University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Physiological response of some anti-stressful agents in broilers exposed to dexamethasone

Hala Osama Adnan Alsharhan

M.Sc. / Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary physiology

Supervised by

Assistance professor

Dr. Hiyam Natheer Maty

2022 A.D. **1444 A.H.**

Abstract

The current study aims to reveal the effect of sodium butyrate (SB) and betaine (BET) as anti-stressful agents on some of the physiological parameters in the broiler chickens exposed to dexamethasone (DEX)-induced non-specialized stress in an experimental setting. Ninety-six broiler chicks (rose-type) at one day of age were reared in the animal house/ College of Veterinary Medicine- the University of Mosul from September to November 2021 in the appropriate conditions for this study. After that, they were divided into 4 groups, each one consisting of 24 birds and three replications, and two periods of 21 and 42 days of age. The first group was considered the control group while the second group was the DEX group, the broiler was injected with DEX every 3 days at an experimental dose of 1 mg/kg of body weight (subcutaneous). While the third and fourth groups were injected with DEX and treated with SB and BET at a dose of 1.2 g/kg feed, and 2 g/kg feed, respectively.

The results of this study showed that DEX adversely affected the feed conversion ratio (FCR) and final body weight in both periods. There was a significant decrease in weight gain and an increase in feed consumption at 21 days compared to the control group. A significant rise in liver weight and gizzard weight was observed at both periods and a rise in heart and bursa weight at 21 and 42 days. There was a significant increase in both the packed cells volume (PCV) and the stress index values of blood parameters in the DEX group in the 21 and 42 days of the bird's life, as well as an increase in the levels of liver enzymes (alanine aminotransferase ALT- aspartate aminotransferase AST) compared with the control group. The injection of DEX resulted in a significant decline in glutathione (GSH) levels and a significant rise in malondialdehyde (MDA) levels in serum, liver, spleen, and

bursa tissues. The stress biomarkers also showed a negative impact of the DEX by increasing the heat shock protein 90 (HSP90) and caspase-3 values, these findings were later reflected in the correlation between HSP90 and caspase-3 which increased significantly during the first period.

The addition of SB or BET to the feed of DEX-injected broilers enhanced growth performance by improving FCR values at 42 days of age, while SB lower significantly the liver weight at 21 days compared to the DEX group. At 42 days of age, these feed additives had similar effects by overcoming the negative effect of DEX by reducing liver weight compared to the DEX group. Recent results of this study indicate that the addition of SB or BET to the ration of DEX-injected broilers resulted in a significant decrease in PCV and stress index values in both periods as well as a significant decrease in the liver enzymes (ALT and AST) in the 21 days and at 42 days of age, BET decrease significantly these two enzymes was reduced compared to DEX. The results also showed that the addition of SB or BET in feed for DEX-injected broilers resulted in a significant rise in GSH level and a significant decrease in MDA in serum in both periods compared to the DEX group and in 21 days the MDA values were returned to the control group. And for liver tissue both feed additions caused GSH to increase in both periods and reduced MDA level compared to DEX and return the MDA values in 21 and 42 days to the control group values. The third and fourth groups showed an increase in the level of GSH in spleen tissue in the 42 days compared with DEX and return the values to the control values; for MDA in spleen tissue, there was a significant decrease in third and fourth for both periods compared to DEX and return the values for the control values in the first period. There has also been a significant rise in the level of GSH in the bursa in groups three and four compared to DEX in 21 and 42 days and the values have been returned to control values in the 21 days, while MDA level in the bursa was

significantly decreased in groups three and four compared with DEX group in both periods and return values to control values in the 42 days. The results showed that the addition of both SB or BET in the stressed birds' resulted in a significant decrease in the HSP90 in both periods compared to the DEX group while the addition of SB had the greatest ability to reduce the level of HSP90 by the age of 21 days as well as the significant reduction of caspase-3 activity after one of the two feed additives to stressed birds compared with DEX in the two periods and returned the values for the 21-day control values.

