دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

آنالیز بیان افتراقی ژن‌ها در پاسخ به عصاره لیپوپلی‌ساکاریدی ازباکتری اشیرشیاکولای در سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی

مجتبی نجفی[۱]، قدرت رحیمی میانجی[۲]، یونچه گئو[۳]، نوید جمات[۳]، یوران اندرسون[٤]، پاتریس هومبلت[٤] و اریک بنکام[٥]

۱- دکتری ژنتیک و اصلاح دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: mojtaba_najafy@yahoo.com)
۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳، ۴ و ۵- دانشجوی دکتری و استاد و دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی اس ال یو، سوئد
تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۵

چکیده

لیپوپلی‌ساکارید[1](LPS)، بخشی از ساختار غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی است که در فرآیندهای پاتوژنی که منجر به ورم پستان و التهاب رحم در گاوهای شیری می‌شود، دخالت دارد. هم‌چنین LPS باعث التهاب اندومتریوم و شکست لانه‌گزینی در بسیاری از گونه‌های حیوانی می‌شود. باتوجه به اهمیت اقتصادی این بیماری‌ها در صنعت گاو شیری، آنالیز بیان افتراقی ژن‌ها و شناسایی مسیرهای مرتبط در پاسخ به عصاره لیپوپلی‌ساکاریدی از باکتری اشیرشیاکولای با استفاده از آنالیز ترانسکریپتوم برای فهم مکانیسم دقیق این فرآیند بسیار حیاتی و ضروری است. در این پژوهش، بعد از مراحل جداسازی و تیمار سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاو با دوزهای مختلفی از LPS (صفر، ۲ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در محیط کشت، RNA کل استخراج و برای تهیه کتابخانه ترانسکریپتومی مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع ۱۲ کتابخانه ترانسکریپتومی از سه گاو قرمز سوئدی (٤ نمونه به ازای هر راس گاو) توسط تکنولوژی با توان عملیاتی بالا تعیین توالی و آنالیز بیان افتراقی ژن‌ها و هم‌چنین مسیرهای بیولوژیکی مرتبط مورد شناسایی قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد در مجموع ۲۰۳۵ ژن در بین گروه‌های شاهد و تیمار شده با LPS دارای بیان متفاوت بوده که تعداد ۷۵۲ ژن در مسیر تکثیر و مرگ سلولی نقش داشتند. هم‌چنین نتایج شمارش سلول‌های اپی‌تلیال نشان داد که عصاره لیپوپلی‌ساکاریدی توانست به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تکثیر سلولی شود. آنالیز مسیرهای بیولوژیکی نشان داد که این ژن‌ها در تعدادی از مسیرهای سیگنالی از جمله سیستم ایمنی شامل مسیر سیگنالی Toll-Like Receptor، T Cell Receptor، MAPK، شیموکین‌ها، سرطان اندومتریوم رحمی و هم‌چنین مسیر سیگنالی مرگ و تکثیر سلولی دخالت دارند. طبق اطلاعات ما این مطالعه، نخستین تحقیقی است که روی سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی انجام شده است که می‌تواند درک ما را در ارتباط با مکانیسم‌های مرتبط به التهاب‌های ناشی از عفونت‌های رحمی در گاو شیری افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: آنالیز ترانسکریپتوم، تکثیر سلولی سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم، لیپوپلی‌ساکارید، مسیرهای بیولوژیکی

