Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

Gene network analysis to identify hub genes and biological pathways associated with mastitis in dairy cows based on bioinformatics analysis

Zahra Roudbari

*Corresponding author, Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran. E-mail address: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir

Saideh Eskandarynasab Siahkoohi

PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabul, Zabul, Iran. E-mail address: saideh.skandary68@gmail.com

Fatemeh Mohammadinejad

PhD of animal breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: mohammadinejad298@gmail.com

Abstract

Objective

Mastitis, a significant infectious ailment affecting dairy cows during both dry and lactation periods, has substantial impacts on animal health, economic profitability, and the dairy industry each year. This study seeks to utilize bioinformatics analysis not only to identify hub genes and biological pathways linked to mastitis in dairy cows but also to gain a deeper understanding of its implications.

Materials and methods

21 microarray data samples were obtained from the GEO database (accession number GSE24217), comprising 9 healthy cow tissue samples and 12 E. coli infected tissue samples. These samples were assessed using GEO2R. Differentially expressed genes were identified based on two criteria: adjP-value > 0.05 and |LogFC| ≥ 1. Hub genes were identified using the CytoHubba plugin in Cytoscape software and topological analysis methods (DMNC, MCC, MNC, DEGREE). Signaling pathways were identified using the STRING tool based on an FDR > 0.05 index.

Results

Out of 631 differentially expressed genes, 136 had low expression, and 495 had high expression in infected breast tissue compared to healthy ones. Among these, 205 genes were co-expressed in the network. 12 hub genes, including CCL19, ALB, GAPDH, PTPRC, ICAM1, IL6, IL1B, IL18, CXCL8, CCL20, CXCL16, and CCL3, were identified. The analysis of biological pathways revealed that the studied genes are involved in 66 biological pathways, with NOD-like receptor signaling pathway, TNF signaling pathway, and IL-17 signaling pathway playing important functional roles in dairy cow mastitis disease.

Conclusions

The discovered genes and pathways have the potential to enhance our knowledge of the complex molecular mechanisms involved in mastitis development. These discoveries could shape a thorough reform initiative focused on preventing, diagnosing, and treating mastitis. These insights are expected to pave the way for the creation of precise and dependable biomarkers for early detection and prevention of bovine *E. coli* mastitis, ultimately facilitating personalized treatment approaches.

Keywords: Bioinformatics, Biological pathways, Hub genes, Mastitis.

Paper Type: Research Paper.

Citation Roudbari Z, Eskandarynasab S, Mohammadinejad F (2024) Gene network analysis to identify hub genes and biological pathways associated with mastitis in dairy cows based on bioinformatics analysis. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (2), 177-194.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (2), 177-194. DOI: 10.22103/jab.2024.22330.1515

Received: March 04, 2024. Received in revised form: April 19, 2024.

Accepted: April 20, 2024. Published online: May 31, 2024.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۶۷۰۵-۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۶۵۰۰-۲۲۲۸

تحلیل شبکه ژنی جهت شناسایی ژن‌های هاب و مسیرهای زیستی مرتبط با ورم پستان در گاو شیری بر پایه آنالیز بیوانفورماتیک

زهرا رودباری

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران. رایانامه: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir

سعیده اسکندری نسب سیاهکوهی

دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: saideh.skandary68@gmail.com

فاطمه محمدی نژاد

دکتری اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: mohammadinejad298@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۱

چکیده

هدف: ورم پستان یک بیماری عفونی در دوران خشکی و شیردهی گاو شیری است که اثرات مخرب شناخته شده‌ای بر سلامت حیوانات و سود اقتصادی دارد و هر ساله خسارت زیادی به صنعت لبنیات وارد می‌کند. هدف از این تحقیق شناسایی ژن‌های هاب و مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با بیماری ورم پستان در گاو شیری با استفاده از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک است.

مواد و روش‌ها: مجموع ۲۱ نمونه داده ریزآرایه شامل ۹ نمونه از بافت گاو سالم و ۱۲ نمونه از بافت آلوده به *E.coli* از پایگاه داده GEO با شماره دسترسی GSE24217 استخراج و با استفاده از GEO2R مورد ارزیابی قرار گرفت. و سپس بر اساس دو معیار adjP-value <۰/۰۵ و |LogFC| ≥۱ ژن های متفاوت بیان مشخص گردید. افزونه CytoHubba در نرم‌افزار Cytoscape و روش‌های تحلیل توپولوژیکی DEGREE, MNC, MCC, DMNC برای شناسایی ژن‌های هاب استفاده شد.. جهت شناسایی مسیرهای سیگنالدهی از ابزار STRING بر اساس شاخص FDR <۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج: در مجموع ۶۳۱ ژن بیان متفاوت داشتند که از این بین تعداد ۱۳۶ ژن در بافت پستان آلوده نسبت به سالم بیان پایین و ۴۹۵ ژن بیان بالا داشتند. از این تعداد ۲۰۵ ژن تشکیل شبکه هم‌بیانی دادند. ۱۲ ژن هاب شامل *GAPDH*، *ALB*، *CCL19*، *PTPRC*، *ICAM1*، *IL6*، *IL1B*، *IL18*، *CXCL8*، *CCL20*، *CXCL16*، *CCL3* شناسایی شد. نتایج تجزیه و تحلیل مسیرهای بیولوژیکی نشان داد که لیست ژنی مورد مطالعه در ۶۶ مسیر بیولوژیکی نقش دارند که NOD-like receptor signaling pathway، TNF signaling pathway، IL-17 signaling pathway نقش عملکردی مهمی در بیماری ورم پستان گاو شیری دارند.

نتیجه‌گیری: ژن‌ها و مسیرهای پیشنهاد شده ممکن است منجر به درک بیشتری از مکانیسم‌های مولکولی موثردر بیماری ورم پستان شود و می‌توان در برنامه اصلاحی پیشگیری و تشخیص زودرس ورم پستان و اهداف درمانی این عفونت در نظر گرفت. پیش‌بینی می‌شود که این نتایج ممکن است نشانگرهای زیستی دقیق‌تر و عملاً قابل اعتمادتری را برای تشخیص زودهنگام و پیشگیری و درمان فردی ورم پستان *E. coli* گاوی ارائه دهند.

کلیدواژه‌ها: بیوانفورماتیک، ژن‌های هاب، مسیرهای بیولوژیکی، ورم پستان.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: رودباری زهرا، اسکندری نسب سیاهکوهی سعیده، محمدی نژاد فاطمه (۱۴۰۳) تحلیل شبکه ژنی جهت شناسایی ژن‌های هاب و مسیرهای زیستی مرتبط با ورم پستان در گاو شیری بر پایه آنالیز بیوانفورماتیک. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۶(۲)، ۱۷۷-۱۹۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

ورم پستان گاوی به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های صنعت گاوداری، علاوه بر ضررهای اقتصادی و مختل کردن رفاه حیوانات تهدیدی برای سلامت انسان است که گاوهای شیری را در دوره‌های خشکی و شیردهی درگیر می‌کند و هر ساله خسارت زیادی به صنعت لبنیات وارد می‌کند (Hamed et al. 2020). این بیماری نه تنها منجر به تلفات مستقیم به دلیل هزینه‌های درمان، دامپزشکی و مرگ و میر می‌شود، بلکه منجر به کاهش تولید و کیفیت شیر، چالش های تولید مثل و افزایش نرخ حذف می‌شود (Ruegg 2017). شایان ذکر است که تأثیر اقتصادی ورم پستان بسته به شدت بیماری، شیوه‌های مدیریتی موجود، و اثربخشی اقدامات پیشگیرانه و پروتکل‌های درمانی متفاوت است. اجرای شیوه‌های خوب دامپروری، بهداشت صحیح شیردوشی و

