Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 17, Issue 2, 2026 p: 149-157

OPEN ACCESS

Research Paper

Investigation of Genes and Regulatory miRNAs Involved in the Pathogenesis of Bovine Mastitis Using Microarray Gene Expression Analysis

Azadeh Torabi[1] and Zahra Roudbari[2]

1- Assistant professor, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran, (Corresponding author: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)

Received: 08 October, 2025 Revised: 01 February, 2026 Accepted: 25 February, 2026

Extended Abstract

Background: Bovine mastitis is one of the most common and costly infectious diseases affecting the global dairy industry and is responsible for considerable economic losses each year through reduced milk yield, compromised milk quality, increased treatment costs, premature culling, and extensive antibiotic use. The disease is characterized by pronounced inflammatory responses in the mammary gland, resulting from complex interactions between invading pathogens, the host's innate and adaptive immune systems, and genetic and epigenetic regulatory mechanisms. Among mastitis-associated pathogens, *Escherichia coli* is a major cause of acute mastitis and induces a rapid inflammatory response that leads to tissue damage and marked alterations in gene expression patterns.

High-throughput omics technologies, particularly microarray and RNA-seq approaches, have demonstrated that mastitis is accompanied by extensive transcriptional reprogramming involving genes related to innate immunity, inflammation, energy metabolism, cell cycle control, and tissue remodeling. However, most previous studies have focused primarily on lists of differentially expressed genes, while the underlying gene interaction networks and the contribution of microRNAs (miRNAs) as post-transcriptional regulators have received less attention. miRNAs are capable of simultaneously regulating multiple mRNA targets and, as a result, can modulate key immune and metabolic pathways that influence the intensity and progression of inflammatory responses. Therefore, the present study aimed to identify central hub genes and regulatory miRNAs involved in *E. coli*-induced mastitis in dairy cows and to explore their roles within immune- and metabolism-related molecular networks using an integrated bioinformatics framework.

Methods: Gene expression data from bovine mammary glands affected by *E. coli*-induced mastitis were obtained from the Gene Expression Omnibus (GEO) database (accession number GSE15020). Differentially expressed genes were identified using GEO2R, applying a threshold of $p < 0.05$ and $|\text{LogFC}| > 1$ to ensure statistical significance. Protein–protein interaction (PPI) analysis was performed using the STRING database, and the resulting network was visualized and analyzed in Cytoscape. Hub genes were identified using the cytoHubba plugin based on multiple topological algorithms, including Degree, MCC, MNC, and DMNC, to increase confidence in hub selection. Subsequently, miRNAs targeting these hub genes were predicted using the miRWalk database, and miRNAs shared among multiple hub genes were retained for further analysis. This strategy enabled the construction of integrated gene–miRNA interaction networks and facilitated biological interpretation of the regulatory mechanisms involved in bovine mastitis.

Results: In total, 1,023 genes were identified as differentially expressed, including 612 upregulated and 411 downregulated genes, following *E. coli* infection. PPI network analysis highlighted ten genes, *GAPDH, ALB, CXCL8, IL1B, CCL2, EGFR, PTPRC, PARP12, IFITM3,* and *XAF1*, as central hubs within the network. These genes are mainly associated with inflammatory signaling, chemokine-mediated immune responses, regulation of cell survival, and immune cell activation.

Copyright ©2026. Torabi et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License, which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]

Among these hubs, *IL1B* represents a central mediator of fever and inflammation and is widely recognized as a major pro-inflammatory cytokine involved in fever induction, increased vascular permeability, and activation of immune cells. *CXCL8* plays a key role in neutrophil recruitment and activation and contributes substantially to the early immune response against bacterial infection. In addition, *ALB*, identified as a hub gene in the network, may have potential value as a milk-based biomarker through its association with positive acute-phase proteins during mastitis. miRNA analysis identified 45 miRNAs that commonly targeted multiple hub genes. Notably, bta-miR-21-3p targets *EGFR* and *IL1B* and is involved in the regulation of the PI3K/AKT/NF-κB signaling pathway, suggesting a role in amplifying inflammatory responses. bta-miR-145 may contribute to balancing inflammation and tissue repair by regulating *IL1B* expression and inhibiting proliferation of mammary epithelial (Mac-T) cells. Furthermore, bta-miR-138 appears to modulate antiviral and inflammatory responses through the inhibition of the p65/NF-κB pathway and regulation of *PARP12* and *EGFR*. Overall, these results indicate that miRNAs act as coordinated regulators of inflammatory and metabolic pathways during mastitis.
Conclusion: Bovine mastitis is a complex, multifactorial condition driven by dynamic interactions among genes, miRNAs, and interconnected molecular pathways. By integrating differential expression analysis with network-based and miRNA regulatory analyses, this study identified key molecular regulators involved in *E. coli*-induced mastitis. The findings highlight the importance of immune-related pathways, including JAK/STAT, interferon signaling, and NF-κB, as well as *EGFR*-associated metabolic and mitochondrial processes. These results provide a useful foundation for the development of molecular biomarkers, diagnostic tools, and breeding strategies aimed at improving mastitis resistance in dairy cattle.

Keywords: Gene expression profiling, Gene network, microRNA, Mastitis

How to Cite This Article: Torabi, A., & Roudbari, Z. (2026). Investigation of Genes and Regulatory miRNAs Involved in the Pathogenesis of Bovine Mastitis Using Microarray Gene Expression Analysis. *Res Anim Prod,* 17(2), 149-157. DOI: 10.61882/rap.2026.1582

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

بررسی شبکه ژن‌ها وmiRNAهای تنظیم‌کننده در پاتوژنز ورم پستان گاو ناشی از Escherichia coli به کمک تحلیل بیان ژنی ریزآرایه‌ای

آزاده ترابی[۱] و زهرا رودباری[۲]