مقدمه

مدیریت عملکرد تولید مثلی، موضوعی مهم در صنعت گاو شیری می‌باشد. وجود اثرات زیست‌محیطی و رفاه نامطلوب در سیستم‌های صنعتی مزارع دامی، ضرورت افزایش پایداری[2] این سیستم‌ها را مشهود می‌سازد. پایداری سیستم‌های تولید در مزارع گله گاوهای شیری بیشتر روی توانایی گاوها برای بهبود عملکرد تولیدمثلی تکیه می‌کنند (۱). یکی از مشکلات اساسی در زمینه عملکرد تولیدمثلی در مزارع صنعتی گاوهای شیری، عفونت رحم و پستان و التهاب ناشی از آن‌ها می‌باشد. معمولا عفونت در هنگام زایمان و به میزان کمتر در سیکل فحلی رخ می‌دهد. اگرچه آلودگی رحم بعد از زایمان شایع است، اما گاوهای سالم قادر به از بین بردن باکتری‌های رحمی در ۲ تا ۳ هفته بعد از زایمان می‌باشند. التهاب رحم در گاو که اخیرا به‌عنوان التهاب رحمی نفاسی، بالینی، تحت بالینی و پایومترا (چرکی بودن رحم) طبقه‌بندی می‌شود، یکی از عوامل مهم ناباروری یا کم باروری درگله‌های شیری به حساب می‌آید (۴،۳،۲). فراوانی التهاب رحم معمولا به دلیل وقوع انواع مختلفی از متریت نفاسی داخل رحمی و اندومتریت بالینی به حدود ۲۰-۴۰٪ درگله می‌رسد (۵،۳). ورم پستان نیز به دلیل وقوع یک التهاب در غدد پستانی است که ناشی از عفونت باکتریایی می‌باشد. هرچند در این زمینه تحقیقات جامعی صورت نگرفته است اما به‌طور نسبی در زنان شیرده این بیماری رایج بوده و یک نرخ ۱۰ تا ۲۰ درصدی گزارش شده است (۶). اهمیت این بیماری در صنعت گاو شیری دو چندان می‌باشد زیرا عفونت‌های باکتریایی بافت پستان از قبیل ورم پستان جزء ده بیماری مهم اقتصادی و یا حتی در برخی از گزارشات به‌عنوان یکی از پر هزینه‌ترین بیماری‌ها در صنعت گاو شیری در دنیا مطرح است (۷). بر اساس محاسبات مالی، هزینه خسارات وارده ناشی از این قبیل بیماری‌ها به دلیل خرابی شیر، کاهش تولید شیر، کاهش کیفیت شیر و افزایش هزینه‌های دامپزشکی جهت درمان، در حدود ۲ میلیارد دلار در آمریکا و ۱/۴ میلیون یورو در اروپا به‌طور سالانه برآورد شده است (۸). این بیماری بسیار حاد بوده و در مواردی می‌تواند باعث ناباروری، آسیب شدید بافتی و یا حتی مرگ حیوان در اثر شوک اندوتوکسین شود (۹). مطالعات گذشته نشان دادند عفونت‌های رحمی منجر شده به ورم پستان، در ۴۰ درصد از حیوانات، عموما در هفته اول بعد از زایمان رخ می‌دهد (۱۰). باکتری اشیرشیاکولای اولین پاتوژن همبسته به بیماری رحمی بعد از زایمان می‌باشد (۹). در پستانداران، باکتری‌ها به وسیله گیرنده‌های شناساگر الگوهای خاص[3] توسط سیستم ایمنی ذاتی و بر حسب تشخیص الگوهای مولکولی وابسته به پاتوژن‌شان[4] شناسایی می‌شوند

1- Lipopolysaccharide (LPS) 2- Sustainability 3- Pattern recognition receptors on the innate immunity system
4- Pathogen associated molecular patterns (PAMPs)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