مراقبت‌های دامپزشکی به موقع می‌تواند به کاهش عواقب اقتصادی ورم پستان در گاوهای شیری کمک کند. تا به امروز، روش مرسوم درمان ورم پستان *E. coli* استفاده از آنتی‌بیوتیک بوده است. با این حال، درمان با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها اغلب کمتر از ۵۰ درصد مؤثر است و در بسیاری از موارد منجر به حذف زودرس می‌شود (Schmelcher et al. 2015). همچنین استفاده از آنتی‌بیوتیک برای درمان ورم پستان عوارض جانبی بر سلامت انسان ایجاد می‌کند (Barlow 2011). از این‌رو، ادامه تحقیقات در مورد گزینه‌های جایگزین برای درمان ورم پستان *E. coli* برای کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌ها و به حداقل رساندن عوارض جانبی بر سلامت انسان مهم است. تشخیص و درمان ورم پستان ناشی از *E. coli* می تواند از طریق علائم بالینی، کشت باکتریولوژیک و نشانگرهای زیستی انجام شود. درک عمیق‌تر از مکانیسم مولکولی ورم پستان *E. coli* ممکن است راه های جدیدی را برای مبارزه با این بیماری پرهزینه نشان دهد. بررسی مولکولی جامع ورم پستان *E. coli* ممکن است به شناسایی بیومارکرهای جدید برای تشخیص سریع و درمان کمک کند (Li et al. 2019). به‌علاوه، مطالعات و بررسی‌های به عمل آمده در اواخر دهه ۸۰ میلادی روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشتمل بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (Barazandeh et al. 2016a; Safaei et al. 2022). DNA یک سلول از تعداد زیادی ژن تشکیل شده است که هیچ گاه همه به طور همزمان بیان نمی‌شوند و در هر لحظه فقط تعداد کمی از آنها بیان شده و پروتئین یا آنزیم مورد نیاز سلول را تولید می‌نمایند (Barazandeh et al. 2016b). محیطی که موجود در آن رشد می‌کند مشخص می‌کند که آیا ژن بیان شود و یا این که نیازی به فرآورده آن نیست و باید غیرفعال و یا خاموش شود (Bordbar et al. 2022; Jafari Ahmadabadi et al. 2023). ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری *E.coli* کشف شد (Mohamadipoor et al. 2021; Masoudzadeh et al. 2020). ژن‌های یوکاریوتی بیان‌شان تحت کنترل موقت و چندبعدی است. در هر یک از انواع بافت‌ها تنها یک مجموعه نسبتاً کوچک از تمام ژنوم بیان می‌شود و نیز بیان ژن‌ها به مرحله نمو بستگی دارد (Masoudzadeh et al. 2020). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت اختصاصی است. همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (Mohammadabadi et al. 2021; Shokri et al. 2023). یکی از اقدامات اساسی در بهنژادی ملکولی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات مهم و مطالعه آنها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Mohammadinejad et al. 2022; Shahsavari et al. 2022). فناوری ریزآرایه یک ابزار آزمایشگاهی است که می تواند به سرعت اطلاعات بیان ژن را در حیوانات مبتلا به بیماری عفونی تشخیص دهد، به ویژه این فناوری برای غربالگری ژن با بیان متفاوت (DEG[1]) مناسب است. با استفاده گسترده از فناوری ریزآرایه، مقدار زیادی داده خام در مورد بیان ژن تولید شده که بیشتر آن ها در پایگاه‌های داده عمومی ذخیره شده‌اند (Zhu et al. 2021). در سال‌های اخیر، بسیاری از مطالعات تجزیه و تحلیل داده‌های ریزآرایه در مورد ورم پستان *E. coli* انجام شده است و صدها DEG شناسایی

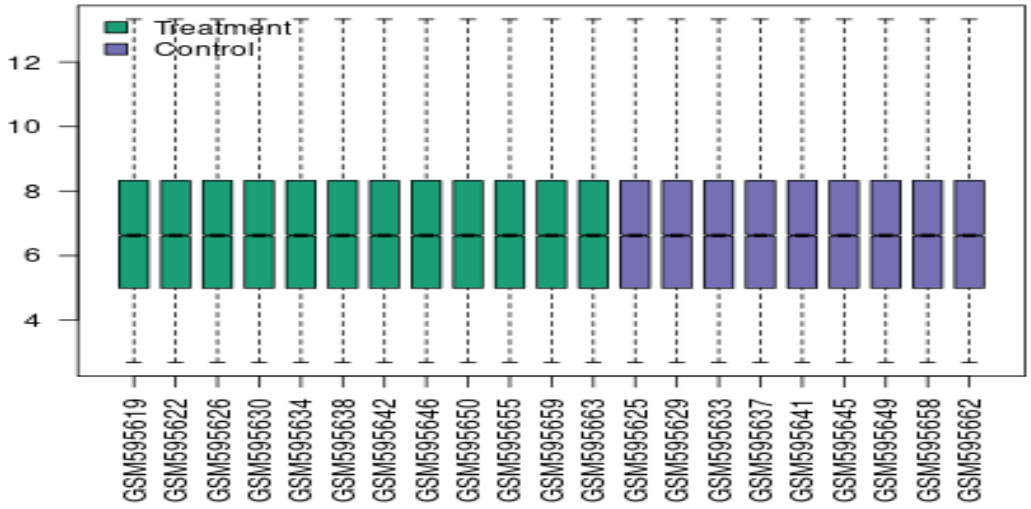
[1] Differentially expressed genes

شده‌اند (Zhu et al. 2021). نتایج مطالعات مختلف مستقل همیشه توسط نمونه‌هایی با محیط، نژاد، جمعیت و تفاوت‌های حیوانی خاص محدود می‌شود. بنابراین، استفاده از ژن‌های متفاوت بیان شده به دست آمده در یک مطالعه مستقل به عنوان نشانگرهای زیستی ورم پستان *E. coli* دشوار است. بیوانفورماتیک امکان شناسایی ژن‌های هاب و مسیرهای بالقوه مرتبط با ورم پستان در گاوهای شیری، اطلاعات ارزشمند برای برنامه‌های اصلاح نژاد و رویکردهای جدید برای کنترل ورم پستان از طریق انتخاب ژنتیکی را فراهم کرده است (Asselstine et al., 2022). زیرا شناسایی ژن‌های موثر بر ورم پستان می‌تواند به افزایش مقاومت در برابر این بیماری در گله‌های شیری کمک کند. تجزیه و تحلیل مجدد داده های ریزآرایه برای تحقیقات جدید می تواند چندین مزیت مانند مقرون به صرفه بودن (تجزیه و تحلیل مجدد داده‌های ریزآرایه موجود می تواند مقرون به صرفه تر از تولید داده های جدید باشد، زیرا نیاز به آزمایش‌های اضافی و جمع‌آوری نمونه را از بین می برد)، افزایش قدرت آماری (ترکیب چندین مجموعه داده ریزآرایه می‌تواند قدرت آماری را افزایش داده و دقت نتایج را بهبود بخشد. شناسایی بیومارکرهای جدید: تجزیه و تحلیل مجدد داده‌های ریزآرایه می‌تواند به شناسایی بیومارکرهای جدید برای تشخیص و درمان بیماری کمک کند)، اعتبارسنجی یافته‌های قبلی(تجزیه و تحلیل مجدد داده‌های ریزآرایه می‌تواند به اعتبار یافته‌های قبلی و شناسایی مشترکات در مطالعات مختلف کمک کند) و کاوش در سؤالات تحقیقاتی جدید (تجزیه و تحلیل مجدد داده‌های ریزآرایه می‌تواند به محققان این امکان را بدهد که سؤالات تحقیق جدیدی را که در اصل در مطالعه اصلی به آنها پرداخته نشده بود، بررسی کنند) داشته باشد (Tarca et al. 2006). هدف از مطالعه حاضر شناسایی ژن‌های هاب و بررسی مسیرهای بیولوژیکی موثر در بیماری ورم پستان گاو شیری است.

