

Changes in Plasma Thyroids Hormones, Heart Hypertrophy, Mortality and some Blood Parameters in Broilers with Pulmonary Hypertension Syndrome (PHS)

M. Fathi^{1*}, T. Tanha²

1, 2. Assistant professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Payame Noor University, P.O. Box 19395-3697, Tehran, Iran

(Received: Sep. 21, 2012; Accepted: Dec. 1, 2013)

تغییر در سطوح پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی، هیپرتروفی قلب، تلفات و برخی پارامترهای خونی در جوجه‌های مبتلا به سندرم افزایش فشار خون ریوی

مختار فتحی^{۱*}، تیمور تنها^۲

۱ و ۲. استادیار گروه کشاورزی (علوم دامی)، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۳۱، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۰۹/۱۰)

چکیده

۱۶۰ جوجه نر یکروزه (راس ۳۰۸) برای بررسی سطوح پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی، هیپرتروفی قلب، تلفات و برخی پارامترهای خونی به مدت ۶ هفته مورد بررسی قرار گرفتند. جوجه‌ها به طور کاملاً تصادفی به دو تیمار با ۴ تکرار و ۲۰ جوجه برای هر تکرار تقسیم شدند. گروه اول در دمای پرورشی استاندارد پرورش یافتند (تیمار NT) ولی گروه دوم برای القای سندرم افزایش فشار خون ریوی (آسیت) و ایجاد نارسایی قلبی عروقی، در دمای سرد طبق برنامه دمایی ویژه قرار گرفتند (CT). در روز آخر آزمایش (روز ۴۲) ۲ جوجه از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و بعد از توزین و خونگیری، کشتار و قلب آنها برداشته و بعد از بررسی ناحیه پری کاردیوم آن، وزن قسمت‌های آن جدا و شاخص آسیتی وزن بطن راست به کل بطن محاسبه شد. نتایج نشان داد، درصد هماتوکریت، شاخص آسیتی، تلفات ناشی از آسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در پرندگان تیمار CT بیشتر از پرندگان تیمار NT بود ($P < 0.05$). نتایج اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی نیز نشان داد که، در روز ۲۱ و ۴۲، پرندگان تیمار CT به طور معنی‌داری دارای میانگین پایین‌تری از غلظت پلاسمایی هورمون T₄ بودند. هم چنین، غلظت پلاسمایی هورمون T₃ نیز در روز ۲۱ (و نه روز ۴۲)، در پرندگان تیمار CT، به طور معنی‌داری بیشتر از پرندگان تیمار دیگر بود ($P < 0.05$).

ABSTRACT

A study with 160 one-day age male broilers (Ross 308) was for six week period, conducted to investigate the some blood parameters, and plasma thyroxine (T₄) and triiodothyronine (T₃) of broiler chickens with cold induced pulmonary hypertension syndrome (PHS). Chicks in 2 groups of 4 replicates were studied in each group 20 chicks for each replicate were used. One group set as control (healthy) group and reared under normal temperature, second group set as PHS group and reared under cold temperature. At the end of the experiment (day 42), 2 chicks from each replicate were randomly selected bled and slaughtered. The heart was removed and the right ventricle was dissected away. The ratio of right ventricle weight to total ventricle weight (RV/TV) was calculated. The results showed that hematocrit value, mortality due to ascites, RV/TV index and differential white blood cells count were significantly higher in CT treatment chick ($P < 0.05$). The concentrations of plasma t₄ of CT birds were significantly lower than other group birds at day 21 & 42. it is also, The concentrations of plasma t₃ of CT birds were significantly higher than other group birds at day 21 (exception day 42) ($P < 0.05$).

Keywords: Ascites, Thyroid hormones, Blood parameters, Right ventricle hypertrophy, Mortality.

واژه‌های کلیدی: آسیت، هورمون‌های تیروئیدی، پارامترهای خونی، هیپرتروفی بطن راست، تلفات، جوجه‌های گوشتی.

مقدمه

سندرم افزایش فشار خون ریوی، آسیت (تجمع مایع محوطه بطنی) در جوجه‌های سریع‌الرشد و بیشتر در خلال فصل زمستان بروز می‌نماید و تلفات زیادی را به دنبال دارد (Maxell and Rabertson, 1998). پاتوفیزیولوژی آسیت شبیه آنچه است که در بیماری هیپوکسی و ارتفاع بالا رخ می‌دهد. که عدم تعادل بین اکسیژن مورد نیاز و اکسیژن فراهمی در بدن می‌تواند منجر به هیپوکسی شود. لذا پیشنهاد شده است که کمبود اکسیژن یا هیپوکسی عامل اصلی بروز آسیت در جوجه‌های گوشتی امروزی است (Luger *et al.*, 2001). هیپوکسی ایجاد شده می‌تواند سبب بروز یکسری رخدادهایی پی در پی شود از جمله افزایش خروجی قلب، افزایش فشار خون ریوی، افزایش حجم بطن راست و ناکارآمدی سیستم قلبی-عروقی و به دنبال آن آسیت رخ داده و مرگ اتفاق می‌افتد (Luger *et al.*, 2003).