(۱۰). لیپوپلی‌ساکارید یک اندوتوکسین باکتریایی و بخشی از ساختار غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که تجمع آن در مایع فولیکولی در حیوانات نشان‌دهنده تهاجم میکروبی و به دنبال آن، پاسخ التهابی قابل ملاحظه‌ای است که به این وسیله مسیرهای بیولوژیکی مختلفی را درگیر و در نهایت منجر به آزاد شدن تعدادی از سیتوکین‌ها و شیموکین‌های التهابی می‌شود (۱۱). مطالعات مختلفی نشان دادند که سیتوکین‌های التهابی می‌توانند سبب ورم پستان‌های حاد و همچنین کاهش غلظت استرادیول و افزایش فازهای جسم زرد، توقف فعالیت سیکلی تخمک، تغییرات در متابولیسم تغذیه‌ای و مرگ سلولی شود که در نهایت می‌توانند روی تولید شیر و مقدار چربی شیر و همچنین کارایی انرژی شیر تأثیر داشته باشند (۱۵،۱۴،۱۳،۱۲). اندومتریوم اولین سد دفاعی در برابر پاتوژن‌های میکروبی می‌باشد. فعال‌سازی TLR[1]ها توسط پاتوژن‌ها و در ادامه تغییر پروفایل بیان سیتوکین‌ها، از مهمترین فعالیت‌های بیولوژیکی هستند که در سیستم ایمنی رخ می‌دهند (۱۷،۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی، از طریق سنتز سیتوکین‌های التهابی به لیپوپلی‌ساکاریدها پاسخ می‌دهند (۱۸). اگر چه پژوهش‌های گذشته روی گاوهای شیری، تغییرات تولید پروتئین‌های اختصاصی و هم‌چنین پروفایل بیان برخی از ژن‌ها را در مواجهه با چالش‌های آزمایشی و یا ورم پستان‌های طبیعی را مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۹،۲۰،۲۱)، اما یافته‌های این پژوهش‌ها اطلاعات جامعی را در اختیار ما قرار نداده است و تنها به بیان نسبی برخی از ژن‌های کاندید دخیل در ورم پستان و تعداد کمی از ژن‌های کد کننده شیموکین‌ها و سیتوکین‌ها پرداخته و مسیرهای بیولوژیکی دخیل در این زمینه هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند. تکنولوژی آنالیز ترانسکریپتوم یکی از ابزارهای بسیار مهمی در بررسی‌های اثرات متقابل پیچیده بین میزبان و پاتوژن‌های باکتریایی به حساب می‌آید. از ویژگی‌های برجسته این تکنولوژی توانایی نمایش بیان افتراقی هزاران ژن به‌طور همزمان است (۲۲) که در ادامه می‌توان با استفاده از مدل‌های بیوانفورماتیکی، مسیرهای بیولوژیکی و هم‌چنین شبکه‌های ژنی دخیل در این فرایندهای پیچیده را مورد شناسایی قرار داد. سلول‌های اپی‌تلیال، اولین سد دفاعی در برابر هجوم میکروب‌ها می‌باشند که در فعال‌سازی سیستم ایمنی علیه عفونت‌ها و همچنین ترشح سیتوکین‌های التهابی نقش کلیدی ایفا می‌کنند (۱۰). افزایش تکثیر سلولی بخشی از فرآیند التهابی است و اثر LPS بر افزایش تکثیر سلولی در سلول‌های اپی‌تلیال انسانی (۲۳) و همچنین سلول‌های ایمنی (۲۴) گزارش شده است. علی‌رغم گزارشات متعدد در مورد اثر عصاره لیپوپلی ساکارید بر سلول‌های مختلف، تا به حال آنالیز ترانسکریپتوم روی سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی صورت نگرفته است. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات LPS بر پروفایل بیان ژن‌ها و هم‌چنین بررسی مسیرهای بیولوژیکی دخیل در تکثیر سلولی و پاسخ‌های التهابی رحم با استفاده از آنالیز ترانسکریپتوم در سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های رحمی

در این پژوهش، سه راس گاو قرمز سوئدی[2] در مرحله دای استروس از سیکل فحلی انتخاب شدند که هیچ‌گونه علائم بیماری یا عفونت میکروبی در این گاوها مشاهده نشد. بعد از جمع‌آوری رحم این گاوها در کشتارگاه، بخش اندومتریوم رحم جداسازی و به مدت دو ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد با کلاژناز (C5138, Sigma) و هیالورونیداز (250U/ml) (H3506, Sigma) در PBS حامل دو درصد BSA (Sigma) جهت باز شدن سلول‌ها از همدیگر انکوبه شدند.

