



## Bioinformatics analysis of differentially gene expression profiles related to heat stress in brain, liver, and leg muscle of broiler chickens based on microarray technique

Mohammad Soleiman Ekhtiyari<sup>1</sup>, Arash Javanmard<sup>2✉</sup>, Farzad Ghafouri<sup>3</sup>,  
Ayeh Sadat Sadr<sup>4</sup>, Seyed Reza Miraei-Ashtiani<sup>5</sup>, Masoud Shirali<sup>6</sup>

1. Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran. Email: [mohamadsolimanekhtiyari@gmail.com](mailto:mohamadsolimanekhtiyari@gmail.com)

2. Corresponding author, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. Email: [a.javanmard@tabrizu.ac.ir](mailto:a.javanmard@tabrizu.ac.ir)

3. Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: [farzad.ghafouri@ut.ac.ir](mailto:farzad.ghafouri@ut.ac.ir)

4. Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran Email: [a.sadr@areeo.ac.ir](mailto:a.sadr@areeo.ac.ir)

5. Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: [ashtiani@ut.ac.ir](mailto:ashtiani@ut.ac.ir)

6. Agri-Food and Biosciences Institute, Hillsborough, UK and Assistant professor, School of Biological Sciences, Queen's University Belfast, Belfast, UK. Email: [m.shirali@qub.ac.uk](mailto:m.shirali@qub.ac.uk)

Article Info	ABSTRACT
<p><b>Article type:</b> Research Article</p> <p><b>Article history:</b> Received: 30 November 2021 Received: 2 August 2022 Accepted: 5 August 2022 Published online: 23 September 2023</p> <p><b>Keywords:</b> <i>Broiler chickens,</i> <i>Gene expression,</i> <i>Heat stress,</i> <i>Hub genes,</i> <i>System biology.</i></p>	<p>In the poultry industry, the heat stress caused by high environmental temperature has a negative influence on broiler chicken performance and has become a major challenge. Transcriptome profile analysis of the data and identification of patterns of differential gene expression in related tissues can be involved in the discovery of molecular mechanisms resistant to heat stress. The main purpose of this study was to use transcriptome profiles of three tissues brain, liver, and leg muscle of two groups of the control and heat stress broiler chickens to identify candidate genes associated with heat stress. By the analysis of microarray data to express the gene differences, 657 significant genes (<math>P &lt; 0.05</math>) were extracted, which a total of 94 genes showed significant expression differences (<math>FDR &lt; 0.05</math>, Fold change <math>&gt; \pm 2</math>). Then, by studying the ontology of the relevant genes resulting from data analysis and literature mining as well as the reconstructed protein-protein interaction network, hub genes including NSDHL, DHCR24, LSS, FDPS, PCK1, ACTA1, HSP90AA1, HSPA2, HSPB1, HSF1, CRYAB, APOB, and IL6 were identified. Annotation results of these genes indicated that they have a role in the main process of metabolic and signaling pathways related to the ion transport system, steroid, antibodies, cholesterol biosynthesis, lipid metabolism, immune system function, and various signaling pathways such as MAP kinase, RET, and ERK. Overall, the present study can provide new insights into evidence of the pathways activated by these genes to identify effective genes and a better understanding of biological processes related to heat stress.</p>

**Cite this article:** Ekhtiyari, M. S., Javanmard, A., Ghafouri, F., Sadat Sadr, A., Miraei-Ashtiani, S. R., & Shirali, M. (2023). Bioinformatics analysis of differentially gene expression profiles related to heat stress in brain, liver, and leg muscle of broiler chickens based on microarray technique. *Iranian Journal of Animal Science*, 54 (3), 329-20. DOI: <http://doi.org/10.22059/IJAS.2022.334755.653860>



### Extended Abstract

#### Introduction

Transcriptome analysis is an important and valuable tool for identifying genes and their function in the mechanism of action of heat stress and for identifying the inherent genetic mechanisms to deal with it. Transcriptome analysis is actually a method of determining and identifying gene activity and expression. Using the resulting gene expression pattern, it is possible to uncover how biological systems are regulated at the

transcriptional level. Therefore, the main objective of the current research is to identify candidate genes, using the analysis of samples based on microarray technology, in relation to the three tissues brain, liver and thigh muscles in two groups of broilers under control and under heat stress, to verify their expression levels as significant expression in the control group compared to those under heat stress.