مواد و روش‌ها

مجموع ۲۱ نمونه داده ریزآرایه شامل ۹ نمونه از بافت گاو سالم و ۱۲ نمونه از بافت آلوده به *E.coli* (بافت آلوده عفونتش از نوع حاد است) از پایگاه داده GEO با شماره دسترسی GSE24217 (به طور کلی این شماره دسترسی شامل ۴۹ نمونه، که به ۳ گروه کنترل، مزمن و حاد تقسیم شده است) استخراج و با استفاده از GEO2R ارزیابی شدند. GEO2R یک ابزار وب تعاملی است که به کاربران اجازه می‌دهد تا با مقایسه دو یا چند گروه نمونه در یک سری از GEO و ژن‌های با بیان متفاوت را شناسایی کنند(Abad et al. 2015). در گام نخست این آنالیز کیفیت داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت و و نرمال‌سازی داده‌ها به روش Quantile انجام شد. نمودار جعبه‌ای و توزیع مقادیر نمونه‌های انتخاب شده بعد از نرمال‌سازی در شکل ۱ نشان داده شده است. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها به نرم‌افزار اکسل انتقال داده شدند. ژن‌های متفاوت بیان شده با adjP-value <۰/۰۵ و|LogFC| ≥۱ محدود شدند. از نرم‌افزار آنلاین STRING به منظور ساخت شبکه بین ژن‌های با بیان افتراقی استفاده شد. تجزیه و تحلیل شبکه با نرم‌افزار Cytoscape، با استفاده از افزونه CytoHubba برای شناسایی گره‌های شبکه بیولوژیکی که در واقع ژن‌های هاب می‌باشند، انجام شد. به طور خاص ازچهار روش دقیق تحلیل بیولوژیکی، شامل حداکثر مرکزیت دسته (MCC)، تراکم

مؤلفه حداکثر همسایگی (DMNC)، مؤلفه حداکثر همسایگی (MNC) و روش درجه (DEGREE) برای شناخت ژن‌های هاب استفاده شد که ویژگی‌های توپولوژیکی و نحوه امتیاز دهی هر روش متفاوت است. تجزیه و تحلیل شبکه می‌تواند به ما در درک عملکرد یک گره منفرد و همکاری بین گره‌های دیگر کمک کند. به عنوان مثال، با استفاده از مرکزیت‌های شبکه، گره‌های یک شبکه بیولوژیکی را با توجه به یک مفهوم مهم رتبه‌بندی می‌کنند و همچنین با استفاده از درجه یک پروتئین با ضروری بودن ژن آن ارتباط دارد. به عبارت دیگر، پروتئین‌هایی با درجات بالاتر به احتمال زیاد پروتئین های ضروری هستند (Chen et al. 2015). در نهایت از نرم‌افزار STRING بر اساس معیار FDR <۰/۰۵ برای شناسایی مسیرهای بیولوژیکی لیست ژنی استفاده شد.



شکل ۱. نمودار جعبه‌ای و توزیع مقادیر نمونه‌های انتخاب شده بعد از نرمال‌سازی

Figure 1. Box plot and distribution of values of selected samples after normalization

نتایج و بحث

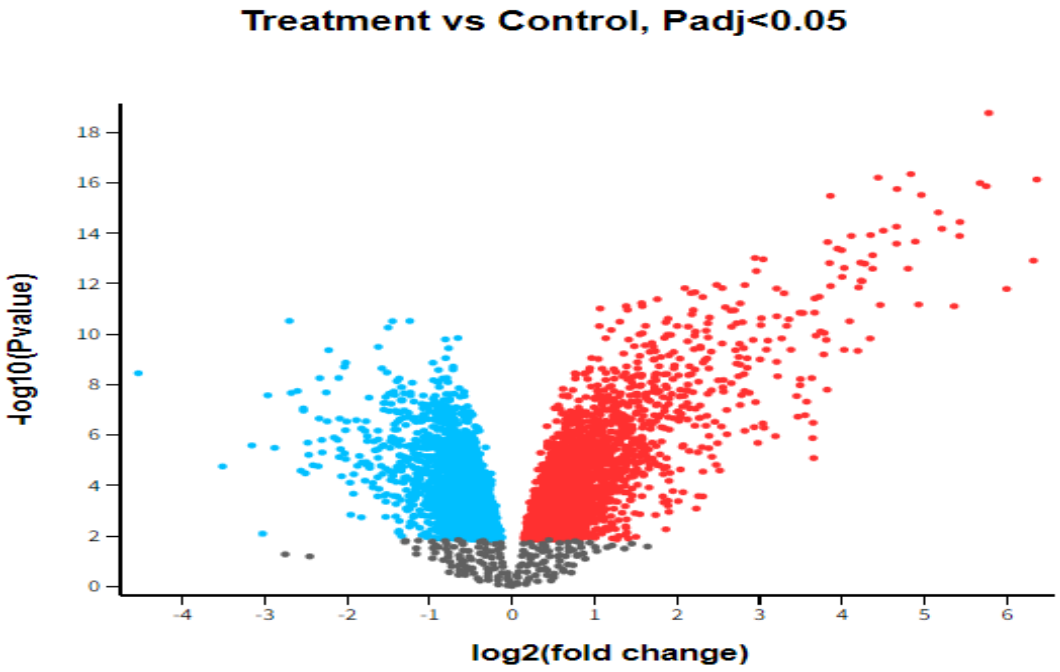
ژن‌های هاب و مسیرهای بالقوه مرتبط با ورم پستان ناشی از *E. coli* در گاوهای شیری را می توان با استفاده از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک شناسایی کرد (Darang et al. 2023). نتایج مطالعه حاضر جهت شناسایی ژن‌های کاندیدای مؤثر بر ورم پستان در گاوهای شیری نشان داد که در مجموع ۶۳۱ ژن بیان متفاوت داشتند که از این تعداد ۱۳۶ ژن بیان پایین و ۴۹۵ ژن بیان بالا دارند و تعداد ۲۰۵ ژن از مجموعه ژن های متفاوت بیان تشکیل شبکه هم بیانی دادند. نمودار آتشفشانی داده‌های متفاوت بیان براساس adjP-value در شکل ۲ آورده شده است. در مطالعه حاضر برای شناسایی ژن‌های هاب از روش‌های تحلیل توپولوژیکی DEGREE، MNC، MCC و DMNC استفاده شد. نشانگرهای مهم شناسایی شده *شامل CCL19، ALB، GAPDH، PTPRC، ICAM1، IL6، IL1B، IL18، CXCL8، CCL20، CXCL16، CCL3 CXCL8* بودند (جدول ۱). ژن *CXCL8* که با سه روش MNC، DEGREE، MCC جزء ژن‌های هاب مطالعه حاضر می‌باشد، پروتئین *IL-8* را کد می کند