جداسازی و کشت سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم رحمی

در این پژوهش، خلوص کشت سلول‌های اپی‌تلیال با استفاده از مشاهده مورفولوژیکی در زیر میکروسکوپ انجام گرفت. بعد از جداسازی سلول‌های اپی‌تلیال از بافت اندومتریوم و تهیه محیط‌های کشت سلولی (۲۵)، سلول‌های موردنظر ($۱۰^{۵} \times ۳-۲$ سلول در هر نمونه) با دوزهای ۰، ۲ و ۸ میکروگرم بر میلی لیتر LPS (Sigma، O111:B4) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند.

شمارش سلول‌های اپی‌تلیال

جهت بررسی اثر LPS روی تکثیر سلولی، تعداد سلول‌ها در قبل و بعد از ۷۲ ساعت تیمار با دوزهای مختلف LPS (۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر)، با روش هموسیتومر شمارش شدند. لازم به ذکر است که به منظور از بین بردن آلودگی‌های باقیمانده فیبروبلاستی، سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم به‌مدت دو دقیقه در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در حضور trypLE^{TM} express (Gibco, 12605) انکوبه و در پایان خلوص سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم توسط میکروسکوپ مورد تایید قرار گرفت.

آماده‌سازی کتابخانه ژنتیکی و تعیین توالی RNA

استخراج RNA کل از ۱/۵ میلیون سلول در هر نمونه با کیت شرکت کیاژن Allprep DNA/RNA/miRNA Universal Kit (Qiagen, Cat.No.80224) طبق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از بایوآنالایزر (Bioanalyzer) بررسی شد. کتابخانه‌های تعیین توالی برای ۱۲ نمونه (برای هر گاو در زمان ۰ و ۲۴ ساعت بعد از چالش با ۰، ۲ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر LPS) با استفاده از پلت فرم‌های تعیین توالی (SciLifeLab,Uppsala; https://www.scilifelab.se/) از یک میکروگرم RNA کل و با استفاده از کیت TruSeq standard mRNA sample prep kit حاوی PolyA selection (RS-122-2101/2, IlliminaInc; 15031047, revE) طبق دستورالعمل شرکت سازنده تهیه شدند. تعیین توالی با استفاده از Hiseq 2500، طول خوانش به اندازه ۱۲۵ جفت باز و ۳۰ میلیون خوانش برای هر نمونه انجام گرفت.

1- Toll like Receptor

2- Swedish Red Breed (SRB)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

آنالیز بیوانفورماتیکی

کنترل کیفی خوانش‌ها و مراحل نقشه یابی

آنالیز کنترل کیفیت خوانش‌های خام با استفاده از نرم‌افزار FASTQC (۲۶) انجام و جهت حذف خوانش‌های با کیفیت پایین و هم چنین توالی‌های آداپتور از نرم‌افزار Trimmomatic-0.35 استفاده شد (۲۷) . بعد از تأیید کیفیت خوانش‌ها و حذف توالی‌های آداپتور، با استفاده از نرم‌افزار STAR (۲۸) و ژنوم رفرنس (UMD v3.1.1) (http://bovinegenome.org/)، توالی‌ها نقشه‌یابی شدند. آنالیز PCA و بیان افتراقی ژن‌ها[1] (DEG) با استفاده از بسته آماری Deseq2 نسخه 1.6.3 در برنامه R انجام شد (۲۹). برای بررسی مسیرهای بیولوژیکی و آنتالوژی ژن‌ها از پایگاه داده DAVID (https://david.ncifcrf.gov/) استفاده شد.