دمای سرد یک از فاکتورهای مهم موثر در بروز آسیت است که می‌تواند سبب افزایش فعالیت‌های متابولیکی گشته و به دنبال خود، سبب افزایش تقاضای اکسیژن برای پرند شود. افزایش متابولیسم می‌تواند با افزایش هورمون تیروکسین (T_4)، مرتبط باشد که این هورمون می‌تواند با از دست دادن یک گروه ید در کبد و کلیه‌ها به هورمون تری‌یدو تیرونین (T_3) تبدیل گردد. هورمون تری‌یدو تیرونین (T_3) پلاسمایی با تنظیم دمای بدن پرند ارتباط داشته و یکی از عوامل مهم سوق‌دهنده رشد در جوجه‌های گوشتی سریع‌الرشد به شمار می‌رود. این هورمون می‌تواند در پاسخ به تغییرات دمای محیطی تغییر مقدار پیدا کرده و روند رشد در پرند را تغییر دهد (Luger *et al.*, 2001) به طوری که در دماهای پایین غلظت پلاسمایی هورمون تری‌یدو تیرونین (T_3) افزایش می‌یابد (Yahav *et al.*, 1996) و این افزایش غلظت پلاسمایی به طور مثبتی با افزایش مصرف خوراک در دماهای پایین هم بستگی دارد

بنابراین (Yahav *et al.*, 1995, 1997). غلظت‌های پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی می‌تواند دریچه‌ای باشد برای بررسی ارتباط افزایش نیازهای متابولیسمی و توسعه و بروز آسیت. لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی ارتباط بین هورمون‌های تیروئیدی، هماتوکریت، و توسعه علایم آسیت بود.

مواد و روش‌ها

۱۶۰ جوجه نر گوشتی یک روزه از سویه راس ۳۰۸ در این آزمایش استفاده شدند. نصف این جوجه‌ها، در ۴ قفس سیمی (۲×۱ مترمربع) که هر یک حاوی ۲۰ جوجه بودند قرار گرفته و در برنامه دمایی استاندارد، به طوری که تا هفته چهارم در شرایط منظم دمایی بودند و سپس تا هفته ششم در دمای ثابت 22 ± 1 تا آخر آزمایش پرورش داده شدند (تیمار^۱ NT). اما گروه دوم برای القاء آسیت در سالی دیگر و در دمای سرد پرورش داده شدند به طوری که در هفته اول و دوم دما به ترتیب ۳۲ و ۳۰ درجه سانتیگراد بود اما روز ۱۵م، دما به ۲۵ درجه کاهش یافت و روزانه ۱/۵-۱ درجه دما کاهش یافت به طوری که در روز ۲۱ م دما به زیر ۱۵ درجه رسید و تا پایان آزمایش دما بین ۱۵-۱۰ درجه سانتیگراد باقی ماند (CT^2) (تیمار CT) (Fathi *et al.*, 2011, 2012).

پرندگان در طول آزمایش، دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. همه جوجه‌ها با یک جیره آردی بر پایه ذرت-سویا آغازین (حاوی ۳۲۰۰ کیلوکالری انرژی و ۲۲/۰۴ درصد پروتئین خام) تا سن ۲۱ روزگی و بعد از آن از یک جیره رشد (حاوی ۳۲۰۰ کیلوکالری انرژی و ۲۰/۲۶ درصد پروتئین خام) تغذیه شدند. روز ۲۱ و ۴۲، دو جوجه از هر قفس به طور تصادفی انتخاب و از هر کدام دو نمونه خونی از سیاهرگ زیر بال گرفته شد یکی از نمونه‌ها در سرنگ‌های حاوی

1. Natural temperature (NT)
2. Cold temperature (CT)

اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها در سطح احتمال ۹۵ درصد ($P < 0.05$) با استفاده از آزمون توکی صورت گرفت.