The current study concluded that through both periods of the broilers DEX has a negative impact on growth performance, the PCV, the stress index, liver enzymes, the level of GSH and MDA in the serum, liver, spleen, bursa tissue, and on HSP90, and programmed cell death in the liver. The addition of SB or BET to the stressed broilers has anti-stressful and antioxidant properties by improving and enhancing all the different physiological values that were used in this study, but the results of these additions are better in a 21-day period than in a 42-day period.

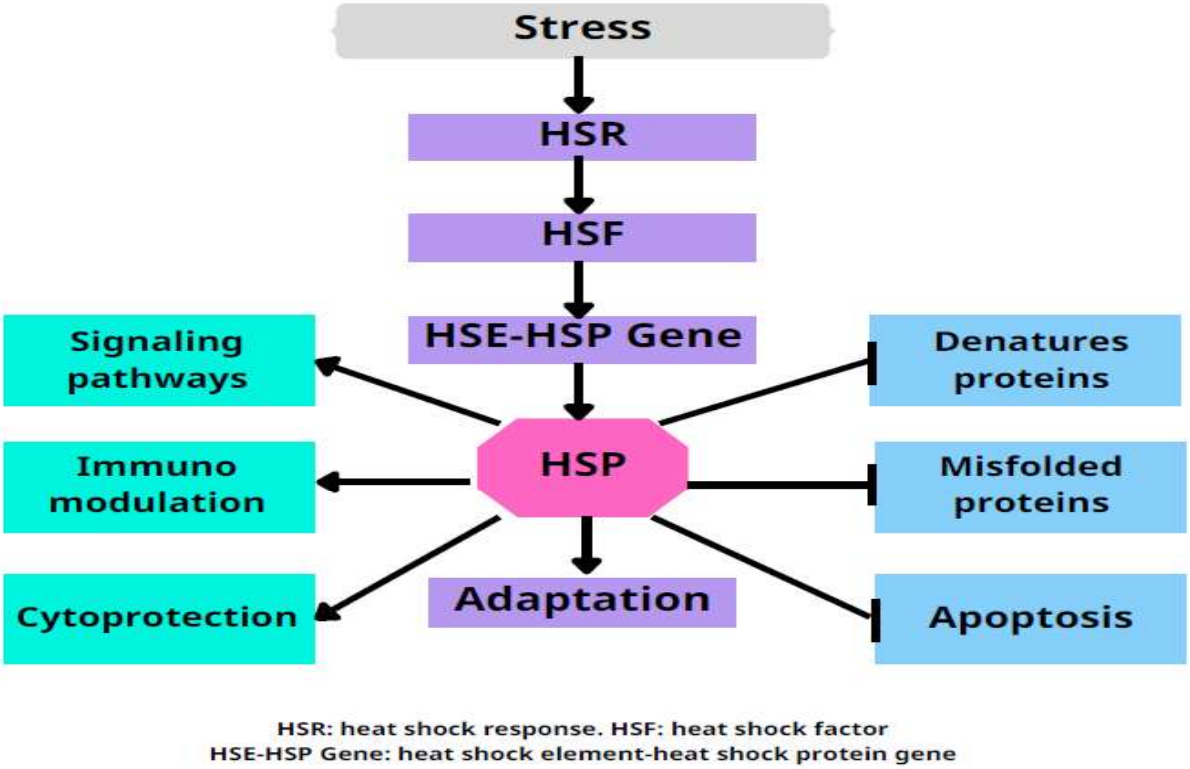

Figure (2): Functions of HSP under physiological and stress status. (Surai, 2015)

2-5 Caspase-3

Kerr, Wyllie, and Currie set up the word "apoptosis" in 1972 to illustrate a sort of cell death-related to genomic DNA fragmentation, it's distinguished morphologically by cytoplasmic condensation, nuclear pyknosis, chromatin condensation, cell rounding, membrane blebbing, cytoskeletal collapse, and the development of membrane-bound apoptotic cells that are swiftly phagocytosed and consumed by macrophages or nearest cells without triggering an immune response (Saraste and Pulkki, 2000). Currently, apoptosis identifies as a familiar style of cell death employed to get rid of undesirable or extra cells and is characterized by a slew of morphological and biochemical alterations caused typically by the stimulation of a family of cysteine proteases called caspase (Nicholson and Melino, 2013). So that caspases are a group of protease enzymes that have a vital role in