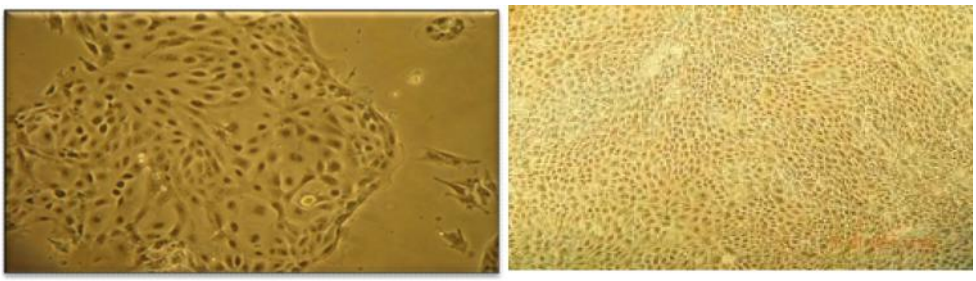
آنالیز آماری

آنالیز شمارش تعداد سلول‌ها در زمان‌های مختلف بعد از تیمار با LPS، با استفاده از رویه ANOVA در برنامه SAS نسخه ۹/۱ صورت گرفت که اثر تعداد دفعات فیلترینگ برای جداسازی سلول‌های اپی‌تلیال از دیگر سلول‌ها، تعداد اولیه سلول‌ها و اثر متقابل این فاکتورها در مدل گنجانده شد. برای بررسی بیان افتراقی ژن‌ها بین گروه‌های مختلف، از بسته آماری DESeq2 در برنامه R استفاده شد که سطح معنی‌داری ۰/۰۵ برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد.

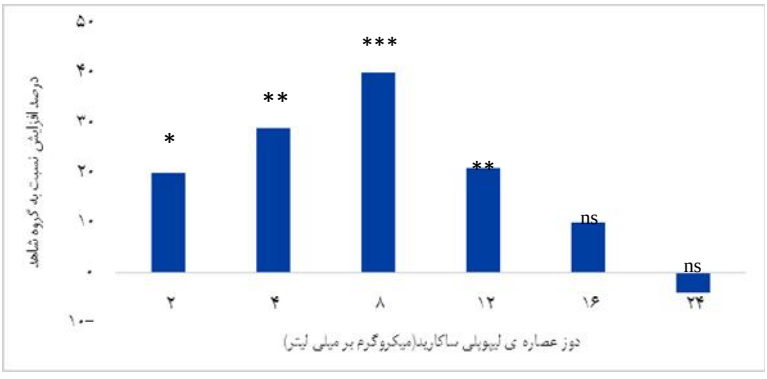
نتایج و بحث

در این پژوهش جداسازی سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم به خوبی انجام و خلوص آن با استفاده از مشاهده مورفولوژیکی زیر میکروسکوپ تایید شد (شکل ۱).

اثر LPS بر سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم با دوزهای مختلف LPS (۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر) تیمار شدند. در زمان صفر و ۷۲ ساعت بعد از تیمار با LPS، تعداد سلول‌ها برای گروه‌های شاهد و تیمار شده شمارش شد. یک افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های تیمار شده با ۲، ۴، ۸ و ۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر LPS (به ترتیب ۵٪±۲۱+، ۵٪± ۳۰+ ۴٪± ۴۱+ و ۵٪± ۱۴+) نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۰۱) در حالی که اثر معنی‌داری در گروه تیمارشده با ۱۶ و ۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر LPS (به ترتیب ۵٪± ۴+ و ۱۴٪± ۵–) نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد (P<۰/۰۵) (شکل ۱). اثر تعداد دفعات فیلترینگ برای جداسازی سلول‌های اپی‌تلیال، تعداد سلول‌های اولیه و همچنین اثرات متقابل این فاکتورها با اثرات تیمار معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). این نتایج نشان می‌دهد که LPS باعث افزایش تکثیر سلولی در سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی می‌شود و این اثر به میزان دوز LPS بستگی دارد.



شکل ۱– نمایی از کشت سلول‌های اپی تلیال اندومتریوم گاوی
Figure 1. A view of the cultivation of bovine endometrial epithelial cells



شکل ۲– اثر دوزهای مختلف LPS بر تعداد سلول‌های اپی تلیال اندومتریوم گاوی
(*** p< 0.0001, ** p< 0.01, * p< 0.05, ns p> 0.05)
Figure 2. The effect of different doses of LPS on number of bovine endometrial epithelial cells.
(*** p< 0.0001, ** p< 0.01, * p< 0.05, ns p> 0.05)