نتایج

تلفات ناشی از آسیب و هایپرتروفی قلب

داده‌های موجود در جدول ۱ نشان می‌دهد، تلفات ناشی از آسیب در طول کل دوره آزمایشی، در پرندگان تیمار CT در مقایسه با تیمار NT، به طور معنی‌داری بالا بود. هم چنین داده‌های این جدول نشان می‌دهد که شاخص RV/TV در پرندگان تیمار CT به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار دیگر بود ($P < 0.05$).

جدول ۱. شاخص RV/TV و تلفات ناشی از آسیب جوجه‌های تیمار دمایی طبیعی (NT) و تیمار دمایی سرد (CT)

دوره	تیمار	نسبت بطن راست به کل بطن (RV/TV)	تلفات ناشی از آسیب (%)
روز ۴۲	NT	0.23 ± 0.01^b	7.5 ± 0.11^b
	CT	0.31 ± 0.02^a	38 ± 0.16^a
	P value	0.0007	0.0001

میانگین‌های با حروف مختلف در هر ستون، اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.05$).

هماتوکریت و گلبول‌های سفید خون

داده‌های جدول ۲، نشان می‌دهد پرندگان تیمار CT، دارای مقادیر بالا و معنی‌داری از هماتوکریت، هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت بودند اما تعداد شمارش گلبول‌های سفید لنفوسیت در این پرندگان به طور معنی‌داری کمتر از پرندگان تیمار NT بود ($P < 0.05$).

هورمون‌های تیروئیدی پلازما

محتویات جدول ۳ نشان می‌دهد که غلظت‌های هورمون‌های تیروئیدی T_3 و T_4 در روز ۲۱ به طور

ماده ضد انعقاد EDTA، وارد شدند و برای اندازه‌گیری پارامترهای خونی استفاده شد. نمونه دیگر بلافاصله به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۲۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسماهای به دست آمده، در دمای ۲۰- تا زمان آزمایشات هورمونی نگهداری شدند.

جهت اندازه‌گیری هورمون‌های تری‌یدو تیرونین (T_3) و تیروکسین (T_4)، از کیت‌های الیزا محصول شرکت پیشتاز طب و طبق دستورالعمل پیشنهادی و به کمک دستگاه الیزا ریدر (stat fax 303 USA) استفاده گردید.

اندازه‌گیری هماتوکریت و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید نیز، به کمک دستگاه اتوماتیک sys mex مدل ۴۵۰۰ ساخت کشور آلمان استفاده گردید.

جوجه‌ها بلافاصله بعد از خون‌گیری، کشتار و کالبدگشایی شدند. قلب جوجه‌های کشتار شده بعد از مشاهده وضعیت ناحیه پریکاردیوم، برداشته شد و بطن‌ها از دهلیز به صورت دقیق جدا گشت و بعداً هم بطن راست از بطن چپ از ناحیه سپتوم جدا و بعد از توزین جداگانه بطن‌ها، نسبت بطن راست به کل بطن‌ها (RV/TV^1) هم برای همه جوجه‌های کشتار شده در روز ۴۲ م محاسبه شد. و نسبت‌های بالاتر از 0.27 به عنوان آسیب ثبت می‌شد. لازم به ذکر است که تلفات نیز به صورت روزانه ثبت شد و تلفات برای بررسی دلیل مرگ و نارسایی‌های قلبی کالبدگشایی شد به طوری که علایم آسیب بسته به مشاهده می‌تواند یکی از موارد زیر باشد: ۱- هیپرتروفی بطن راست، سستی ماهیچه قلب؛ ۲- کبد ورم کرده و شق و سفت شده؛ ۳- مایع زرد رنگ، کلوییدی و روشن در محوطه شکمی (Geng et al., 2004). داده‌های مربوطه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار و ۴ تکرار و با استفاده از روش GLM نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (SAS 9.1) مقایسه

1. Right ventricle/total ventricle (RV/TV)

وجود عدم تأثیر معنی‌دار تیمارها بر غلظت پلاسمایی T_3 ، پرندگان تیمار CT، دارای غلظت‌های پلاسمایی پایین‌تری از هورمون T_4 در مقایسه با پرندگان تیمار NT بودند ($P < 0.05$).

معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفته است، به طوری که پرندگان تیمار CT، دارای غلظت پلاسمایی بالاتر از هورمون T_3 و غلظت پلاسمایی پایین‌تر از هورمون T_4 بودند. اما در روز ۴۲، علی‌رغم

جدول ۲. میانگین درصد هماتوکریت، هتروفیل، لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه‌های تیمار دمایی طبیعی (NT) و تیمار دمایی سرد (CT)

دوره	تیمار	هماتوکریت (%)	لنفوسیت	هتروفیل	نسبت هتروفیل به لنفوسیت
روز ۴۲ م	NT	32 ± 3^b	78 ± 3^a	28 ± 4^b	0.35^b
	CT	39 ± 2^a	55 ± 5^b	45 ± 5^a	0.62^a
	P value	0.040	0.010	0.023	-

میانگین‌های با حروف مختلف در هر ستون، اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.05$).

