقایسه میانگین بین گروه‌های مورد آزمایش از آنالیز واریانس یک‌طرفه و جهت مقایسه زوج گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شد. همچنین نتایج به‌دست آمده به‌همراه محاسبات آماري مربوطه به‌صورت میانگین±خطای معیار میانگین گزارش شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

تحلیل داده‌هاي اين مطالعه نشان داد سطح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز بافت کبد در گروه تحت تیمار با نانو ذرات نقره ۲۰۰ ppm در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). همچنین سطح بافتی مالون دی‌آلدئید در گروه تحت تیمار با نانوذرات نقره ۲۰۰ ppm در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵).

در مقایسه با گروه تحت تیمار با نانو ذرات نقره ۲۰۰ ppm، سطح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز بافت کبد در گروه‌های تحت تیمار با نانوذرات نقره ۲۰۰ ppm و غلظت‌های µg/ ml ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ کروسین به‌صورت وابسته به دوز تزریقی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵). همچنین سطح بافتی مالون دی‌آلدئید در گروه‌های تحت تیمار با نانوذرات نقره ۲۰۰ ppm و غلظت‌های µg/ ml ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ کروسین در مقایسه با گروه تحت تیمار با نانو ذرات نقره ۲۰۰ ppm به‌صورت وابسته به دوز تزریقی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). (جدول ۱).

بحث

پژوهش حاضر به بررسی اثر عصاره آبی زردچوبه بر پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌هاي سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز

جدو ل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی زردچوبه بر سطح سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید در بافت کبد جنین جوجه تحت تیمار با ناذرات نقره به تفکیک گروه.

گروه/ پارامتر	سوپراکسید دیسموتاز (pg/ml)	گلوتاتیون پراکسیداز (pg/ml)	کاتالاز (mIU/ml)	مالون دی‌آلدئید (ng/ml)
شاهد	۵۰/۲۴	۱۱۸/۸۴	۱۲۷/۳۱	۳۵/۶۱
نانوذره نقره ۲۰۰ ppm	۱۵/۶۰^{a}	۳۰/۸۲^{a}	۳۳/۱۹^{a}	۹۸/۳۷^{a}
نانوذره نقره + ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر زردچوبه	۲۴/۳۴^{b}	۵۶/۶۰^{b}	۶۵/۵۰^{b}	۶۸/۴۰^{b}
نانوذره نقره + ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر زردچوبه	۳۰/۷۵^{bc}	۷۹/۴۱^{bc}	۸۲/۰۹^{bc}	۵۹/۲۲^{bc}
نانوذره نقره + ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر زردچوبه	۴۱/۲۲^{bcd}	۸۹/۳۴^{bcd}	۹۶/۴۰^{bcd}	۴۵/۱۲^{bcd}
SEM	۳/۷۲	۴/۶۷	۳/۶۰	۴/۶۲
p-value	۰/۰۰۵	۰/۰۱۴	۰/۰۱۱	۰/۰۰۴

(n=۹)؛ داده‌ها به‌صورت Mean±SEM مي‌باشند؛a: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد، b: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه تحت تیمار با نانوذره نقره ۲۰۰ ppm، c: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه تحت تیمار با نانوذره نقره + ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر زردچوبه، d: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه تحت تیمار با نانوذره نقره + ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر زردچوبه.

و کاتالاز در بافت کبد جنین جوجه تحت تیمار با نانوذرات نقره پرداخت. در این مطالعه مشخص شده است سطح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز بافت کبد در گروه تحت تیمار با نانو ذرات نقره ppm ۲۰۰ در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش و سطح بافتی مالون دی‌آلدئید افزایش یافت. پژوهشی به بررسی اثر نانوذرات نقره بر پراکسیداسیون لیپیدی و کیفیت پارامترهای اسپرم در موش‌های نر پرداخت. گزارش شد نانوذرات نقره با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی سبب کاهش شاخص‌های لقاحی اسپرم مي‌شود و اثرات سمی آن به میزان دوز تزریقی وابسته است (۱۶).