۱- استادیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران، (نویسنده مسوول: Roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۶ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۰۶
صفحه ۱۴۹ تا ۱۵۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: ورم پستان گاو یکی از شایع‌ترین و پر هزینه‌ترین بیماری‌های عفونی در صنعت جهانی دام است و سالانه موجب خسارات اقتصادی قابل توجهی از طریق کاهش تولید شیر، افت کیفیت ترکیبات شیر، افزایش هزینه‌های درمان، حذف زود هنگام دام و افزایش بار آنتی‌بیوتیکی می‌شود. این بیماری با پاسخ‌های التهابی شدید در غده پستانی همراه است که ناشی از تعامل پیچیده بین پاتوژن، سیستم ایمنی‌ذاتی و اکتسابی میزبان و تنظیم ژنتیکی و فراژنتیکی مسیرهای مولکولی متعدد است. در میان عوامل بیماری‌زا، اشرشیا کلی (*E. coli*) یکی از مهم‌ترین باکتری‌های مولد ورم پستان حاد است که با تحریک سریع مسیرهای التهابی، موجب تخریب بافتی و تغییرات گسترده در پروفایل بیان ژن می‌شود. پیشرفت فناوری‌های اُمیکس، به‌ویژه ریز آرایه‌ها (Microarray) و RNA-seq، نشان داده است که ورم پستان سبب تغییر بیان در هزاران ژن مرتبط با ایمنی‌ذاتی، پاسخ التهابی، متابولیسم انرژی، چرخه سلولی و بازسازی بافت پستان می‌شود. با این‌حال، بسیاری از مطالعات پیشین عمدتاً بر شناسایی ژن‌های متفاوت بیان تمرکز داشته‌اند و تحلیل ساختار شبکه‌ای ژن‌ها و نقش تنظیمی miRNAها که به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های پسارونویسی شناخته می‌شوند، به‌صورت یکپارچه مورد بررسی قرار نگرفته است. miRNAها با اتصال به mRNAهای هدف، قادرند به‌طور همزمان چندین مسیر سیگنال‌دهی ایمنی و متابولیک را تنظیم کنند و بدین‌ترتیب نقش کلیدی در تعیین شدت التهاب، تداوم پاسخ ایمنی و پیامدهای بافتی بیماری ایفا نمایند. از این‌رو، هدف اصلی پژوهش حاضر، شناسایی ژن‌های هاب و miRNAهای کلیدی مرتبط با پاتوژنز ورم پستان القا شده توسط *E. coli* در گاو شیری و بررسی نقش آن‌ها در تنظیم شبکه‌ای مسیرهای ایمنی، التهابی و متابولیکی با استفاده از یک رویکرد بیوانفورماتیکی مبتنی بر شبکه است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، پروفایل بیان ژنی مربوط به نمونه‌های بافت غده پستانی گاو مبتلا به ورم پستان ناشی از *E. coli* از پایگاه داده Gene Expression Omnibus (GEO) تحت شناسه GSE15020 استخراج گردید. تحلیل بیان ژن‌های متفاوت بیان با استفاده از ابزار GEO2R انجام شد و ژن‌ها بر اساس معیارهای آماری $P\text{-value} < 0.05$ و ($|\text{LogFC}|>1$) فیلتر شدند تا ژن‌های دارای تغییر بیان معنی‌دار شناسایی گردند. به‌منظور بررسی تعاملات مولکولی، شبکه برهم‌کنش پروتئین‌پروتئین (PPI) با استفاده از پایگاه داده STRING ساخته شد و سپس در محیط نرم‌افزار Cytoscape مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شناسایی ژن‌های هاب شبکه با بهره‌گیری از افزونه cytoHubba و به‌کارگیری الگوریتم‌های Degree، MCC، MNC و DMNC انجام شد تا ژن‌هایی که بالاترین اهمیت توپولوژیک و نقش مرکزی را در شبکه دارند، استخراج گردند. در ادامه، برای پیش‌بینی miRNAهای تنظیم‌کننده ژن‌های هاب، پایگاه داده miRWalk مورد استفاده قرار گرفت و miRNAهایی که به‌طور مشترک چندین ژن کلیدی را هدف قرار می‌دادند، انتخاب شدند. این رویکرد امکان ترسیم تعاملات ژن miRNA و تفسیر نقش تنظیمی آن‌ها در مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با ورم پستان را فراهم نمود.

یافته‌ها: نتایج تحلیل بیان متفاوت ژن‌ها منجربه شناسایی ۱۰۲۳ ژن با تغییر بیان معنی‌دار شدند که از این میان ۶۱۲ ژن افزایش بیان و ۴۱۱ ژن کاهش بیان را نشان دادند. تحلیل شبکه PPI ده ژن هاب شامل *GAPDH*، *ALB*، *CXCL8*، *IL1B*، *CCL2*، *EGFR*، *PTPRC*، *PARP12*، *IFITM3* و *XAF1* را به‌عنوان اجزای مرکزی شبکه معرفی کرد. این ژن‌ها عمدتاً در مسیرهای کلیدی التهاب، سیگنالینگ کیموکاین‌ها، پاسخ ایمنی‌ذاتی، تنظیم چرخه سلولی و بقایای مرگ سلولی دخیل هستند. برای نمونه، *IL1B* یکی از کلیدی‌ترین میانجی‌های تب و التهاب است و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نقش اساسی در القای تب، نفوذپذیری عروقی و فعال‌سازی سلول‌های ایمنی ایفا می‌کند. *CXCL8* با تنظیم جذب و فعال‌سازی نوتروفیل‌ها، در پاسخ ایمنی اولیه علیه عفونت باکتریایی نقش تعیین‌کننده دارد. همچنین، *ALB* به‌عنوان یکی از ژن‌های هاب شناسایی شد، که می‌تواند در قالب پروتئین‌های فاز حاد مثبت در شیر، به‌عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه برای تشخیص ورم پستان مورد توجه قرار گیرد. تحلیل miRNAها منجر به شناسایی ۴۵ miRNA مشترک شد که قادر به تنظیم همزمان چندین ژن هاب بودند. در میان آن‌ها، bta-miR-21-3p با هدف قراردادن *EGFR* و *IL1B* و تنظیم مسیر PI3K/AKT/NF-κB نقش مهمی در تشدید پاسخ التهابی دارد. bta-miR-145 با مهار تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال پستانی (Mac-T) و تنظیم *IL1B* می‌تواند در تعادل بین التهاب و بازسازی بافت نقش ایفا کند. همچنین، bta-miR-138 از طریق مهار مسیر p65/NF-κB، بیان ژن‌های *PARP12* و *EGFR* را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در تنظیم پاسخ ایمنی ضد ویروسی و التهابی مشارکت دارد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که miRNAها قادرند به‌صورت هماهنگ مسیرهای التهابی را فعال و مسیرهای متابولیکی مرتبط با عملکرد طبیعی غده پستانی را سرکوب نمایند.