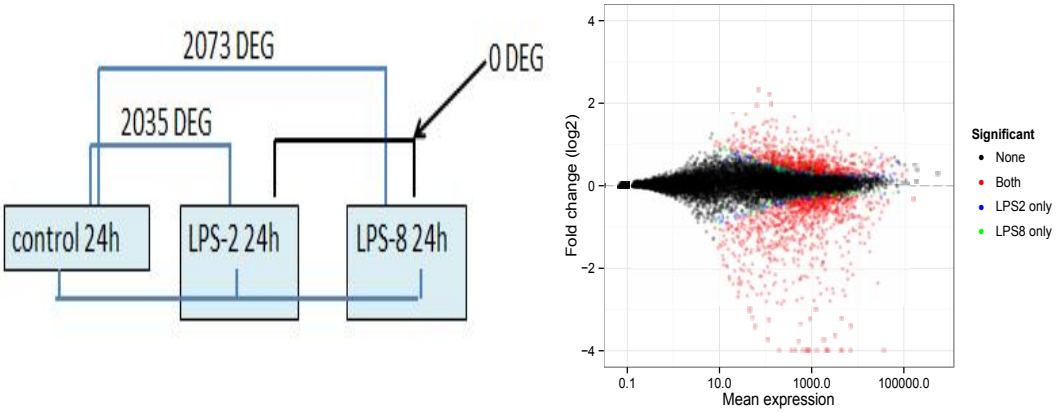
1- Differential expressed gene (DEG)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

تعیین توالی RNA

دوازده نمونه RNA برای تعیین‌توالی تهیه شدند که بعد از توالی‌یابی و کنترل کیفیت، خوانش‌ها در حدود ۲۸ تا ۳۲ میلیون خوانش در هر نمونه به‌دست آمد. بعد از نقشه‌یابی با ژنوم رفرنس (UMD v3.1.1) در حدود ۹۸ درصد از خوانش‌ها با ژنوم رفرنس نقشه‌یابی شدند. نتایج بررسی بیان افتراقی ژن‌ها نشان داد که بین گروه‌های شاهد (در زمان صفر و ۲۴ ساعت بعد از تیمار) و هم‌چنین بین گروه‌های تیمار شده با ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر LPS تفاوت معنی داری وجود نداشت (P<۰/۰۵). در مقایسه با گروه شاهد در ۲۴ ساعت، گروه تیمار شده با ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر LPS، ۲۰۳۵ ژن و گروه تیمار شده با ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر LPS، تعداد ۲۰۳۷ ژن با بیان افتراقی (DEG) مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳- نمودار MA plot (سمت راست) و نتایج بیان افتراقی ژن‌ها بین گروه‌های مورد مطالعه (سمت چپ)
Figure 3. MA plot (right) and differential expression gene results among studied groups

با مقایسه این مجموعه از ژن‌ها با ژن‌های دخیل در تکثیر سلولی موجود در پایگاه داده GeneCards (/http://www.genecards.org) مشخص شده است که تعداد ۷۵۲ ژن از این مجموعه ژنی، در تکثیر سلولی و تعداد ۷۲۷ ژن در مرگ سلولی نقش دارند، داشتند. با مقایسه میزان بیان این ژن‌ها مشخص شد که از بین ۷۵۲ ژن‌شناسایی شده، سطح بیان تعداد ۴۰۰ ژن افزایش (Up-regulate) و تعداد ۳۵۲ ژن نسبت به‌گروه شاهد کاهش بیان (Down-regulate) داشته است (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج بیان افتراقی و تعداد ژن‌های دخیل در تکثیر و مرگ سلولی
Table 1. The results of differential expressed and number of genes involved in cell proliferation and apoptosis

پاسخ به عملکرد	تعداد ژن	نسبت ژن‌های با بیان بالا به بیان پایین Up/Down regulate	تعداد کل ژن‌ها
تکثیر سلولی	۷۵۲	۱/۱۵	۲۰۳۵
مرگ سلولی	۷۲۷	۱/۱۹	۲۰۳۵

آنالیزهای آنتالوژی نشان داد که اغلب ژن‌های با بیان افتراقی در سیستم ایمنی و پاسخ‌های التهابی نقش دارند که در این مورد می‌توان به سیتوکین‌ها یا شیموکین‌ها، ژن‌های مرتبط با اینترفرون، اینترلوکین‌ها، ژن‌های مرتبط با TNF، فاکتورهای رشد و پروستاگلاندین‌ها اشاره کرد (جدول ۲).