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

که واسطه اصلی پاسخ التهابی است و نقش کلیدی در جذب نوتروفیل‌ها، تعدیل سلول های تومور و القای التهاب ایفا می‌کند. *CXCL8* در پاسخ ایمنی نقش دارد و ممکن است به توسعه و پیشرفت ورم پستان کمک کند (Roussel et al. 2015). هنگامی که باکتری وارد پستان می‌شود میزان ترشح کموکاین‌هایی مانند *CXCL8* و سایر اجزایی ایمنی مانند پپتیدهای ضد میکروبی و سیتوکین‌های پیش‌التهابی از جمله *IL6* افزایش می‌یابد، *CXCL8* در شیر حیوانات مبتلا به ورم پستان تشخیص داده می‌شود و در التهاب پستان هم نقش دارد. پس از عفونت پستان به *E. coli* ، بیان ژن های *CCL20* و *CXCL8* به میزان ۵۸ برابر افزایش می‌یابد (Roussel et al. 2015). *CXCL8* از طریق *CXCR2* سیگنال می‌دهد تا نوتروفیل را فعال کند. قبل از اینکه آن‌ها را به مکان‌های عفونت هدایت کند چسبندگی آن‌ها را به آندوتلیوم افزایش می‌دهد، *CXCL8* آزاد شده توسط سلول‌های اپیتلیال، سلول‌های آندوتلیال و ماکروفاژها برای فعال‌سازی و جذب نوتروفیل بسیار مهم است و نشان داده شده است ارتباط قابل‌توجهی با ورم پستان گاو شیری دارد (Chen et al. 2015). ژن *CXCL16* پروتئین *CXCL16* را کد می‌کند و از جمله ژن‌های هاب در مطالعه حاضر می‌باشد که در پاسخ ایمنی نقش دارد ، به عنوان واسطه‌ای برای ایمنی ذاتی عمل می کند و تجمع سلول‌های ایمنی را تنظیم می کند. این ژن ممکن است در تهاجم سلول های التهابی، به ویژه نوتروفیل‌ها، به غده پستانی در طول ورم پستان نقش داشته باشد. گزارش شده *CXCL16* توسط سیتوکین های پیش التهابی افزایش می‌یابد که برای تجمع سلول‌های ایمنی در مکان‌های واکنش التهابی مهم است (Kobayashi et al. 2021). هجوم سلول‌های التهابی به ویژه نوتروفیل‌ها به داخل غده پستانی یکی از ویژگی‌های بارز عفونت غده پستانی است و *CXCL16* یکی از ژن‌هایی که ممکن است در این فرایند دخیل باشد (Zheng et al. 2006). نسبت به سایر ژن‌های هاب شناسایی شده اطلاعات محدودی در مورد نقش خاص ژن *CXCL16* در ورم پستان وجود دارد. توجه به این نکته مهم است که ممکن است تحقیقات بیشتری برای تعیین ارتباط بالقوه بین ژن *CXCL16* و ورم پستان و درک کامل مکانیسم‌ها و عملکردهای خاص *CXCL16* در ورم پستان مورد نیاز باشد. ژن های *CCL19* ، *CCL20* و *CCL3* کموکاین‌هایی هستند که در پاسخ ایمنی در طی ورم پستان نقش دارند. آنها در ارسال سلول های ایمنی به محل های التهاب و آسیب نقش دارند و به عنوان رونوشت‌های متفاوت بیان شده در غده پستانی درگیر در پاتوژنز اشریشیا کلی– ورم پستان گاوی شناسایی شده‌اند (Buitenhuis et al. 2011). در مطالعه‌ای که جو و همکاران (Ju et al. 2020) در رابطه با متیلاسیون ژنومی و رونوشت نوتروفیل‌های خون و نقش متیلاسیون DNA را در تأثیر بر رونویسی ژن‌های کد کننده پروتئین و miRNAها در گاوهای مبتلا به ورم پستان داشتند ۴۱۵ ژن با بیان متفاوت مرتبط با ورم پستان شناسایی کردند که ۳۷ ژن متفاوت بیان شده از جمله ژن‌های *IL18*، *CCL3* در نواحی QTL مربوط به ورم پستان قرار دارند و در پاسخ‌های ایمنی، التهابی و دفاعی نقش دارند (Ju et al. 2020) ژن *CCL3* به همراه پروتئین اتصال دهنده کلسیم و پروتئین اتصال‌دهنده لیپوپلی‌ساکاریدها در پاسخ ایمنی ذاتی نقش دارند. *IL1B* پروتئین دیگری است که با روش MCC به عنوان هاب شناسایی شد در فرایندهایی مانند تب، پاسخ ایمنی، تنظیم مثبت تقسیم سلولی که شواهدی را برای علت علائم بیماری ورم پستان فراهم می‌کند، درگیر می‌باشد (Jaiswal et al.

2021). هنگامی که باکتری وارد پستان می‌شود، میزبان با ترشح کموکاین‌هایی مانند *CCL20*، *CXCL8*، *CCL19* و سایر اجزای ایمنی مانند پپتیدهای ضد میکروبی و سیتوکین‌های پیش التهابی پاسخ می‌دهد، این ژن‌ها با یکدیگر مرتبط هستند و نقش‌های کلیدی در فرایندهای بیولوژیکی مرتبط با فعالیت کموکاین ایفا می‌کنند. این ژن‌ها به عنوان مهم‌ترین نشانگرهای زیستی در ورم پستان گاو شیری می‌باشند. تولید سیتوکین‌های پیش التهابی مانند *CXCL8*، *IL6* در شیر حیوانات مبتلا به ورم پستان تشخیص داده می‌شود و باعث التهاب در پستان می‌شود (Roussel et al. 2015). یکی از راه‌های تشخیص ورم پستان افزایش میزان آلبومین (ALB) در شیر است که با روش‌های DEGREE، MNC، MCC این ژن جز ژن‌های هاب شبکه قرار گرفت، در هنگام بیماری ورم پستان نسبت آلبومین نسبت به گلوبولین بالا می‌رود و این یک بیومارکر نسبتاً جدید در تشخیص بیماری ورم پستان است و باعث ایجاد سد خونی و مانع عبور پروتئین به شیر می‌شود و در غده پستان ایجاد التهاب می‌کند. آلبومین سرم جزء پروتئین‌های فاز حاد منفی است به طوری که در طی واکنش فاز حاد میزان آن کاهش می‌یابد اما در شیر جزء پروتئین‌های فاز حاد مثبت است به طوری که مشخص شده غلظت آن به طور معنی‌داری در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی نسبت به گاوهای سالم افزایش می‌یابد. به علاوه مشخص شده که آلبومین سنتز خارج کبدی دارد به طوری که توسط سلول‌های اپی‌تلیال غده پستان ساخته می‌شود و این سنتز در موارد التهاب غده پستان افزایش می‌یابد. بنابراین اندازه‌گیری آلبومین شیر ممکن است به عنوان یک ابزار کمکی و یک مارکر ارزشمند در تشخیص ورم پستان تحت بالینی به کار می‌رود (Ciftci et al. 2022).در مطالعه‌ای که (2021) Ghahramani et al در تجزیه و تحلیل ماژول‌های عملکردی ورم پستان در گاوهای شیری داشتند، شبکه‌های پروتئینی ساخته‌شده با استفاده ازنرم افزار Cytoscape نشان داد ژن *PTPRC* از جمله ژن‌های هاب شبکه است. ژن *PTPRC* که به عنوان *CD45* نیز شناخته می‌شود، در پاسخ ایمنی نقش دارد و برای ارسال سیگنال به گیرنده‌های آنتی ژن سلول‌های T و B مورد نیاز است. نقش مهمی در تنظیم سیگنال گیرنده آنتی‌ژن و تعدیل مسیرهای فعال‌سازی و سیگنال‌دهی سلول‌های ایمنی دارد و گزارش شده است که در ایجاد ورم پستان نقش دارد (Ghahramani et al. 2021). ژن *GAPDH* از دیگر ژن‌های هاب می باشد که با روش‌های DEGREE، MNC شناسایی شده است. نقش موثر ژن *GAPDH* در ورم پستان در نتایج جستجو به صراحت ذکر نشده است. با این حال، ژن *GAPDH* در تحقیقات ورم پستان برای اهداف مختلف، مانند یک ژن رفرنس، ژن کنترل داخلی و در توصیف فعالیت پروتئین استفاده شده است. در اینجا برخی از نقش ها یا کاربردهای بالقوه ژن *GAPDH* در تحقیقات ورم پستان بر اساس اطلاعات موجود آورده شده است، استافیلوکوکوس اورئوس (شایع‌ترین عامل ایجاد کننده ورم پستان گاوی) که واکسن‌های تولید شده برای کنترل این بیماری به دلیل فقدان آنتی‌بیوتیک، اثربخشی محدودی از خود نشان دادند. به دلیل فقدان آنتی‌بیوتیک ژن‌های مشترک در بیماری ورم پستان در مطالعه‌ای که Goji et al (2004) داشتند دو ژن کد کننده پروتئین با فعالیت گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*) را از سویه استافیلوکوکوس اورئوس از ورم پستان بالینی گاو جدا و شناسایی کردند پروتئین‌های *GapB* و *GapC* مشابهت قابل توجهی با محصولات *GapB* و *GapC* سویه‌های انسانی استافیلوکوکوس اورئوس دارند. این دو پروتئین را می توان با فعالیت‌های مختلف *GAPDH* و اتصال به خواص ترانسفرین گاوی متمایز کرد. پروتئین‌های *GAPDH*