نتیجه‌گیری: ورم پستان گاو یک فنوتیپ پیچیده، چند عاملی و شبکه محور است که حساسیت یا مقاومت دام به آن حاصل برهم‌کنش دینامیک ژن‌ها، miRNAها و مسیرهای مولکولی متعدد است. نتایج این مطالعه با بهره‌گیری از یک رویکرد بیوانفورماتیکی یکپارچه، ژن‌ها و miRNAهای کلیدی دخیل در پاتوژنز ورم پستان ناشی از *E. coli* را شناسایی نمودند و نقش محوری مسیرهای ایمنی نظیر JAK/STAT، سیگنالینگ اینترفرون، NF-Kb و همچنین مسیرهای متابولیکی و میتوکندریایی تحت تنظیم EGFR را برجسته ساختند. یافته‌های حاضر می‌توانند به‌عنوان مبنایی برای توسعه نشانگرهای مولکولی تشخیصی، طراحی ابزارهای پیش‌آگهی، و برنامه‌های اصلاح‌نژادی مبتنی بر مقاومت به ورم پستان در گاوهای شیری مورد استفاده قرار گیرند و درک عمیق‌تری از سازوکارهای مولکولی این بیماری شایع فراهم سازند.

واژه‌های کلیدی: پروفایل بیان ژنی، شبکه ژنی، میکروآران‌ای، ورم پستان

مقدمه

ورم پستان گاو یکی از چالش برانگیزترین بیماری‌های صنعت لبنیات است که از طریق کاهش تولید و کیفیت شیر، هزینه‌های درمان و حذف زودهنگام دام، خسارت‌های اقتصادی سنگینی را به‌همراه دارد.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]

بروز این بیماری ناشی از ورود پاتوژن‌ها، به‌ویژه باکتری‌های گرم منفی مانند *E. coli*، به غده پستانی است که منجر به فعال‌سازی سریع پاسخ‌های ایمنی ذاتی از طریق گیرنده‌های شناسایی الگو (PRRs) نظیر TLR4 می‌گردد. این تعاملات اولیه، آزادسازی گسترده سیتوکین‌های پیش‌التهابی و فراخوانی سلول‌های ایمنی به محل عفونت را در پی دارد که منجر به تغییرات گسترده در ساختار بافتی و نمایه رونویسی سلول‌های پستانی در ساعات اولیه عفونت می‌شود (Mitterhuemer *et al*., 2010; Raufian *et al*., 2018). اگرچه فناوری‌های اُمیکس و تحلیل‌های ریزآرایه‌ای شناسایی هزاران ژن درگیر در فرآیندهای ایمنی و متابولیسم را تسهیل کرده‌اند (Naserkheil *et al*., 2022)، اما شواهد اخیر نشان می‌دهند که درک کامل پاتوژنز این بیماری بدون در نظرگرفتن لایه‌های تنظیمی پس از رونویسی امکان‌پذیر نیست. در این میان،miRNAها به‌عنوان تنظیم کننده‌های کلیدی فراژنتیکی، نقش حیاتی را در هدایت و تعدیل پاسخ‌های التهابی ایفا می‌کنند. این مولکول‌های کوچک با مهار ترجمه یا تخریب mRNAهای هدف، نه‌تنها پایداری شبکه‌های مولکولی را کنترل می‌کنند، بلکه تعادل میان شدت التهاب و شروع فرآیند بازسازی بافت را تعیین می‌نمایند (Jaiswal *et al*., 2021). قابلیت یک miRNA در هدف قراردادن هم‌زمان چندین ژن، آن را به ابزاری قدرتمند برای تنظیم مسیرهای سیگنالینگ پیچیده، به‌ویژه در پاسخ سلول‌های اپیتلیال پستان به اندوتوکسین‌های باکتریایی تبدیل کرده است (Lawless *et al*., 2013). با وجود پیشرفت‌های حاصل شده، اکثر مطالعات بر تحلیل‌های تک‌ژنی تمرکز داشته‌اند، در حالی‌که ورم پستان یک فنوتیپ شبکه‌محور است. شناسایی ژن‌های هاب که دارای بالاترین تعاملات پروتئینی در شبکه هستند، می‌تواند گره‌های استراتژیکی را آشکار کند که پایداری کل سیستم دفاعی میزبان را کنترل می‌کنند. نکته حائز اهمیت، شناسایی miRNAهایی است که به‌طور مشترک این ژن‌های هاب را تنظیم می‌کنند؛ زیرا این محورهای تنظیمی (miRNA-mRNA Hubs) احتمالاً دقیق‌ترین نشانگرهای زیستی برای تشخیص و یا اهداف درمانی در عفونت‌های حاد محسوب می‌شوند. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف شناسایی ژن‌های هاب و ترسیم شبکه تعاملی در بافت پستان گاو تحت چالش با *E. coli* طراحی گردید تا لایه‌های پنهان تنظیمی و نقاط کنترل استراتژیک در پاتوژنز این بیماری به‌صورت یکپارچه تبیین گردد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، پروفایل بیان ژنی مربوط به نمونه‌های بافت غده پستانی گاو مبتلا به ورم پستان ناشی از *E. coli* از پایگاه داده (Gene Expression Omnibus, GEO) تحت شناسه GSE15020 استخراج گردید. این داده‌ها مربوط به مطالعه‌ی میترهومر و همکاران (Mitterhuemer *et al*., 2010) هستند که اثرات القا شده توسط باکتری *E. coli* بر بافت پستان گاو شیری را با استفاده از فناوری ریزآرایه مورد ارزیابی قرار داده بودند. تحلیل بیان ژن‌های دارای بیان تفاضلی (DEGs) با استفاده از ابزار تحت وب GEO2R انجام گرفت. این ابزار از بسته‌ی نرم‌افزاری Limma (نسخه اختصاصی برای تحلیل ریزآرایه) در محیط R بهره می‌برد. پیش از شروع تحلیل، به‌منظور یکنواخت‌سازی توزیع داده‌ها و کاهش واریانس، فرایند نرمال‌سازی و تبدیل لگاریتمی بر روی داده‌های خام اعمال گردید. برای شناسایی ژن‌های دارای بیان معنی‌دار، از آزمون آماری Moderated t-test همراه با روش eBayes جهت برآورد تغییرات بیان استفاده شد. در نهایت، ژن‌ها بر اساس آستانه‌ی $P\text{-value} < 0.05$ و $|\log2FC| > 1$ به‌عنوان ژن‌های دارای بیان تفاضلی فیلتر و استخراج شدند. به‌منظور بررسی روابط عملکردی میان DEGs، از پایگاه داده‌ی STRING (https://string-db.org) برای ترسیم شبکه‌ی برهم‌کنش پروتئین‌پروتئین (PPI) استفاده شد. فرآیند استخراج تعاملات بر اساس گونه *Bos taurus* و با در نظر گرفتن تمامی منابع شواهدی (اعم از تجربی، متنی و بیانی) انجام گرفت. حداقل امتیاز اطمینان برای پذیرش برهمکنش‌ها بر روی مقادیر ۰/۰۴تنظیم گردید. سپس، شبکه‌ی حاصل جهت تحلیل‌های توپولوژیک تخصصی و شناسایی گره‌های محوری، به فرمت tsv استخراج و وارد نرم‌افزار Cytoscape شد.