جدول ۳. میانگین غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 و نسبت T_4 به T_3 در پلاسمای خون جوجه‌های تیمار دمایی طبیعی (NT) و تیمار دمایی سرد (CT)

دوره	تیمار	T_3 (ng/ml)	T_4 (ng/ml)
روز ۲۱ م	NT	1.48 ± 0.06^b	6.12 ± 0.45^a
	CT	2.05 ± 0.42^a	3.07 ± 0.15^b
	P value	0.050	0.012
روز ۴۲ م	NT	1.05 ± 0.22	7.18 ± 1.12^a
	CT	1.18 ± 0.14	2.51 ± 0.75^b
	P value	NS	0.005

میانگین‌های با حروف مختلف در هر ستون، اختلاف معنی‌دار با هم دارند ($P < 0.05$).

فشار خون ریوی و آسیت در نظر گرفته می‌شود (Hucherzmire and Deruk, 1986). و این نشان از آن است که استرس سرمایی به طور قابل قبولی سبب القای موفقیت‌آمیز سندرم آسیت و افزایش فشار خون ریوی شده است.

جوجه‌های حساس به سندرم آسیت، معمولاً در ابتدای مرحله رشد نسبت به جوجه‌های همسن خود از سرعت رشد و ضریب تبدیل خوبی برخوردار هستند که این بالا بودن سرعت رشد می‌تواند فعالیت متابولیکی پرنده را بالا برده و میزان مصرف اکسیژن و متعاقباً نیاز به تأمین اکسیژن را در مقطع زمانی بالا برد و نتیجه آن ایجاد فشار بیشتر جهت تأمین اکسیژن به سیستم قلبی-ریوی است این پدیده هم

بحث و نتیجه‌گیری

در آزمایش ما، نسبت بطن راست به کل بطن (RV/TV) 0.31 در جوجه‌های تیمار دمایی سرد، در مقایسه با مقدار 0.23 برای جوجه‌های تیمار دمایی طبیعی، به دست آمد (جدول ۱) به طوری که این تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). نشان داده‌اند که تغییرات هماتولوژی و به دنبال آن تغییر در وزن بطن راست و به طور دقیق‌تر نسبت وزن بطن راست به کل بطن می‌تواند شاخص خوبی برای تشخیص بروز سندرم افزایش فشار خون ریوی است (Julian and Mirsalimi, 1992; Lurenzi et al., 2006) به طوری که نسب بطن راست به کل بطن بالاتر از 0.27 را به عنوان شاخص دقیق بروز سندرم افزایش

از طریقی افزایش فشار سرخرگ ریوی سبب اختلال در بطن راست شده و نهایتاً آسیت بروز می‌یابد و به دنبال آن نیز افزایش مرگ و میر (جدول ۱) به دلیل نارسایی‌های قلبی - ریوی ایجاد رخ می‌دهد (Hassanzadeh *et al.*, 1999).

درصد هماتوکریت، هتروفیل، و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جوجه‌های درگیر با آسیت (تیمار CT) به طور معنی‌داری بیشتر از پرندگان سالم (تیمار NT) بود (جدول ۲). افزایش هماتوکریت می‌تواند به دلیل افزایش تقاضا برای تأمین اکسیژن مورد نیاز برای نیازهای بالای متابولیسمی ایجاد شده توسط استرس سرمایه باشد. زیرا در خلال یک استرس سرمایه افزایش فعالیت متابولیسمی می‌تواند منجر به هیپوکسی شود و بدن سعی دارد با افزایش تعداد گلبول‌های قرمز این کمبود را جبران نماید. از طرفی استرس ایجاد شده در این پرندگان با تولید هورمون کورتیکوسترون می‌تواند اثر منفی بر بلوغ گلبول‌های قرمز داشته باشد و لذا گلبول‌های قرمز توانایی کافی برای حمل اکسیژن را نداشته و بنابراین تولید گلبول‌های قرمز به طور کنترل‌نشده‌ای ادامه پیدا می‌کند و نتیجه این پدیده افزایش هماتوکریت و ویسکوزیته خون خواهد بود (Luger *et al.*, 2001; 2003; Fathi *et al.*, 2011, 2012).