الخلاصة

الهدف من الدراسة الحالية هو إظهار تأثير بيوتاريت الصويوم والبيتاين كعوامل مضادة للإجهاد على بعض المتغيرات الفسلجية في أفراخ فروج اللحم المعرض للإجهاد الغير متخصص المحدث تجريبا باستعمال ديسكاميثازون تم استعمال 96 من فروج اللحم نوع روز بعمر يوم واحد وذلك بتربيتها في بيت الحيوان\ كلية الطب البيطري\ جامعة الموصل، في الفترة ما بين شهر أيلول الى تشرين الثاني 2021 في الظروف المناسبة لهذه الدراسة وتم تقسيمهم الى 4 مجاميع، كل منها يتكون من 24 فرخ وبثلاث مكررات، وفترتين عمريتين 21 و42 يوم واعتبرت المجموعة الأولى مجموعة السيطرة بينما المجموعة الثانية هي مجموعة الديكساميثازون وتم حقن فروج اللحم بالديسكاميثازون كل 3 أيام بجرعة محددة تجريبيا عند 1 ملغم\كغم من وزن الجسم تحت (تحت الجلد). في حين تم حقن المجموعتين الثالثة والرابعة بالديكساميثازون وعولجتا ببيوتاريت الصوديوم والبيتاين بجرعة 1.2 غم\كغم علف، 2 غم\كغم علف على التوالي.

أظهرت نتائج الدراسة بأن الديكساميثازون أثر سلبيا على معامل التحويل الغذائي ووزن الجسم النهائي في كلتا الفترتين وكان هناك انخفاض معنوي في الزيادة الوزنية واستهلاك العلف عند 21 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة، ولوحظ ارتفاع معنوي في وزن الكبد والقانصة في كلا الفترتين، وارتفاع في وزن القلب في يوم 21 ووزن جراب فابريشيا في 42 يوم. كان هناك ارتفاع معنوي في كل من حجم الخلايا المرصوصة وقيم المؤشر الإجهاد لمعايير الدم في مجموعة الديكساميثازون في الفترتين 21 و42 يوم من عمر الطائر، فضلا عن زيادة في مستويات إنزيمات الكبد (ناقلة أمين الألانين وناقلة أمين الأسبارتيت) مقارنة مع مجموعة السيطرة. أدى الحقن بالديكساميثازون الى حدوث انخفاض معنوي في مستوى كلوتاثيون وارتفاع معنوي في مستوى مالنولديالديهايد في مصل الدم ونسيج الكبد والطحال وجراب فابريشيا وأظهرت أيضا مؤشرات الإجهاد تأثيرا سلبيا ومعنويا لمجموعة الديكساميثازون وذلك بزيادة قيم كاسبيز-3 وبروتين الصدمة الحرارية 90 في الفترتين مما أدى الى انعكاس هذه النتائج لاحقا في العلاقة ما بين كاسبيز-3 وبروتين الصدمة الحرارية 90 بصورة معنوية طردية بسبب الإجهاد التأكسدي في الفترة الاولى.

أدى إضافة كل من بيوتاريت الصوديوم أو البيتاين الى عليقة فروج اللحم المحقونة بالديكساميثازون الى تعزيز إداء النمو من خلال تحسين قيم معامل التحويل الغذائي بعمر 42 يوم، بينما خفض معنويا بيوتاريت الصوديوم من وزن الكبد عند 21 يوم مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون، وفي عمر 42 يوما كان لهذه الإضافات العلفية تأثيرات مماثلة بالتغلب على التأثير السلبي للديكساميثازون عن طريق خفض وزن الكبد مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون. تشير النتائج الى إن إضافة بيوتاريت