تحلیل شبکه با بهره‌گیری از نرم‌افزار Cytoscape (نسخه ۳.۹.۱) انجام گرفت. برای شناسایی ژن‌های کلیدی (هاب)، از افزونه‌ی cytoHubba موجود در محیط Cytoscape استفاده گردید. از میان روش‌های موجود در این افزونه، چهار الگوریتم MNC، DMNC، MCC و Degree به‌کار گرفته شدند تا رتبه‌بندی ژن‌ها بر اساس اهمیت توپولوژیکی آن‌ها در شبکه صورت گیرد. سپس بر اساس رتبه‌بندی حاصل از هر الگوریتم، چهار ژن برتر به‌عنوان ژن‌های هاب نهایی انتخاب گردیدند (Chin *et al*., 2014). در این مرحله، جستجوی miRNAها به‌طور اختصاصی برای گونه گاو *Bos taurus* انجام شد. به‌منظور شناسایی miRNAهایی که ژن‌های هاب را هدف قرار می‌دادند، تحلیل‌های بیوانفورماتیکی انجام گرفت.

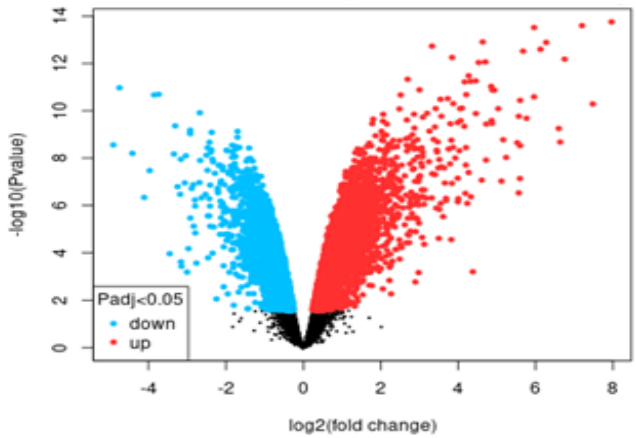
به این منظور، ژن‌های هاب دارای بیان تفاضلی حاصل از مرحله‌ی پیشین به پایگاه داده‌ی تحت وب miRWalk (http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/) معرفی شدند. این پایگاه با استفاده از داده‌های تلفیقی و الگوریتم‌های پیش‌بینی موجود در ده منبع معتبر شامل (Micrit4, miRanda, miRNAMap, miRMap, miRDB, mirbridge, Targetscan, RNA22, PITA, Pictar2) فرایند شناسایی miRNAهای هدف را انجام می‌دهد. در این مرحله، تنها miRNAهایی انتخاب شدند که هم در miRWalk و هم در دست کم یکی از این پایگاه‌های مکمل تأیید شده بودند تا اطمینان از صحت و دقت پیش‌بینی‌ها افزایش یابد.

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی کیفیت داده‌ها نشان دادند که داده‌های دانلود شده از پایگاه اطلاعاتی موردنظر دارای کیفیت مطلوب و قابل اعتماد بودند. در این مطالعه، با توجه به اهمیت پاسخ‌های اولیه ایمنی، تحلیل‌ها در بازه زمانی ۱۲ ساعت پس از القا متمرکز گردیدند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]

در مجموع، ۲۱۷۵۹ پروب ژنی مورد بررسی قرار گرفتند که پس از اعمال فیلتر بر اساس معیارهای آماری تعیین DEGs معنی‌دار (P-value < 0.05 و $|\log_2FC| > 1$)، تعداد ۶۱۲ ژن با بیان افزایشی و ۴۱۱ ژن با بیان کاهشی شناسایی شدند. شکل ۱ نمودار آتشفشانی (Volcano plot) را نشان می‌دهد که الگوی توزیع ژن‌های دارای بیان متفاوت را در مقایسه میان گروه‌های مورد مطالعه به‌صورت بصری نمایش می‌دهد.