مطالعه‌ای دیگری نشان داد نانوذرات نقره با تولید رادیکال‌هاي آزاد و گونه‌هاي فعال اکسیژن سمیت ایجاد مي‌کند و سبب آسیب بافت کبد مي‌شود. همچنین عنوان شد رادیکال‌هاي آزاد حاصل از نانوذرات نقره با پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش سیالیت غشاء و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن سبب آسیب بافت کبد و متعاقبا منجر به افزایش غلظت آنزیم‌هاي کبدي در خون می‌شود (۱۶). طی تحقیقات انجام شده تجویز خوراکی غلظت‌های mg/kg ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ نانوذرات نقره به‌صورت وابسته به دوز سبب افزایش سطح سرمی مالون دی‌آلدئید و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز شد. همچنین مشخص شد غلظت‌های مذکور سبب بروز ناهماهنگی بین آنزیم‌ها و تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۲). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد نانوذرات نقره سبب کاهش معنی‌دار سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز در کبد مدل ماهی تیلاپیا می‌شود (۸). مطالعات اخیر نشان می‌دهد رادیکال‌هاي آزاد حاصل از مکانیسم کاتالیستي نانوذرات نقره از طریق فرآیند پراکسیداسیون لیپیدي به اسیدهاي چرب اشباع نشده موجود در فسفولیپیدهاي غشاء آسیب مي‌رساند و موجب مرگ سلولی مي‌شود (۲۳). پژوهشی به بررسي تاثیر نانوذرات نقره سنتز شده به روش احیاء شیمیایي بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز پلاسما در مدل موش صحرایي پرداخت. نتایج گویای کاهش وابسته به دوز سطح سرمی آنزیم‌هاي سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشد (۱۴). به‌منظور یافتن این موضوع که نانو ذرات نقره چه تغییری در سطح سرمی آنزیم‌هاي کبدي و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی گلبول‌های قرمز ایجاد می‌کند، مطالعه‌ای صورت گرفت و گزارش شد در موش‌هاي تحت تیمار با نانوذرات نقره افزایش معني‌داري در غلظت سرمی آنزیم‌های کبدی و مالون دي‌آلدئید مشاهده می‌شود. همچنین نانوذرات نقره موجب کاهش معني‌داري در میزان فعالیت آنزیم‌هاي کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌هاي قرمز خون می‌شود. به این نتیجه رسیدند نانوذرات نقره از طریق تولید رادیکال آزاد سبب تخریب سلول‌هاي خونی و کبدی می‌شود (۱). تحقیقات نشان داد نانوذرات نقره می‌تواند از طریق گردش خون به جنین منتقل شده و سبب افزایش ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن شود و با افزایش سایتوکاین‌های التهابی، سبب ایجاد اختلالات تراتوژنیک شود.