الصوديوم أو البيتاين الى عليقة فروج اللحم المحقون بالديكساميثازون أدى الى حدوث انخفاض معنوي في حجم الخلايا المرصوصة وقيم المؤشر الإجهاد في كلا الفترتين بالإضافة الى حدوث انخفاض معنوي انزيمي الكبد ناقلة الأمين الألانين وناقلة الأمين الأسبارتيت في الفترة 21 يوم، بينما في عمر 42 يوم فقد خفض معنويا البيتاين من هذين الأنزيمين مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون. أظهرت أيضا النتائج ان إضافة بوتاريت الصوديوم أو البيتايين في العلف فروج اللحم المعرض للديكساميثازون أدى الى أرتفاع معنوي في مستوى كلوتاثيون وانخفاض معنوي في مالنولديالديهايد لمصل الدم في كلا الفترتين مقارنة مع مجموعة ديكساميثازون وفي الفترة 21 يوم رجعت قيم مالنولديالديهايد لما هو عليه في مجموعة السيطرة، أما نسيج الكبد فقد أحدثت كلتا الاضافتين العلفية الى رفع مستوى كلوتاثيون في كلا الفترتين وخفض في مستوى مالنولديالديهايد مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون ورجعت قيم مالنولديالديهايد في 21 و42 يوم لما هو عليه في مجموعة السيطرة. وكما أظهرت المجموعة الثالثة والرابعة ارتفاع معنوي في مستوى كلوتاثيون في نسيج الطحال في الفترة 42 يوم مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون ورجعت القيم لما هو عليه في مجموعة السيطرة، اما بالنسبة لمستوى مالنولديالديهايد في نسيج الطحال فكان هناك انخفاض معنوي بمجموعتين الثالثة والرابعة لكلا الفترتين مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون ورجعت القيم لما هو عليه في مجموعة السيطرة في الفترة العمرية الأولى، كما ولوحظ هناك ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثيون في جراب فابريشيا في المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون في 21 و42 يوم وقد رجعت القيم لما هو عليه في مجموعة السيطرة في الفترة 21 يوم, بينما مستوى مالنولديالديهايد في جراب فابريشيا فكان هناك انخفاض معنوي في المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون في كلتا الفترتين ورجعت القيم لما هو عليه في مجموعة السيطرة في الفترة 42 يوم. بينت النتائج ان الإضافة كل من بيوتاريت الصوديوم أو البيتاين في عليقة الطيور المجهدة أدى الى انخفاض معنوي في بروتين الصدمة الحرارية 90 في كلا الفترتين مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون في حين كانت لإضافة بيوتاريت الصوديوم القدرة الأكبر على تقليل من مستوى الصدمة الحرارية 90 بعمر 21 يوم، كما قل نشاط الكاسبيز-3 معنويا بعد وضع احدى الاضافتين العلفية للطيور المجهدة مقارنة مع مجموعة الديكساميثازون في الفترتين العمرتين ورجعت القيم لما هو عليه في مجموعة السيطرة في الفترة 21 يوم.

نستنتج من الدراسة الحالية أنه من خلال الفترتين العمرية لفروج اللحم بأن للديكساميثازون تأثير سلبي على إداء النمو وحجم الخلايا المرصوصة ومؤشر الاجهاد وإنزيمات الكبد ومستوى كل من كلوتاثيون و مالنولديالديهايد في مصل الدم ونسيج الكبد والطحال وجراب فابريشيا وعلى بروتينات

الصدمة الحرارية 90 وموت الخلايا المبرمج في الكبد وأنعكس ذلك من خلال الارتباط الإيجابي المعنوي بين الكاسبيز-3 وبروتين الصدمة الحرارية 90، وإن إضافة كل من بيوتاريت الصوديوم أو البيتاين الى عليقة فروج اللحم المجهدة له خصائص مضادة للإجهاد والأكسدة عن طريق تحسين وتعزيز كل المقاييس الفسلجية المختلفة التي استخدمت في هذه الدراسة، لكن النتائج لهاتين الاضافتين أفضل في فترة 21 يوم من فترة 42 يوم.