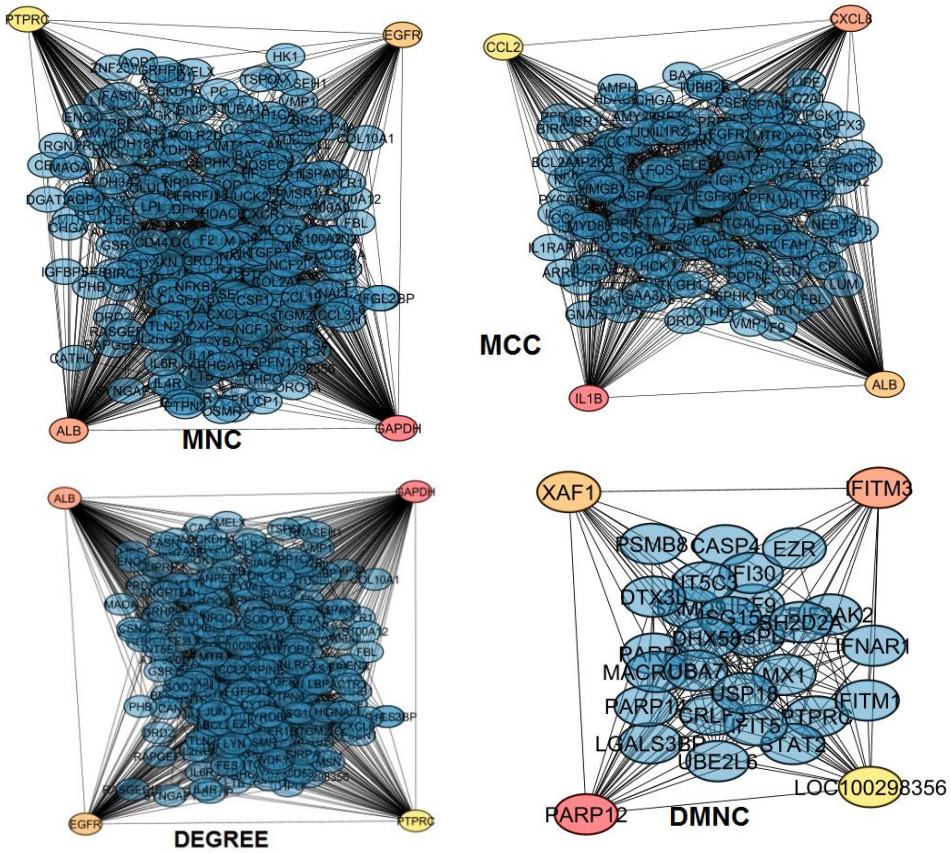
شکل ۱- نمودار آتشفشانی (Volcano plot) ژن‌های متفاوت بیان در نمونه‌های مورد مطالعه. محور افقی نشان‌دهنده تغییر لگاریتمی میزان بیان (Log_2 Fold Change) و محور عمودی بیانگر سطح معناداری آماری ($-\log_{10} P$-value) هستند.

Figure 1. The volcano plot of differentially expressed genes in the analyzed samples. The horizontal axis represents the logarithmic change in expression level (Log_2 Fold Change), and the vertical axis indicates the statistical significance level ($-\log_{10} P$ value).

در پژوهش حاضر، تحلیل توپولوژیک شبکه برهم‌کنش پروتئینی (PPI) منجربه شناسایی ۱۰ ژن هاب کلیدی گردید که در رأس آن‌ها IL1B و CXCL8 (IL8) با بالاترین درجه اتصال قرار داشتند (شکل ۲). شناسایی این دو کموکاین و سیتوکین پیش‌التهابی به‌عنوان گره‌های محوری شبکه، با یافته‌های میترهومر و همکاران (Mitterhuemer *et al.*, 2010) همسو است که بر افزایش شدید واسطه‌های التهابی در ساعات اولیه عفونت *E. coli* تأکید داشتند. با این‌حال، تحلیل شبکه ما نشان داد که این ژن‌ها نه‌تنها بیان بالایی دارند، بلکه به‌عنوان ستون فقرات شبکه، هماهنگی میان پاسخ‌های ایمنی‌ذاتی و فراخوانی نوتروفیل‌ها را بر عهده دارند.

یکی از یافته‌های برجسته این مطالعه، قرارگیری ژن‌های PARP12, IFITM3, XAF1 در لیست ۱۰ ژن هاب برتر در بازه زمانی ۱۲ ساعت است. در حالی‌که مطالعه اصلی میترهومر و همکاران (Mitterhuemer *et al.*, 2010) بیشتر بر پاسخ‌های عمومی ایمنی تمرکز داشت، شناسایی این ژن‌های محرک اینترفرون (ISGs) به‌عنوان هاب، نشان دهنده فعال شدن یک امضای ایمنی شبه‌ویروسی (Antiviral-like signature) در بافت پستان گاو علیه اندوتوکسین‌های *E. coli* در فاز حاد است. این یافته با مطالعات شریفی و همکاران (Sharifi *et al.*, 2018)، که بر اهمیت مسیرهای اینترفرون در ورم پستان تأکید داشتند، مطابقت دارد اما نوآوری ما در تعیین جایگاه استراتژیک این ژن‌ها در پایداری کل شبکه است. همچنین، شناسایی ژن ALB (آلبومین) به‌عنوان یک ژن هاب، بازتاب دهنده تغییرات در سد خونی-پستانی و کاهش پروتئین‌های شیر بر اثر آسیب بافتی است که با گزارش‌های دوآرت و همکاران (Duarte *et al.*, 2015) همخوانی دارد. اما نکته حائز اهمیت در پژوهش حاضر، شناسایی miRNAهای تنظیمی است که این ژن‌های هاب را هدف قرار می‌دهند. برای مثال، پیش‌بینی miRNAهایی که محور CXCL8-IL1B را تنظیم می‌کنند، مکانیسم جدیدی را برای کنترل طوفان سیتوکینی در ورم پستان ارائه می‌دهد که در تحلیل‌های سنتی مطالعه اصلی مغفول مانده بود. استفاده از پایگاه داده miRWlk و تایید چندگانه با ۱۰ الگوریتم مختلف، اعتبار این محورهای تنظیمی (miRNA-mRNA) را نسبت به پیش‌بینی‌های تک الگوریتمی افزایش داده است و پتانسیل این مولکول‌ها را به‌عنوان نشانگرهای زیستی دقیق‌تر از شاخص‌های سنتی نظیر SCC مطرح می‌سازد.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]



شکل ۲- شبکه‌ی برهم‌کنش ژنی بر اساس الگوریتم‌های MCC، MNC، DMNC و DEGREE در نرم‌افزار Cytoscape. دایره‌ها با رنگ‌های متفاوت نشان دهنده‌ی ژن‌های هاب هستند.

Figure 2. The gene interaction network constructed based on MCC, MNC, DMNC, and DEGREE algorithms in Cytoscape software. Circles with different colors represent hub genes.

اگرچه ژن‌هایی نظیر *GAPDH* و *ALB* به‌طور سنتی به‌عنوان ژن‌های خانه‌دار (Housekeeping) شناخته می‌شوند، اما شناسایی آن‌ها به‌عنوان ژن هاب در این پژوهش، فراتر از یک ویژگی توپولوژیک ساده است. در پاتوژنز ورم پستان ناشی از *E. Coli*، *ALB* نشان دهنده گسیختگی سد خونی-پستانی و تغییرات اسموتیک بافتی است، در حالی‌که *GAPDH* بازتاب دهنده تغییرات متابولیک حاد و مسیرهای مرگ سلولی در پاسخ به اندوتوکسین‌های باکتریایی است. قرارگیری این ژن‌ها در مرکز شبکه برهم‌کنش پروتئینی، نشان دهنده ادغام پاسخ‌های فیزیولوژیک پایه با مسیرهای ایمنی اختصاصی در جهت مقابله با عفونت حاد است.