حضور سیتوکین‌ها و ژن‌های مرتبط با اینترفرون نمایانگر اهمیت و توانایی سلول‌های اپی‌تلیال در شناسایی و پاسخ به LPS می‌باشد. علاوه بر این، ژن‌ها و نشانگرهای شناخته شده برای تکثیر سلولی مانند IL-8, IL-6, CCL2, TNF, CXCL6, P53, BCL-2, CCL5, AP-1, Cyclin D3 و Ki-67 تفاوت معنی‌داری را در میزان بیان ژن بین گروه شاهد و تیمار نشان دادند. آنالیز مسیرهای بیولوژیکی، فعال شدن تعدادی مسیر سیگنالی مرتبط با سیستم ایمنی از قبیل مسیر سیگنالی Toll-Like Receptor، T Cell Receptor، MAPK، شیموکین‌ها، سرطان اندومتریوم و هم‌چنین مسیر سیگنالی مرگ و تکثیر سلولی که در چالش LPS دخیل بودند را نشان داد. اشیرشیاکولای یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های معمول وابسته به عفونت در دستگاه تناسلی پستانداران به ویژه گاوهای شیری می‌باشد. یک بخش مهم از مکانیسم پاتوژنی به‌دلیل حضور LPS روی غشای بیرونی اشیرشیا کولای و دیگر باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (۳۰). سلول‌های اپی‌تلیال اولین سد دفاعی در بافت‌ها می‌باشند و از لحاظ سیستم ایمنی نیز حائز اهمیت هستند. لیپوپلی‌ساکارید سبب القای مکانیسم التهابی در بافت‌ها می‌شود.

در اندومتریوم، حضور پاتوژن‌ها و LPS، یک‌سری واکنش‌هایی را در برابر عفونت تحریک می‌کند که در نهایت