ممکن است به عنوان آنتی ژن در واکسن‌ها برای محافظت در برابر عفونت‌های انگلی و میکروبی استفاده شوند به دلیل مشکلات مربوط به تولید واکسن علیه ورم پستان ناشی از سویه‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس، یعنی فقدان آنتی‌ژن مشترک برای همه استافیلوکوکوس‌های ایجاد کننده ورم پستان، از *GAPDH* به عنوان یک آنتی‌ژن هدف برای واکسن‌ها علیه عفونت‌های انگلی و باکتریایی پیشنهاد شده است (Goji et al. 2004) مولکول‌های چسبنده، مانند مولکول چسبندگی داخل سلولی یا *ICAM1* به عنوان عامل مهم در اتصال مونوسیت به داخل اندوتلیوم می‌باشد که در تحقیق حاضر هم از جمله پروتئین‌های هاب با روش MCC می‌باشد. در مطالعه ای توسط Dong et al (2014) نشان داده شد که *ICAM1* بیان mRNA به طور قابل توجهی در ۲ و ۴ ساعت پس از تزریق LPS افزایش می یابد. ورم پستان سلول های پلاسما (PCM) یکی از شایع ترین بیماری های التهابی پستان های غیر شیرده است. از نظر بافت شناسی، PCM با نفوذ پلاسمای نسبتاً بالا سلول‌ها وارد مجاری پستانی می‌شوند ولی پاتوژنز آن ناشناخته مانده است. در مطالعه‌ای مولکول چسبندگی بین سلولی *ICAM 1* و *E-selectin* را که همگی نقش‌های محوری در فرآیند التهابی دارند، در ۳۵ مورد PCM مشاهده شد. سپس نتایج را با نتایج بافت پستان غیر PCM و غیر پاتولوژیک مقایسه شد. در اپیتلیوم مجاری، رنگ پذیری *ICAM-1* به طور قابل‌توجهی در PCM نسبت به غیر PCM برجسته تر بود نتایج نشان داد که *ICAM-1* هم در اپیتلیوم مجاری و هم در اندوتلیوم نقش مهمی در فرآیند التهابی PCM ایفا می‌کند (Dong et al. 2014) . التهاب کمپلکس‌های سلولی فوق ملکولی هستند که پاسخ ایمنی ذاتی متعددی را تحریک می‌کنند که شامل فعال شدن کاسپازهای التهابی، *IL-1β* می‌شود. سیتوکین‌های پیش التهابی مانند *IL-1β* مولکول‌های مؤثری هستند که در طی فرایند پروپتوز تولید می‌شوند. سطح این سیتوکین‌ها نشان دهنده شدت پروپتوز و التهاب است. اینترلوکین ۱ بتا (*IL1B*) که با روش توپولوژیکی MCC از جمله مارکرهای هاب شناسایی شده می‌باشد که در تحقیقی دیگر به منظور شناسایی ماژول‌های ژنی و ژن‌های هاب درگیر در ورم پستان وجود ژن *IL1B* نشان داده شده است. این ژن نقش مهمی در پاسخ التهابی دارد و ممکن است در ایجاد و پیشرفت ورم پستان نقش داشته باشد (Bakhtiarizadeh et al. 2020). این ژن در فرآیندهایی مانند تولید تب، پاسخ ایمنی، و تنظیم مثبت تقسیم سلولی که شواهدی را برای علت علائم در بیماری ورم پستان فراهم می‌کند، درگیر است. همچنین گزارش شده است که *IL-1β* یک سایتوکین التهابی کلیدی است که شیردهی را در غدد پستانی به دلیل ورم پستان ضعیف می کند. سطوح بالای *IL-1β*، همراه با *IL-6* و *TNF-α*، می‌توانند اتصالات محکم آلوئولی را ضعیف کرده و تولید شیر را کاهش دهند (Kobayashi et al. 2021). تجزیه و تحلیل مسیرهای بیولوژیکی مربوط به لیست ژنی مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار STRING انجام شد و ۶۶ مسیر بیولوژیکی شناسایی شد. بعضی از این مسیرهای متابولیکی نقش عملکردی مهمی در ورم پستان گاوی دارند. که در شکل ۴ نشان داده شده‌اند. پاتوژن‌ها از طریق گیرنده‌های تشخیص الگو به سلول‌های اپیتلیال پستان حمله می‌کنند، که مسیر سیگنالدهی متفاوتی از جمله cytokine-mediated signaling pathway، NOD-like receptor را القا می‌کند.