ژن IL1B به‌عنوان یکی از ژن‌های کلیدی در پاسخ ایمنی ذاتی غده پستانی شناخته می‌شود. در مطالعه‌ای روی گاو و موش که با پاتوژن‌های *Streptococcus uberis* و *Streptococcus agalactiae* انجام شد، افزایش بیان این ژن در مراحل فعال ورم پستان در چندین آزمایش مستقل تأیید گردید (Jensen *et al*., 2013; Ogorevc *et al*., 2009).

اینترلوکین-۱ بتا (IL1B) در فرآیندهایی نظیر ایجاد تب، فعال‌سازی پاسخ ایمنی و تحریک تقسیم سلولی نقش دارد؛ عملکردهایی که همگی در بروز واکنش التهابی ماستیت مشارکت دارند (Jaiswal *et al*., 2021). در هنگام نفوذ باکتری به غده پستان، سلول‌های میزبان با ترشح کیموکین‌هایی نظیر CXCL8 و همچنین پپتیدهای ضد میکروبی به‌صورت هماهنگ پاسخ می‌دهند. افزایش سطح CXCL8 در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان گزارش شده است و به تقویت التهاب در بافت پستان کمک می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که بیان ژن CXCL8 در اثر عفونت با *E. coli* تا حدود ۵۸ برابر افزایش می‌یابد (Roussel *et al*., 2015). از سوی دیگر، ژن ALB کدکننده پروتئین آلبومین است که در واکنش فاز حاد، رفتار دوگانه‌ای نشان می‌دهد. در سرم، آلبومین به‌عنوان یک پروتئین حاد منفی شناخته می‌شود، زیرا سطح آن در طی التهاب کاهش می‌یابد؛ اما در شیر، برعکس، به‌صورت پروتئین حاد مثبت عمل می‌کند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]

مطالعات نشان داده‌اند که غلظت آلبومین در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای سالم است. همچنین، مشخص شده است که سنتز آلبومین محدود به کبد نیست و سلول‌های اپیتلیال غده پستان نیز توانایی تولید آن را دارند؛ این سنتز در شرایط التهاب غده پستانی شدت می‌یابد. بنا بر این، اندازه‌گیری غلظت آلبومین در شیر می‌تواند به‌عنوان شاخص تکمیلی و نشانگر زیستی مؤثر برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی مورد استفاده قرار گیرد (Shirazi *et al*., 2011). ژن CCL2 به‌عنوان یک کیموکین قوی برای جذب مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها شناخته می‌شود. در هنگام عفونت‌های باکتریایی، فعال‌سازی مونوسیت‌ها در مغز استخوان منجر به مهاجرت آن‌ها به بافت‌های تحت‌تأثیر میکروبی می‌شود و به این ترتیب، فرآیندهای التهابی در بافت چربی را تعدیل می‌کند (Leyva-Baca *et al*., 2007). ژن EGFR نیز عضوی از خانواده گیرنده‌های فاکتور رشد اپیدرمی است که با فعال‌سازی مسیرهای کینازی درون‌سلولی از جمله MAPK، Akt و JNK، فسفوریلاسیون و پیام‌رسانی سلولی را تنظیم می‌کند. این تنظیم نه‌تنها نقش ایمنی EGFR را تقویت می‌کند بلکه با تحریک تکثیر سلول‌های اپیتلیال پستان و افزایش بیان فاکتورهای ترمیمی، در بازسازی بافت آسیب دیده نیز مشارکت دارد (Zhang *et al*., 2016). با توجه به اهمیت تعامل بین ژن‌ها و miRNAها در تنظیم پاسخ‌های ایمنی، مطالعات پیشین اغلب با شناسایی ابتدایی ژن‌های درگیر در ورم پستان و سپس استخراج تمام miRNAهای پیش‌بینی شده‌ی هدف آغاز می‌شوند. این رویکرد اگرچه جامع است، اما به‌دلیل حجم زیاد miRNAهای شناسایی شده، تحلیل زیستی و تفسیر کاربردی آن دشوار و زمان‌بر است. در پژوهش حاضر، برای افزایش دقت تفسیر شبکه تنظیمی، تنها miRNAهایی انتخاب شدند که میان چند ژن هاب مشترک بودند (جدول ۱). این انتخاب امکان شناسایی تعاملات کلیدی و تمرکز بر مسیرهای تنظیمی مؤثر در پاتوژنز ورم پستان را فراهم ساخت.

جدول ۱- ژن‌های هاب شناسایی‌شده با استفاده از افزونه cytoHubba وmiRNA های هدف گیرنده هر ژن
Table 1. Hub genes identified by the cytoHubba plugin and miRNAs that target each gene

ردیف (No)	ژن (Gene)	الگوریتم (Algoritm)	miRNAs
1	IL1B	MCC	bta-miR-21-3p, bta-miR-99a-3p, bta-miR-31, bta-miR-339a, bta-miR-449c, bta-miR-145, bta-miR-455-3p
2	CXCL8	MCC	bta-miR-22-3p, bta-miR-24-3p, bta-miR-615, bta-miR-760-5p, bta-miR-744, bta-miR-1224
3	ALB	MCC, DEGREE, MNC	bta-miR-365-5p, bta-miR-2297, bta-miR-2348, bta-miR-11988, bta-miR-7180, bta-miR-12010
4	CCL2	MCC	bta-miR-140, bta-miR-1224, bta-miR-2295, bta-miR-2888
5	GAPDH	MNC, DEGREE	bta-miR-339a، bta-miR-449c، bta-miR-615 ،bta-miR-744 -miR-2309 ،bta-miR-2374
6	EGFR	MNC, DEGREE	bta-miR-181a, bta-miR-21-3p, bta-miR-27a-5p, bta-miR-125a, bta-miR-92a, bta-miR-138, bta-miR-199b, bta-miR-181a
7	PTPRC	MNC, DEGREE	bta-miR-99a-3p, bta-miR-140, bta-miR-214, bta-miR-19b, bta-miR-147, bta-miR-760-5p
8	PARP12	DMNC	bta-miR-222 ،bta-miR-138، bta-miR-455-5p, bta-miR-147, bta-miR-296-3p, bta-miR-877, bta-miR-2309
9	IFITM3	DMNC	bta-miR-1284, bta-miR-2305, bta-miR-2374, bta-miR-2888, bta-miR-1284, bta-miR-2305, bta-miR-2295
10	XAF1	DMNC	bta-miR-27a-5p, bta-miR-296-3p, bta-miR-877