در این مطالعه مشخص شد سطح آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز بافت کبد در گروه‌های تحت تیمار با نانوذرات نقره ppm ۲۰۰ و غلظت‌های µg/ml ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ عصاره آبی زردچوبه در مقایسه با گروه تحت تیمار با نانوذرات نقره ppm ۲۰۰ به‌صورت وابسته به دوز، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین سطح بافتی مالون دی-آلدئید بافت کبد در گروه‌های تحت تیمار با نانوذرات نقره ppm ۲۰۰ و غلظت‌های µg/ml ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ عصاره آبی زردچوبه در مقایسه با گروه تحت تیمار با نانوذرات نقره ppm ۲۰۰ به‌صورت وابسته به دوز، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. پژوهشی به بررسی تجویز طولانی مدت ماده مؤثره زردچوبه (کورکومین) بر سطح سرمي آنزیم‌های کبدی و سطح بافتی برخي شاخص‌هاي استرس‌اکسیداتیو در بافت قلب پرداخت و محققین نشان داده‌اند کورکومین می‌تواند برخي از شاخص‌هاي استرس‌اکسیداتیو را در بافت قلب موش‌هاي دیابتي بهبود بخشد. همچنین مي‌تواند سطح مالون دي‌آلدئید را کاهش دهد(۳). تحقیقات نشان داده است تجویز کورکومین به موش‌های آزمایشگاهی تحت مواجهه با استامینوفن به میزان قابل توجهي سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و موجب افزایش فعالیت آنزیم‌هاي کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، به ویژه ظرفیت کل آنتي‌اکسیداني پلاسما می‌شود. همچنین عنوان شد کورکومین مي‌تواند عامل حفاظتي قدرتمندي در برابر تغییرات بیوشیمیایي و آسیب‌های اکسیداتیو باشد (۳). محققین در مطالعات پیشین گزارش کرده‌اند تجویز کورکومین زردچوبه موجب کاهش شدت احساس درد در موش‌هاي دیابتي بدلیل اثرات کاهشی در سوپراکسیداسیون لیپیدی شده (۲۵ و ۱۴)، اثرات حفاظتی بر کبد داشته و مي‌تواند از آسیب‌هاي کبدي جلوگیري نماید و سبب بهبود آسیب‌هاي کبدي بدلیل اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدانی می‌شود. این ترکیب، سطح گلوتاتیون احیاء شده و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در بافت کبدي افزایش داده و نیز باعث کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدي و افزایش ظرفیت آنتي‌اکسیداني کل کبدي می‌شود که این امر در نهایت تولید ROS را مهار می‌کند (۲۴). نتایج حاصله از پژوهشی نشان داده است ترکیبات پلي‌فنلی و آنتي‌اکسیدانی زردچوبه ممکن است با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مغز موش صحرایی، سیستم عصبي را در مقابل استرس‌اکسیداتیو ناشي از هوموسیستئین محافظت کرده و سبب بهبود حافظه و یادگیري شوند. لذا محتمل است تجویز کورکومین در پیشگیري از برخي اختلالات دژنراتیو سیستم عصبي موثر واقع گردد (۱۳). از سوی دیگر مشخص شده است کورکومین از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدي در بافت هیپوکامپ سبب بهبود حافظه فضایي کوتاه مدت در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود (۲۳). نتایج مطالعات ذکر شده با نتایج پژوهش حاضر همسو مي‌باشد و نشان دهنده اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آپوپتوتیک عصاره آبی زردچوبه بر بافت کبد جنین جوجه تحت تیمار با نانوذرات نقره است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت تزریق وابسته به دوز عصاره آبی زردچوبه با کاهش سمیت ناشی از نانوذرات نقره، موجب کاهش استرس‌اکسیداتیو و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد جنین جوجه می‌شود. از این‌رو مطالعات تکمیلی جهت شناخت دقیق مسیر مولکولی اثر عصاره آبی زردچوبه در کاهش استرس‌اکسیداتیو و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی القاء شده توسط نانوذرات نقره در بافت

کبد، مورد نیاز است. همچنین با توجه به تیمارهای اعمال شده در این پژوهش و اثرات مثبت استفاده از عصاره زردچوبه در مقابل افزودن نانو ذرات نقره، پیشنهاد می‌شود در آزمایشات اینده غلظت عناصر سمی و سنگین در بافت‌های کبدی جوجه‌ها بدون اعمال تیمار و همچنین در مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه جوجه‌های گوشتی در شرایط طبیعی بررسی شده و اثرات استفاده از عصاره‌های گیاهی دارای ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی، در شرایط زیستی بر تغییرات غلظت عناصر سمی بررسی گردد.

منابع مورد استفاده

1. Abdelaleem. M. 2014. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles on isolated rat hepatocytes. *Toxicology Letters* 229: 186.

2. Adeyemi. OS. and Faniyan. TO. 2014. Antioxidant status of rats administered silver nanoparticles orally. *Journal of Taibah University for Science*. 9: 182-186.

3. Ameli. H. Moini-Zangani. T. Masoudnia. F. and Sabetkasaei. M. 2015 the comparison of curcumin's effect with or without metformin on blood glucose levels in diabetic rats. *Pejouhandeh*. 19: 312-319.

4. Baharara. J. Mousavi. M. and Ramezani. T. 2014. Effect of curcumin on angiogenesis in aortic ring model of the wistar rat. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 22: 1226-1236.

5. Honarvar. F. Vaezi. G.Nourani.M. Kamrani. A. and Sadeghnezhad. E.2016. Oxidant/Antioxidant index evaluation in the rat embryo induced by Nano-silver particle. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 6: 53-60.