### **Materials and Methods**

This dataset contains the expression information of three tissues of brain, liver and thigh muscles belonging to the research of China in 2012. For each tissue, a total of 6 specimens (three specimens as control (at a temperature of 281 °C in the growth hall) and three specimens under heat stress (at a temperature of 401 °C in the growth hall), totaling 18 specimens, were used. Analysis of microarray data on expression of gene differences extracted 657 significant genes ( $P < 0.05$ ). with a total of 94 genes that show significant differences in expression ( $FDR < 0.05$ , fold change  $> 2$ ). Subsequently, the ontology of the relevant genes emerging from the data analysis and literature review as well as the reconstructed protein-protein interaction network is examined.

### **Results and discussion**

Interestingly, the results of this work highlighted different hub genes NSDHL, DHCR24, LSS, FDPS, PCK1, ACTA1, HSP90AA1, HSPA2, HSPB1, HSF1, CRYAB, APOB and IL6. Annotation results of these genes indicate that they play a role in the main process of metabolic and signaling pathways related to ion transport system, steroids, antibodies, cholesterol biosynthesis, lipid metabolism, immune system function and various signaling pathways such as MAP kinase. RET and ERK.

### **Conclusion**

In general, identified genes (particularly hub genes) from data analysis and resource review in various metabolic and signaling pathways related to the ion transport system, steroid, antibody and cholesterol biosynthesis, lipid metabolism, immune system function, and various signaling pathways. Like MAP kinase, RET, and ERK play a role that may help improve our understanding of the important role of the three tissues brain, liver, and thigh muscles in performance and resilience to thermal stress in poultry and provide important molecular evidence for this association The level of gene expression in these tissues, along with other layers of omics, may lead to genetic enhancement of this trait in broilers and breeding strategies in the poultry industry.

**Keywords:** Broiler chickens, Gene expression, Heat stress, Hub genes, System biology



## آنالیز بیوانفورماتیکی پروفایل‌های بیان افتراقی ژنی مرتبط با استرس گرمایی در سه بافت مغز، کبد و ماهیچه ران جوجه‌های گوشتی مبتنی بر تکنیک ریز آرایه

محمد سلیمان اختیاری<sup>۱</sup> | آرش جوانمرد<sup>۲</sup> | فرزاد غفوری<sup>۳</sup> | آیه سادات صدر<sup>۴</sup>  
| سیدرضا میرائی آشتیانی<sup>۵</sup> | مسعود شیرعلی<sup>۶</sup>

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: [mohamadsolimanekhtiari@gmail.com](mailto:mohamadsolimanekhtiari@gmail.com)
۲. نویسنده مسئول، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: [a.javanmard@tabrizu.ac.ir](mailto:a.javanmard@tabrizu.ac.ir)
۳. گروه مهندسی علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [farzad.ghafouri@ut.ac.ir](mailto:farzad.ghafouri@ut.ac.ir)
۴. مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش، اهواز، ایران. رایانامه: [a.sadr@areeo.ac.ir](mailto:a.sadr@areeo.ac.ir)
۵. گروه مهندسی علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [ashtiani@ut.ac.ir](mailto:ashtiani@ut.ac.ir)
۶. مؤسسه تحقیقات کشاورزی، غذا و علوم زیستی، هیلزبرا، انگلستان و استادیار دانشگاه بلفست، بلفست، انگلستان. رایانامه: [m.shirali@qub.ac.uk](mailto:m.shirali@qub.ac.uk)