جدول ۲- فهرست miRNAهای دارای قابلیت تنظیم مشترک (Co-regulatory) چندین ژن هاب در شبکه پاتوژنز ورم پستان
Table 2. The list of co-regulatory miRNAs targeting multiple hub genes within the bovine mastitis pathogenesis network

نام miRNA	ژن‌های هاب هدف (Common Targets)	تعداد اهداف (Target Number)
bta- miR-339a	IL1B, GAPDH	2
bta- miR-449c	IL1B, GAPDH	2
bta- miR-615	CXCL8, GAPDH	2
bta- miR-744	CXCL8, GAPDH	2
bta- miR-1224	CXCL8, CCL2	2
bta- miR-140	CCL2, PTPRC	2
bta- miR-138	EGFR, PARP12	2
bta- miR-27a-5p	EGFR, XAF1	2
bta- miR-147	PTPRC, PARP12	2
bta- miR-296-3p	PARP12, XAF1	2
bta- miR-877	PARP12, XAF1	2

ژن bta-miR-21-3p نقشی مهم در مقاومت در برابر ورم پستان ناشی از *Staphylococcus aureus* دارد و این اثر را از طریق مسیر PI3K/AKT/NF-κB اعمال می‌کند (Guerra *et al*., 2012). این miRNA همچنین مسیر ضد میکروبی وابسته به ویتامین D را طی عفونت با *Mycobacterium* به‌صورت منفی تنظیم می‌نماید. مسیر وابسته به ویتامین D از نظر زیستی برای پاسخ ایمنی ذاتی به عفونت‌های باکتریایی حیاتی است و اختلال در آن موجب کاهش کارایی پاسخ ایمنی میزبان می‌شود. بنا بر این، به‌نظر می‌رسد که bta-miR-21-3p با تعدیل بیان برخی از ژن‌های کلیدی مرتبط با ایمنی، از جمله IL1B و EGFR که همگی در این مطالعه به‌عنوان ژن‌های هاب شناسایی شده‌اند، در تنظیم پاسخ ایمنی غده پستانی گاو در برابر *S. aureus* نقش فعالی داشته باشد (Guerra *et al*., 2012).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]

در مطالعه‌ای که توسط ناصرخیل و همکاران (Naserkheil *et al*., 2022) با هدف بررسی بیماری ورم پستان گاوی انجام شد، داده‌های ریزآرایه و RNA-Seq شامل نمونه‌های سالم و مبتلا به ورم پستان ادغام و در قالب آنالیز رونویسی مقایسه‌ای همراه با نتایج مطالعات GWAS تحلیل گردیدند. این ادغام داده‌ها منجربه شناسایی ۳۳ ژن مشترک و مجموعه‌ای از miRNAهای مرتبط با ورم پستان شد. در میان آن‌ها، bta-miR-31 به‌عنوان یکی از miRNAهای بیش‌بیان شده در گاوهای مبتلا به ورم پستان نسبت به گاوهای سالم گزارش گردید که ژن IL1B را هدف قرار می‌دهد. بیان bta-miR-145 در مراحل مختلف شیردهی غدد پستانی گاو متفاوت است (Li *et al*., 2020)، هرچند که عملکرد دقیق آن در بافت پستان طبیعی هنوز به‌طور کامل روشن نشده است. افزایش بیان این miRNA به‌طور معنی‌داری موجب کاهش تکثیر سلول‌های اپیتلیال پستانی می‌شود و از رشد سلول‌های Mac-T گاوی جلوگیری می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که bta-miR-145 از طریق هدف قراردادن ژن‌های خاص، در تنظیم تکثیر سلول‌های اپیتلیال پستان نقش دارد (Li *et al*., 2020). در مطالعه حاضر، bta-miR-145 ژن IL1B را هدف قرار می‌دهد. افزایش بیش از حد بیان bta-miR-138 باعث سرکوب سطح پروتئین p65، فاکتور رونویسی کلیدی مسیر NF-κB، می‌شود (Veshkini *et al*., 2022)؛ این miRNA در مطالعه حاضر ژن‌های PARP12 و EGFR را هدف قرار داده است. همچنین bta-miR-181 در مسیرهای پیام‌دهی سلولی مرتبط با ورم پستان گاوی نقش تنظیمی دارد و می‌تواند سهم عوامل فراژنتیکی در پاتوژنز بیماری را روشن‌تر سازد. ژن‌هایی که تحت تأثیر این miRNA قرار می‌گیرند، از طریق سازوکارهایی مانند مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، رگ‌زایی، تکثیر سلولی، چرخه سلولی و گلیکولیز/گلوکونئوژنز بر مسیرهای پیام‌دهی اثر می‌گذارند (Farhangfar & Behdani, 2018). در مجموع، تحلیل داده‌های بیان ژن و پیش‌بینی برهم‌کنش‌های miRNA نشان می‌دهد که ژن‌های IL1B، CXCL8، ALB، EGFR و PARP12 با کنترل مسیرهای کلیدی التهابی و ایمنی در پاتوژنز ورم پستان نقش حیاتی دارند. miRNAهای bta-miR-21-3p، bta-miR-145، bta-miR-138 و bta-miR181-a با تنظیم این ژن‌ها در مسیرهای NF-κB و PI3K/AKT عنوان عناصر فراژنتیکی کلیدی عمل می‌کنند. این تعاملات، چارچوبی جامع را برای شناسایی نشانگرهای مولکولی هدفمند و طراحی راهبردهای نظارت ژنتیکی و درمانی در گاوهای شیری فراهم می‌سازد.