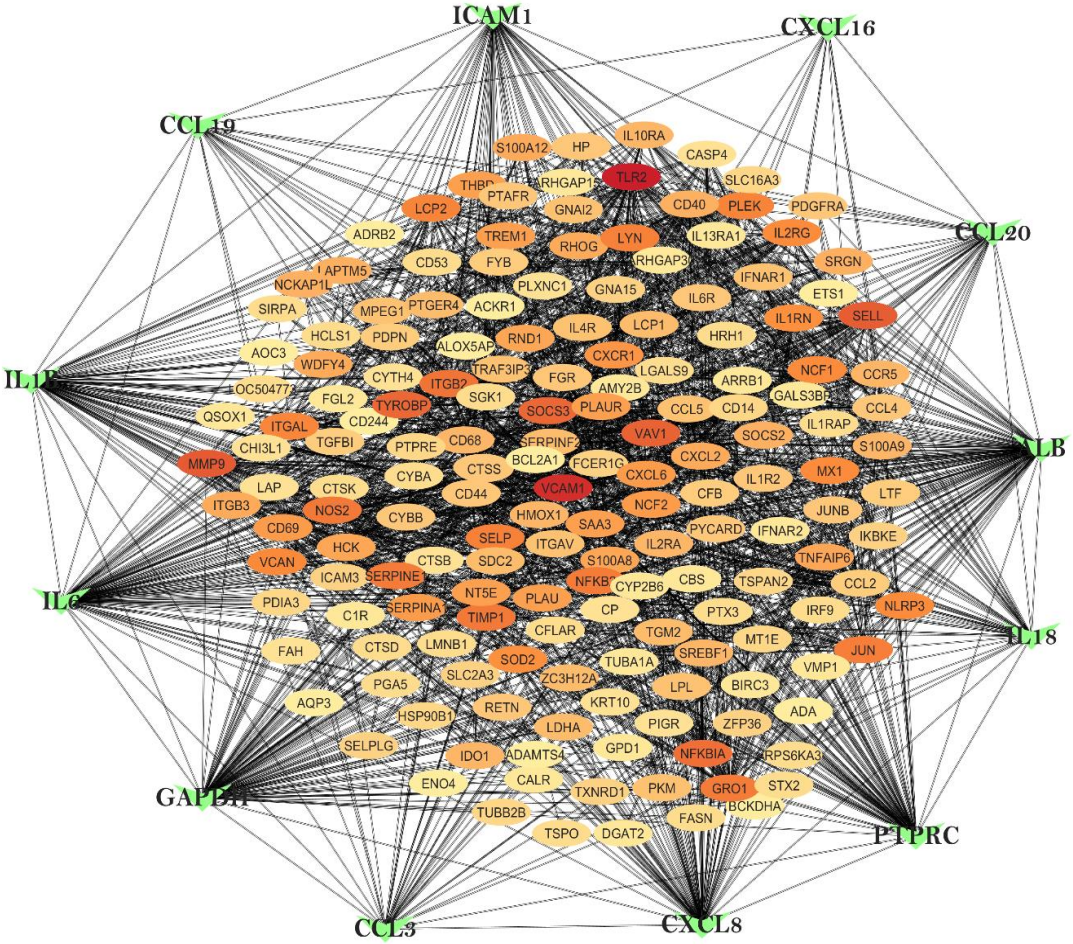
شکل ۲. نمودار آتشفشانی برای تجسم ژن های متفاوت بیان شده (ژن‌های با بیان بالا با نقاط قرمز و ژن‌های با بیان پایین با نقاط آبی) در بافت پستان آلوده به *E. coli* نسبت به بافت سالم در گاو شیری

Figure 2. The Volcano plot for illustring differentially expressed genes. Red dots represent highly expressed genes, while blue dots represent low-expressed genes in E. coli-infected mammary tissue versus healthy tissue in dairy cows

جدول ۱. ژن‌های هاب شناخته شده با روش DEGREE، MNC، MCC و DMNC

Table 1. Hub genes known by MNC, DMNC, MCC, DEGREE method

Method روش	Rank رتبه	Node گره
MCC, DEGREE, MNC	1,4,2	*CXCL8*
MCC, MNC, DEGREE	3,3,1	*IL6*
MCC	4	*ICAM1*
MCC	1	*IL1B*
MCC, MNC, DEGREE	1,3,2	*ALB*
MNC, DEGREE	1.4	*GAPDH*
MNC, DEGREE	2,1	*PTPRC*
DMNC	5	*CXCL16*
DMNC	3	*CCL3*
DMNC	1	*CCL19*
DMNC	3	*IL18*
DMNC	2	*CCL20*



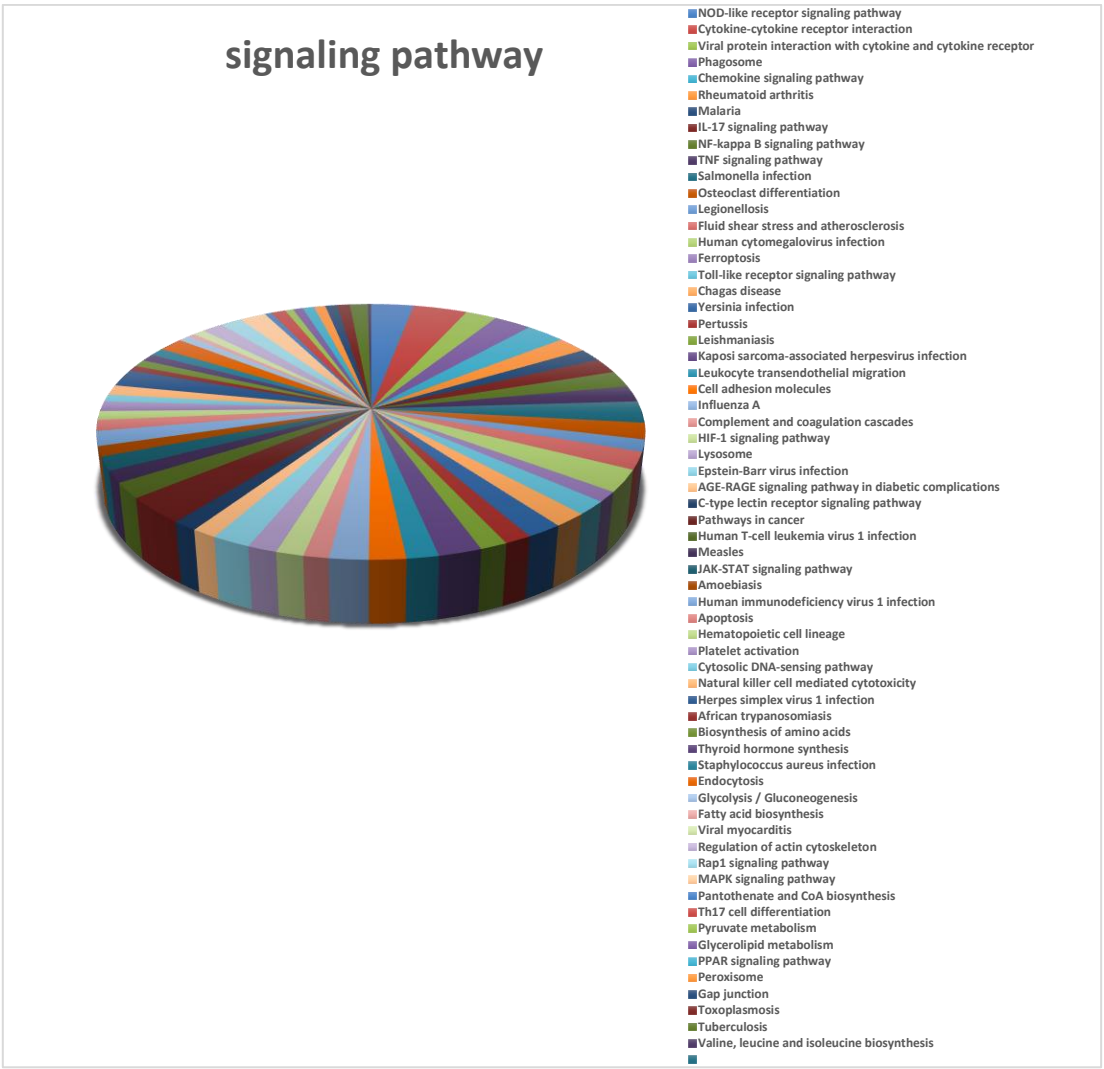
شکل ۳. شبکه ژنی براساس الگوریتم‌های DEGREE، MNC، MCC و DMNC دایره‌ها با رنگ سبز اطراف شبکه نشان دهنده ژن‌های هاب می‌باشد(شدت تغییر رنگ به سمت قرمز شدن نشان دهنده تغییر بیان از کم به زیاد است)

Figure 3. Gene network based on algorithms: MCC, MNC, DMNC, DEGREE. Green circles around the network represent hub genes (the intensity of color change towards red indicates the change of expression from low to high)