6. Jagetia. GC. and Aggarwal BB. 2007. "Spicing up" of the immune system by curcumin. *Journal of Clinical Immunology*. 27: 19-35.

7. Kamali. E. Ghaedi. K. Karimi. P. Kheradmand. P. and Tavassoli. M.2014. Biological and Anticancer Effects of Curcumin. *Journal of Isfahan Medical School*. 31: 2097-2112.

8. Karam Sichani. S. Naghsh. N. and Razm. N.2012. Effects of Alcoholic Extract of Peganum harmala L. on Malondialdehyde Concentration and Catalaseand Glutathione Peroxidase Activity in Mice Treated with Nanosilver Particles. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 22: 10-17.

9. Karam Sichani. S. Naghsh. N. and Razmi. N.2012. Effects of Alcoholic Extract of Peganumharmala L. on Malondialdehyde Concentration and Catalaseand Glutathione Peroxidase Activity in Mice Treated with Nanosilver Particles. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 22: 10-17.

10. Layali E. Tahmasbpour. E. Jorsaraei. and SGA. 2016. Effects of Silver Nanoparticles on Lipid Peroxidation and Quality of Sperm Parameters in Male Rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 18: 48-55.

11. Limon-Pacheco J. and Gonsebatt. ME.2009. the role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*. 674: 137-147.

12. Lushchak. VI. 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*. 224: 164-175.

13. Maheshwari. RK. Singh. AK. Gaddipati. J. and Srimal. RC. 2006. Multiple biological activities of curcumin. *Life Sciences*. 78: 2081-2087.

14. Malek-Mohammadi. R.. Roghani. M. and Salami. M.2015. the effect of aqueous extracts of Melissa officinalis on the oxidative stress indices in the midbrain tissue. *Feyz*. 19: 8-14.

15. Mazani. M. Tutunchi. S. Shahi. D. Manafi. H. Yazdi. M. Khajoie Najad. M. and et al. 2014. Prevention effect of turmeric extract on methotrexate-induced intestinal toxicity by alleviating oxidative stress in rats. *The Journal of Urmia University of Medical Sciences*. 25: 119-128.

16. McShan. D. Ray. PC. and Yu. H. 2014. Molecular Toxicity Mechanism of Nanosilver. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22: 116-127.

17. Miura. N. and Shinohara. Y. 2009. Cytotoxic effect and apoptosis induction by silver nanoparticles in HeLa cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 390: 733-737.

18. Modaresi. M. HarfBol. MR. and Ahmadi. F.2017. Review on Pharmacological Effects and Therapeutic Properties of Curcumin. *Journal of Medicinal Plants*. 2: 1-17.

19. Nabiuni. M. Mohammadi. S. Kayedpoor. P. and Karimzadeh. L. 2015 the effect of curcumin on the estradiol valerateinduced polycystic ovary in rats. *Feyz*. 18: 515-523.

20. Naderi. G. Asgary. S. Taher. M. Sabet. B. and Nik-khoo, N. 2005. Antioxidant effect of Turmeric and saffron on the oxidation of hepatocytes, LDL and non-enzymatic glycation of hemoglobin. *Journal of Medicinal Plants*. 4: 29-35.

21. Niki. E. Yoshida. Y. Saito. Y. and Noguchi. 2005. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 338: 668-676.

22. Roghani. M. and Baluchnejadmojarad. T.2012. Antinociceptive Effect of Curcumin, an Effective Constituent of Turmeric, in Diabetic Rats and Evaluation of the Involvement of Lipid Peroxidation. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology*. 15: 23-32.

23. Roghani. M. and Baluchnejadmojarad. T.2012. the effect of

curcumin on short-term spatial memory and passive avoidance learning and memory in diabetic rats and evaluation of the role of lipid peroxidation. *Daneshvarmed*. 19: 51-60.

24. Saki. AA. and Salary. J.2014. In ovo injection of nano silver, thyme and savory extracts to broiler breeders eggs and their effect on post-hatch immunological parameters. *Animal Science Journal*. 101: 71-78.

25. Wen. R. Hu. L. Qu. G. Zhou. Q. and Jiang. G.2016. Exposure, tissue biodistribution, and biotransformation of nanosilver. *Nano-Impact*. 2: 18-28.