افزایش هتروفیل و بخصوص افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در پرندگان درگیر با آسیت (تیمار CT) (جدول ۲) می‌تواند دلیلی بر شدت استرس وارد شده به این پرندگان باشد. هیپوکسی می‌تواند به عنوان یک استرس فیزیولوژیکی سبب افزایش ترشحات استروئیدی در پرندگان گردد. افزایش هورمون‌های استروئیدی هم زمان که سبب کاهش تعداد لنفوسیت‌های خون می‌گردد، می‌تواند با اثر بر رسپتورهای هتروفیلی، سبب افزایش آزادسازی و نتیجتاً افزایش درصد هتروفیل‌ها به لنفوسیت‌ها در جریان عمومی خون گردد (Maxwell *et al.*, 1990).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی از نتایج به دست آمده از این تحقیق، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که شرایط استرس حاد سرمایه می‌تواند سبب ایجاد یک پاسخ فیزیولوژیکی گردد که نتیجه آن افزایش ترشح هورمون کورتیکوسترون بوده و به دنبال آن افزایش تولید گلبول‌های قرمز خون و هماتوکریت رخ می‌دهد. همچنین استرس سرمایه می‌تواند سبب افزایش

احتمالاً با افزایش تبدیل T_4 به T_3 ، در کبد و کلیه‌ها، سبب افزایش متابولیسم در جهت جبران کاهش دمای بدن پرند گردد.

هورمون‌های استروئیدی گردد که نتیجه آن نیز کاهش تعداد لنفوسیت‌ها و افزایش گیرنده‌های هتروفیل‌ها باشد. علاوه بر این، استرس سرمایی

REFERENCES

- Fathi M, Tanha T, Nazer Adl K, Ebrahim Nezhad Y, Aghdam Shahryar H, Daneshyar M (2012) Plasma Enzymes activities and antioxidant status characterization in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in broilers. *African Journal of Agricultural Research*, 7(5), 1414-1419.
- Fathi M, Tanha T, Nazer Adl K, Ebrahim Nezhad Y, Aghdam Shahryar H, Daneshya M (2011) The role of oxidative stress in the development of congestive heart failure (CHF) in broilers with pulmonary hypertension syndrome (PHS). *Journal of animal and veterinary advanced*. 10(20): 2724-2729.
- Geng AL, Guo YM, Yang Y (2004) Reduction of Ascites Mortality in Broilers by Coenzyme Q₁₀. *Poult. Sci.* 83: 1587-1593.
- Hassanzadeh M, Bozorgmehri Fard M, Buyse J, Decuypere E (1999) The influence of altitude on ascites incidence, performance and metabolic parameters of broiler chicken. 12th European symposium on poultry nutrition, 15-19 August, (the netherlands).
- Huchzermeyer FW, DeRuyck AMC (1986) Pulmonary hypertension syndrome associated with ascites in broilers. *Vet. Rec.* 119:94.
- Julian RJ, Mirsalimi SM (1992) Blood oxygen concentration of fast-growing and slow-growing broiler chickens, and chickens with ascites from right ventricular failure. *Avian Dis.* 36:730-732.
- Luger D, Shinder D, Rzepakovsky V, Rusal M, Yahav S (2001) Association between weight gain, blood parameters, and thyroid hormones and the development of ascites syndrome in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80: 965-971.
- Luger D, Shinder D, Yahav S (2002) Hyper- or hypothyroidism: its association with the development of ascites syndrome in fast growing chickens. *Gen. Comp. Endocrinol.* 127: 293-299.
- Luger D, Shinder D, Wolfenson D, Yahav S (2003) chickens: A possible role of corticosterone Erythropoiesis regulation during the development of ascites syndrome. *J. Anim. Sci.* 81: 784-790.
- Lorenzoni AG, Ruiz-Feria CA (2006) Effects of vitamin E and l-arginine on Cardiopulmonary function and ascites parameters in broilers chickens reared under sub-normal temperatures. *Poult. Sci.* 85: 2241-2250.
- Maxwell MH, Robertson GW, McCorquodale CC (1992) Whole blood and plasma viscosity values in normal and ascetic broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 33: 871-877.
- Shlosberg A, Bellaiche M, Zeitlin G, Yaacobi M, Cahaner A (1999) Hematocrit values and mortality from ascites in coldstressed broilers from parents selected by hematocrit. *Poult. Sci.* 75: 1-5.
- Yahav S, Straschnow A, Plavnik I, Hurwitz S (1997) Blood system response of chickens to changes in environmental temperature. *Poult. Sci.* 76: 627-633.
- Yahav S, Straschnow A, Plavnik I, Hurwitz S (1996) Effects of diurnally cycling versus constant temperatures on chicken growth and food intake. *Br. Poult. Sci.* 37: 43-54.