این مسیرها جزء مسیرهای شناسایی شده در مطالعه حاضر می‌باشند و منجر به ایجاد یک پاسخ التهابی می‌شوند، NOD-like receptor مسئول تشخیص پاتوژن‌های مختلف و واسطه جنبه‌های متعدد ایمنی ذاتی است (Bakhtiarizadeh et al. 2020). NOD-like receptor پاسخ‌های ایمنی و التهابی در سیستم ایمنی ذاتی پستانداران را تنظیم می‌کند، *IL-17* در شیر ۴۸-۲۴ ساعت پس از ورود پاتوژن‌ها به اوج خود می‌رسد این نشان می‌دهد که *IL-17* یک سیتوکین قابل توجه در ایجاد ورم پستان

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

می‌باشد. طبق مطالعات گذشته ورم پستان شامل گیرنده‌های TNF signaling pathways، *IL-17*، NOD-like receptor می‌باشد، در نتیجه عملکرد آن‌ها می‌توان نتیجه گرفت که این مسیرها در پاسخ‌های سیستم ایمنی به بیماری ورم پستان نقش دارند (Ghahramani et al. 2021).در مطالعه‌ای که لورنج و همکاران (Luoreng et al., 2018) درباره پروفایل بیانی miRNA با استفاده از فناوری RNAseq در گاوهای شیری مبتلا به ورم پستان ناشی از اشریشیا کلی داشتند نشان داده شد در مجموع ۲۰۰ تا miRNA با بیان متفاوت در مقاطع زمانی مختلف یافت شد. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک نشان داد که این miRNA های متفاوت بیان شده ممکن است وقوع و توسعه ورم پستان را در گاوهای شیری از طریق هفت مسیر سیگنالینگ مانند سیگنالینگ سیتوکین–سیتوکین، chemokine، MAPK که از جمله مسیرهای مورد مطالعه ما می‌باشند مؤثر است. بنابراین این مسیرهای سیگنالینگ با ایمنی مرتبط هستند (Luoreng et al., 2018). مسیر مورد مطالعه دیگر سیگنالینگ NF-kB است که با التهاب و بیماری‌های مرتبط با ورم پستان مرتبط است با داشتن چنین نقش مهمی در ایمنی و التهاب، سیگنالینگ NF-kB در حال حاضر برای اهداف درمانی در تحقیقات کنترل ورم پستان مورد هدف قرار گرفته است. عامل بیماری‌زایی، لیپوپلی‌ساکاریدها (LPS)، باکتری‌ها پس از اتصال به گیرنده‌های مشابه Toll (TLRs) روی سلول‌های اپیتلیال پستان، پاتوژنز خود را با استفاده از سیگنال دهی NF-kB برای ایجاد ورم پستان آغاز می‌کند. چندین مطالعه ثابت کرده‌اند که مسدود کردن سیگنال‌دهی NF-kB می‌تواند یک استراتژی مفید برای کنترل ورم پستان باشد. NF-kB در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی مانند بقای سلولی، پاسخ ایمنی، التهاب و توسعه نقش اساسی دارد. بنابراین، سیگنال‌دهی NF-kB که توسط TLRها تحریک می‌شود، سپس بیان رونویسی واسطه‌های التهابی خاص را برای شروع التهاب سلول‌های اپیتلیال پستانی تنظیم می‌کند. بنابراین، هرگونه تنظیم ناهنجار سیگنال دهی NF-kB ممکن است منجر به بسیاری از بیماری‌های التهابی، از جمله ورم پستان شود (Khan et al. 2020). مسیر دیگر JAK signal pathway می باشد که دنباله‌ای از ارتباطات بین پروتئین‌ها در یک سلول است و با فرآیندهای مختلفی مانند تقسیم سلولی، آپوپتوز، رشد غدد پستانی، شیردهی، ضد التهاب و ایمنی مرتبط است. این مسیر در انتقال اطلاعات از گیرنده‌های روی سطح سلول به هسته سلول و در نتیجه تنظیم ژن‌ها از طریق رونویسی نقش دارد و نقش مهمی در تنظیم ایمنی و التهاب دارد. علاوه بر این، سیگنالدهی این مسیر با رشد غدد پستانی و تولید شیر مرتبط گزارش شده است. به دلیل چنین عملکردهای مهمی مسیر JAK-STAT به طور گسترده‌ای در بیماری‌های انسان و حیوان به عنوان یک عامل درمانی مورد هدف قرار گرفته است. اخیراً، JAK2، STATها و مهارکننده‌های مسیر JAK-STAT، به ویژه سرکوبگرهای سیگنالینگ سیتوکین (SOCSs)، گزارش شده است که با تولید شیر و صفات فنوتیپی مقاوم به ورم پستان در ارتباط هستند (Khan et al. 2020).



شکل ٤. مسیرهای سیگنالدهی مرتبط با ورم پستان براساس آنالیز STRING

Figure 4. Signaling pathways related to mastitis based on STRING analysis

نتیجه‌گیری: براساس نتایج تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک مطالعه حاضر ۱۲ ژن هاب (شامل *GAPDH*، *ALB*، *CCL19*، *PTPRC*، *ICAM1*، *IL6*، *IL1B*، *IL18*، *CXCL8*، *CCL20*، *CXCL16*، *CCL3*) شناسایی شد که نقش مهمی در ورم پستان ناشی از *E. coli* ایفا می‌کنند که پتانسیل ژنهای موثر مرتبط با ورم پستان را دارند. علاوه بر این ۶۶ مسیر زیستی در مطالعه حاضر شناسایی شد که اکثر آن‌ها در بیماری ورم پستان نقش دارند. در مطالعات آینده امید است با شناسایی SNP هایی که با ژن‌های هاب مشخص شده در این مطالعه همبستگی بالایی دارند بعنوان مارکرهای مولکولی، بتوان در شیوه های اصلاح نژادی برای جلوگیری از عفونت ورم پستان با تنظیم عوامل اصلاح نژادی و ژنتیکی، اجرای شیوه های مدیریتی مناسب، استفاده از ابزارهای تشخیصی و استفاده از تجزیه و تحلیل زیست شناسی سیستم های یکپارچه برای توسعه شیوه های اصلاح نژادی استفاده کرد.

سپا سگزاری: نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از داوران و سردبیر محترم مجله به خاطر ارائه نظرهای ساختاری و علمی سپاسگزاری تمایند.

منابع

جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری‌همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.

شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن MYH7 در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۲)، ۲۱۷-۲۳۶.

وجدی حکم‌آباد صمد، علیجانی صادق، دقیق‌کیا حسین و همکاران (۱۳۹۴) مطالعه بیوانفورماتیکی بیماری ورم پستان گاو ایجاد شده توسط لیپوپلی ساکارید اشرشیاکلی با استفاده از داده‌های ریزآرایه .مجله کومش ۱۷(۱)، ۲۱۴-۲۲۳.

References

Asselstine VJ, Medrano F, Cánovas A (2022) Identification of Novel Alternative Splicing Associated with Mastitis Disease in Holstein Dairy Cows Using Large Gap Read Mapping. BMC Genomics 23(1), 1–15.

Bakhtiarizadeh MR, Mirzaei S, Norouzi M, et al. (2020) Identification of Gene Modules and Hub Genes Involved in Mastitis Development Using a Systems Biology Approach. Front Genet 11, e722.

Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi Zefrehei M, et al. (2016a) Predicting CpG Islands and Their Relationship with Genomic Feature in Cattle by Hidden Markov Model Algorithm. Iran J Appl Anim Sci 6 (3), 571-579 .

Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi Zefrehei M, et al. (2016b) Genome-wide analysis of CpG islands in some livestock genomes and their relationship with genomic features. Czech J Anim Sci 61, 487.

Barlow J (2011) Mastitis Therapy and Antimicrobial Susceptibility: A Multispecies Review with a Focus on Antibiotic Treatment of Mastitis in Dairy Cattle. J Mammary Gland Biol Neoplasia 16, 383–407.