نتیجه‌گیری کلی

بیماری ورم پستان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی در دام است که علاوه بر تهدید سلامت حیوان، موجب خسارات اقتصادی گسترده، کاهش بهره‌وری شیر و نگرانی‌های مرتبط با ایمنی غذایی می‌شود. درک مکانیسم‌های مولکولی و ژنتیکی زمینه‌ساز حساسیت گاو به این بیماری همچنان با چالش مواجه است، زیرا ورم پستان یک فنوتیپ پیچیده و چندعاملی است که از تعامل شبکه‌ای مجموعه‌ای از ژن‌ها و عناصر تنظیمی ناشی می‌شود. در این پژوهش، تحلیل شبکه‌ای داده‌های ریزآرایه منجر به شناسایی ده ژن کلیدی با بیشترین درجه‌ی ارتباط در میان آن‌ها گردید. همچنین، ۴۵ miRNA پیش‌بینی شدند که اغلب این ژن‌ها را هدف قرار می‌دهند و در مسیرهای ایمنی و التهابی مرتبط با پاتوژنز ورم پستان نقش دارند. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه چارچوبی جامع را برای درک تعاملات ژن miRNA در پاسخ ایمنی گاو به ورم پستان فراهم می‌کنند و می‌توانند مبنایی برای شناسایی نشانگرهای مولکولی، توسعه کیت‌های تشخیصی زودهنگام و طراحی راهبردهای اصلاح ژنتیکی دام‌های مقاوم به بیماری ورم پستان در تحقیقات آینده باشند.

References

Chin, C. H., Chen, S. H., Wu, H. H., Ho, C. W., Ko, M. T., & Lin, C. Y. (2014). cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC Systems Biology*, 8(Suppl 4), S11. https://doi.org/10.1186/1752-0509-8-S4-S11

Duarte, C. M., Freitas, P. P., & Bexiga, R. (2015). Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27(6), 665–672. https://doi.org/10.1177/1040638715603087

Farhangfar, & Behdani, H. (2018). Identification of microRNAs, target genes and signaling pathways related to milk production using RNA-seq. *Ruminant Research Journal*, 5(4), 73–86. https://doi.org/10.22069/ejrr.2017.13918.1582

Guerra, C., Johal, K., Morris, D., Moreno, S., Alvarado, O., Gray, D., Tanzil, M., Pearce, D., & Venketaraman, V. (2012). Control of Mycobacterium tuberculosis growth by activated natural killer cells. *Clinical & Experimental Immunology*, 168(1), 142–152. https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04552.x

Jaiswal, S., Jagannadham, J., Kumari, J., Iquebal, M. A., Gurjar, A. K. S., Nayan, V., Angadi, U. B., Kumar, S., Kumar, R., & Datta, T. K. (2021). Genome wide prediction, mapping and development of genomic resources of mastitis associated genes in water buffalo. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 593871. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.593871

Jensen, K., Günther, J., Talbot, R., Petzl, W., Zerbe, H., Schuberth, H. J., Seyfert, H. M., & Glass, E. J. (2013). Escherichia coli-and Staphylococcus aureus-induced mastitis differentially modulate transcriptional responses in neighbouring uninfected bovine mammary gland quarters. *BMC Genomics*, 14(1), 36. https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-36

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]

Lawless, N., Foroushani, A. B. K., McCabe, M. S., O'Farrelly, C., & Lynn, D. J. (2013). Next generation sequencing reveals the expression of a unique miRNA profile in response to a gram-positive bacterial infection. *PloS One*, 8(3), e57543. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057543

Leyva-Baca, I., Schenkel, F., Sharma, B. S., Jansen, G. B., & Karrow, N. A. (2007). Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine CCL2, IL8, CCR2 and IL8RA genes and their association with health and production in Canadian Holsteins. *Animal Genetics*, 38(3), 198–202.

Li, W., Li, C., Lu, J., & Zhao, Y. (2020). MiR-145 is involved in the proliferation of bovine mammary epithelial cells and regulates bovine insulin receptor substrate 1. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 536–543. https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1732234

Mitterhuemer, S., Petzl, W., Krebs, S., Mehne, D., Klanner, A., Wolf, E., Zerbe, H., & Blum, H. (2010). Escherichia coli infection induces distinct local and systemic transcriptome responses in the mammary gland. *BMC Genomics*, 11(1), 138. https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-138

Naserkheil, M., Ghafouri, F., Zakizadeh, S., Pirany, N., Manzari, Z., Ghorbani, S., Banabazi, M. H., Bakhtiarizadeh, M. R., Huq, M. A., & Park, M. N. (2022). Multi-omics integration and network analysis reveal potential hub genes and genetic mechanisms regulating bovine mastitis. *Current Issues in Molecular Biology*, 44(1), 309–328. https://doi.org/10.3390/cimb44010023

Ogorevc, J., Kunej, T., Razpet, A., & Dovc, P. (2009). Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics*, 40(6), 832–851. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01921.x

Raufian, P., Shodja Ghyas, J., Jafari, R., Moghaddam, G., & Javanmard, A. (2018). Identification of genetic variation in two candidate genes of TLR2 and TNFα and its association with mastitis in Holstain Cattle. *Research on Animal Production*, 8(18), 147–154. [In Persian]

Roussel, P., Cunha, P., Porcherie, A., Petzl, W., Gilbert, F. B., 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. *Veterinary Research*, 46(1), 56. https://doi.org/10.1186/s13567-015-0201-4

Sharifi, S., Pakdel, A., Ebrahimi, M., Reecy, J. M., Fazeli Farsani, S., & Ebrahimie, E. (2018). Integration of machine learning and meta-analysis identifies the transcriptomic bio-signature of mastitis disease in cattle. *PLoS One*, 13(2), e0191227.

Shirazi, B. S., Rabbani, V., Safi, S., Bolourchi, M., & Ameri, M. (2011). Determination of the diagnostic value of positive and negative acute phase proteins of the milk as new and reliable biomarkers in bovine subclinical mastitis. *Journal of Veterinary Clinical Research,* 2(2), 74-87.

Veshkini, A., Hammon, H. M., Lazzari, B., Vogel, L., Gnott, M., Tröscher, A., Vendramin, V., Sadri, H., Sauerwein, H., & Ceciliani, F. (2022). Investigating circulating miRNA in transition dairy cows: What miRNAomics tells about metabolic adaptation. *Frontiers in Genetics*, 13, 946211. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.946211

Zhang, W., Li, X., Xu, T., Ma, M., Zhang, Y., & Gao, M. Q. (2016). Inflammatory responses of stromal fibroblasts to inflammatory epithelial cells are involved in the pathogenesis of bovine mastitis. *Experimental Cell Research*, 349(1), 45–52. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.09.016

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: 10.61882/rap.2026.1582]