اطلاعات مقاله	چکیده
<p><b>نوع مقاله:</b></p> <p>مقاله پژوهشی</p> <p><b>تاریخ دریافت:</b> ۱۴۰۰/۰۹/۰۹</p> <p><b>تاریخ بازنگری:</b> ۱۴۰۱/۰۵/۱۱</p> <p><b>تاریخ پذیرش:</b> ۱۴۰۱/۰۵/۱۴</p> <p><b>تاریخ انتشار:</b> ۱۴۰۲/۰۷/۰۱</p> <p><b>کلیدواژه‌ها:</b></p> <p>استرس گرمایی، بیان ژن، جوجه‌های گوشتی، ژن‌های هاب، سیستم بیولوژی.</p>	<p>در صنعت پرورش طیور، استرس گرمایی ناشی از دمای بالای محیط، بر عملکرد حیوانات تأثیر منفی دارد و به یک چالش اساسی تبدیل شده است. آنالیز پروفایل ترانسکریپتوم داده‌ها و شناسایی الگوهای بیان افتراقی ژن در بافت‌های مرتبط می‌تواند در کشف سازوکارهای مولکولی مقاوم به استرس حرارتی نقش داشته باشد. در پژوهش حاضر، هدف اصلی استفاده از پروفایل ترانسکریپتوم سه بافت مغز، کبد و ماهیچه ران دو دسته از جوجه‌های گوشتی گروه کنترل و گروه تحت استرس گرمایی، بمنظور شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با استرس گرمایی است. در تجزیه داده‌های ریزآرایه برای مقایسه بیان ژنی، ۶۵۷ ژن معنی‌دار (<math>P &lt; 0.05</math>) استخراج شد که در مجموع ۹۴ ژن تفاوت بیانی معنی‌داری نشان دادند (<math>FDR &lt; 0.05</math>, Fold change <math>&gt; \pm 2</math>). بررسی حاشیه‌نویسی ژن‌های مربوطه حاصل از آنالیز داده‌ها و مرور منابع و همچنین شبکه تعاملی پروتئین-پروتئین بازسازی شده، ژن‌های هاب شامل ژن‌های NSDHL، DHCR24، LSS، FDPS، PCK1، ACTA1، HSP90AA1، HSPA2، HSPB1، HSF1، CRYAB، APOB، IL6 و شناسایی شدند. بررسی نتایج حاشیه‌نویسی این ژن‌ها ثابت کرد که در فرآیند اصلی مسیرهای متابولیک و سیگنالینگ مرتبط با سیستم حمل‌ونقل یونی، بیوسنتز استروئیدها، آنتی‌بادی‌ها و کلسترول، متابولیسم لیپیدها، عملکرد سیستم ایمنی بدن و مسیرهای سیگنالی مختلف مانند کیناز MAP، RET و ERK دارای نقش می‌باشند. در نهایت پژوهش حاضر می‌تواند آفاق جدیدی از شواهد را با در نظر گرفتن مسیرهای فعال شده توسط این ژن‌ها برای شناسایی ژن‌های مؤثر و درک بهتر فرآیندهای زیستی مرتبط با تنش گرمایی ارائه دهد.</p>

**استناد:** اختیاری، محمد سلیمان؛ جوانمرد، آرش؛ غفوری، فرزاد؛ صدر، سادات صدر، آیه؛ میرائی آشتیانی، سیدرضا؛ و شیرعلی، مسعود (۱۴۰۲). آنالیز بیوانفورماتیکی پروفایل‌های بیان افتراقی ژنی مرتبط با استرس گرمایی در سه بافت مغز، کبد و ماهیچه ران جوجه‌های گوشتی مبتنی بر تکنیک ریزآرایه. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۴ (۳)، ۲۰-۱۱۱۱۱۱۱۱. DOI: <http://doi.org/10.22059/IJAS.2022.334755.653860>