Bordbar F, Mohammadabadi M, Jensen J, et al. (2022) Identification of candidate genes regulating carcass depth and hind leg circumference in simmental beef cattle using Illumina Bovine Beadchip and next-generation sequencing. Animals (Basel) 12 (9), e1103.

Buitenhuis B, Røntved CM, Edwards SM, et al. (2011) In Depth Analysis of Genes and Pathways of the Mammary Gland Involved in the Pathogenesis of Bovine Escherichia Coli-Mastitis. BMC Genomics 12, 1–10.

Chen X, Cheng Z, Zhang S, et al. (2015) Combining Genome Wide Association Studies and Differential Gene Expression Data Analyses Identifies Candidate Genes Affecting Mastitis Caused by Two Different Pathogens in the Dairy Cow. Open J Anim Sci 5(04), 358.

Chin CH, Chen SH, Wu HH, et al. (2014) CytoHubba: Identifying Hub Objects and Sub-Networks from Complex Interactome. BMC Syst Biol 8(4), 1–7.

Ciftci AB, Yemez K, Polat S, Yazıcıoğlu M (2022) Risk Factors and the Role of the Albumin-to-Globulin Ratio in Predicting Recurrence among Patients with Idiopathic Granulomatous Mastitis. J Inflamm Res 5401–12.

Darang E, Pezeshkian Z, Ziaeddin Mirhoseini S, Ghovvati S (2023). Identification of Key Genes and Potential Pathways Associated with Mastitis Induced by E. Coli. Biochem Genet 61(1), 202–20.

Dong Y, Yu JJ, Shibahara Y, Lu H, He HY, et al. (2014) Intercellular Adhesion Molecule 1/2 and E-Selectin in Plasma Cell Mastitis: Immunohistochemical Study of 35 Cases. Hum Pathol 45(3), 606–10.

Ghahramani N, Shodja J, Rafat SA, Panahi B, Hasanpur K (2021) Integrative Systems Biology Analysis Elucidates Mastitis Disease Underlying Functional Modules in Dairy Cattle. Front Genet 12, 712306.

Goji N, Potter AA, Perez-Casal J (2004) Characterization of Two Proteins of Staphylococcus Aureus Isolated from Bovine Clinical Mastitis with Homology to Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase. Vet Microbiol 99(3–4), 269–79.

Hamed AE, Mohammed A, Kamel E (2020) Incidence and Economics of Clinical Mastitis of Holstein Friesian Dairy Cows under Egyptian Condition. Benha Vet Med J 39(1), 119–24.

Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. J Agric Biotechnol 15 (1), 217-234 (In Persian).

Jaiswal S, Jagannadham J, Kumari J, Iquebal MA, Gurjar AK, Nayan V, Angadi UB, Kumar S, Kumar R, Datta TK (2021) Genome Wide Prediction, Mapping and Development of Genomic Resources of Mastitis Associated Genes in Water Buffalo. Front Vet Sci 8, 593871.

Ju Z, Jiang Q, Wang J, Wang X, Yang C, Sun Y, Zhang Y, Wang C, Gao Y, Wei X (2020) Genome-Wide Methylation and Transcriptome of Blood Neutrophils Reveal the Roles of

DNA Methylation in Affecting Transcription of Protein-Coding Genes and MiRNAs in E. Coli-Infected Mastitis Cows. BMC Genomics 21, 1–14.

Khan MZ, Khan A, Xiao J, Ma Y, Ma J, Gao J, Cao Z (2020) Role of the JAK-STAT Pathway in Bovine Mastitis and Milk Production. Animals (Basel) 10(11), 2107.

Kobayashi K, Matsunaga K, Tsugami Y, Wakasa H, Nishimura T (2021) IL-1β Is a Key Inflammatory Cytokine That Weakens Lactation-Specific Tight Junctions of Mammary Epithelial Cells. Exp Cell Res 409(2), 112938.

Korbecki J, Bajdak-Rusinek K, Kupnicka P, Kapczuk P, Chlubek D, Baranowska-Bosiacka I (2021) The Role of CXCL16 in the Pathogenesis of Cancer and Other Diseases. Int J Mol Sci 22(7), 3490.

Li L, Chen X, Chen Z (2019) Identification of Key Candidate Genes in Dairy Cow in Response to Escherichia Coli Mastitis by Bioinformatical Analysis. Front Genet 10, 1251.

Luoreng Z, Wang XP, Mei CG, Zan LS (2018) Expression Profiling of Peripheral Blood MiRNA Using RNAseq Technology in Dairy Cows with Escherichia Coli-Induced Mastitis. Sci Rep 8(1), 12693.

Masoudzadeh, S.H., Mohammadabadi, M.R., Khezri, A., et al. (2020) Dlk1 gene expression in different Tissues of lamb. Iran J Appl Anim Sci 10, 669-677.

Mohamadipoor L, Mohammadabadi M, Amiri Z, et al. (2021) Signature selection analysis reveals candidate genes associated with production traits in Iranian sheep breeds. BMC Vet Res 17 (1), 1-9.

Mohammadabadi M, Masoudzadeh SH, Khezri A, et al. (2021) Fennel (Foeniculum vulgare) seed powder increases Delta-Like Non-Canonical Notch Ligand 1 gene expression in testis, liver, and humeral muscle tissues of growing lambs. Heliyon 7 (12), e08542 .

Mohammadinejad F, Mohammadabadi M, Roudbari Z, Sadkowski T (2022) Identification of Key Genes and Biological Pathways Associated with Skeletal Muscle Maturation and Hypertrophy in Bos taurus, Ovis aries, and Sus scrofa. Animals (Basel) 12 (24), 3471.

Roussel P, Cunha P, Porcherie A, Petzl W, Gilbert FB, Riollet C, Zerbe H, Rainard P, Germon P (2015) Investigating the Contribution of IL-17A and IL-17F to the Host Response during Escherichia Coli Mastitis. Vet Res 46. 1–14.

Ruegg PL (2017) A 100-Year Review: Mastitis Detection, Management, and Prevention. J Dairy Sci 100(12), 10381–97.

Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An Origanum majorana Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. Animals (Basel) 13 (1), e14.

Schmelcher M, Powell AM, Camp MJ, Pohl CS, Donovan DM (2015) Synergistic Streptococcal Phage ΛSA2 and B30 Endolysins Kill Streptococci in Cow Milk and in a Mouse Model of Mastitis. Appl Microbiol Biotechnol 99, 8475–86.

Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (Foeniculum Vulgare) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. Gene Expr 21 (2), 21-26.

Shokri S, Khezri A, Mohammadabadi M, et al. (2023). The expression of MYH7 gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. J Agric Biotechnol 15 (2), 217-236 (In Persian).

Tarca AL, Romero R, Draghici S (2006) Analysis of Microarray Experiments of Gene Expression Profiling. Am J Obstet Gynecol 195(2), 373–88.

Vajdi Hakamabad S, Alijani HD, Kia H, et al. (2015) Bioinformatics Analysis of E. Coli Causing Mastitis in Holstein Dairy Cattle by Using Microarray Data. Faslnamahi Kumish 17(1), 214-223 (In Persian).

Zheng J, Anjanette D, Watson D, et al. (2006) Genome-Wide Expression Analysis of Lipopolysaccharide-Induced Mastitis in a Mouse Model. Infect Immun 74(3), 1907–15.

Zhu X, Chen M, Wang H, et al. (2021) Clinical Utility of Expanded Non-invasive Prenatal Screening and Chromosomal Microarray Analysis in High-risk Pregnancy. Ultrasound Obstet Gynecol 57(3), 459–65.