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

می‌تواند روی فعالیت تولیدمثلی تاثیر منفی بگذارد. این واکنش‌ها شامل شناسایی الگوهای مولکولی وابسته به پاتوژن، ترشح سیتوکین‌ها از طریق فعال سازی Toll-like receptor، جذب سلول‌های ایمنی و اختلال در ترشح پروستاگلاندین‌ها می‌باشد (۳۱). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم توانایی شناسایی پاتوژن را داشته و LPS باعث افزایش بیان سیتوکین‌ها و شیموکین‌ها می‌شود. در ارتباط با فعالیت التهابی LPS، مطالعات روی انسان نشان داده است که LPS از مسیرهای مختلف روی افزایش تکثیر سلولی در بافت‌های مختلف تاثیر می‌گذارد. پژوهش‌های بی‌شماری نشان داده‌اند که LPS موجب التهاب در بافت می‌شود و هم‌زمان، بدن یک شبکه تنظیمی پیچیده منفی (فیدبک منفی) در جهت کاهش پاسخ التهابی را اعمال می‌کند (۳۲) که این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر کاملا مطابقت دارد. تا به حال چندین مولکول سیگنالی درون سلولی شناسایی شده‌اند (۳۴،۳۳)، ولی برای فهم دقیق تر این مکانیسم و تغییرات بیان ژن و مسیرهای بیولوژیکی نیاز به مطالعات بیشتر می‌باشد. با توجه به دانش ما، تا به حال چنین مطالعه‌ای روی سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی انجام نشده است. اما گزارشات زیادی در مورد اثر LPS روی افزایش تکثیر سلولی در انسان منتشر شده است که می‌توان به مطالعات روی سلول‌های ایمنی خون (۳۵)، سلول‌های مخاطی بینی (۳۶)، سلول‌های اندوتلیال (۳۷)، سلول‌های هپاتیک[1] (۳۸)، لاین سلولی سلول‌های عصبی (۳۹)، سلول‌های فیبروبلاست (۴۱،۴۰)، سلول‌های توموری (۴۲)، سلول‌های اپی‌تلیال نای (۲۳)، سلول‌های اپی‌تلیال معده (۴۳)، لاین سلولی روده (۴۴)، سلول‌های اپی‌تلیال روده بزرگ (۴۵)، سلول‌های اپی‌تلیال مجرای صفراوی (۴۸،۴۷،۴۶) و افزایش تکثیر سلولی در سلول‌های اپی‌تلیال قرنیه (۴۹) اشاره داشت. علی رغم وجود گزارشات مختلف مبنی بر اثر LPS بر افزایش و تحریک تکثیر سلولی، گزارشاتی نیز اشاره به ممانعت از تکثیر سلولی داشتند که می‌توان به کاهش زنده‌مانی سلول‌های اپی‌تلیال انسانی و سلول‌های فیبروبلاست لثه دندان (۵۰)، ممانعت از رشد و افزایش مرگ سلولی در سلول‌های مزوتلیال (۵۱) اشاره داشت. علاوه بر این برخی از گزارشات بی‌اثر بودن LPS بر تکثیر سلولی را نشان دادند (۵۲). مقایسه تاثیر LPS بین گونه‌های مختلف نشان داد که بیشتر گزارشات در جوندگان نقش ممانعت‌کنندگی LPS در تکثیر سلولی را بیان کردند (۵۶،۵۵،۵۴،۵۳،۲۵). در گونه گاو، در سال ۲۰۰۱ روی سلول‌های اپی‌تلیال پستان مطالعه‌ای صورت گرفت که نقش ممانعت‌کنندگی LPS بر تکثیر سلولی (۵۷) در حالی که مطالعه دیگر روی سلول‌های اپی‌تلیال پستان افزایش تعداد سلول‌ها را بعد از تیمار با LPS نشان داد (۵۸) با بررسی‌های بیشتر در این زمینه می توان نتیجه گرفت که پاسخ یا روند ثابتی از سلول‌ها در مواجهه با LPS وجود ندارد و افزایش یا کاهش و یا حتی بی‌اثر بودن LPS بر تکثیر سلولی بستگی به گونه، بافت، مدل مطالعه (در آزمایشگاه[2] یا در محیط[3]) و هم چنین زمان تیمار و مقدار دوز LPS دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در ۷۲ ساعت بعد از تیمار با LPS تکثیر سلول های اپی‌تلیال افزایش معنی‌دار داشته است ($P<0/01$). هم چنین افزایش دوز LPS در مطالعه حاضر روند سینوسی را نشان داد که در ابتدا روند افزایشی و در ادامه روند کاهشی را نشان داد که این کاهش احتمالا به‌دلیل مرگ سلولی صورت گرفته است.

توزیع بیان سیتوکین‌ها، شیموکین‌ها، فاکتورهای رشد، هورمون‌های استروئیدی و گیرنده‌های‌شان، گنادوتروپین و گیرنده‌های مرتبط و هم‌چنین پروتئین‌های شوک حرارتی در پاسخ به LPS احتمالا محرک فاکتورهای چندگانه در سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی می‌باشند که در فرآیند مرگ سلولی یا تکثیر سلولی نقش دارند. تا به حال مکانیسم دقیق فرآیند تکثیر سلولی به‌طور واضحی شناسایی نشده است. یافته‌های این پژوهش برای اولین بار ژن‌ها، مسیرهای بیولوژیکی دخیل در تکثیر سلولی در سلول‌های اپی‌تلیال اندومتریوم گاوی را نشان می‌دهد که می تواند در فهم هر چه بیشتر ما در مکانیسم های بیولوژیکی پیچیده مرتبط به التهاب‌های ناشی از عفونت‌های رحمی در گاو که از مشکلات مبتلا به در صنعت گاو شیری است کمک نماید.

1- Hepatic stellate cells
2- In vitro
3- In vivo

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

جدول ۲- طبقه‌بندی نتایج آنالیز بیان افتراقی ژن‌ها بر مبنای عملکرد آن‌ها

Table 2. Classification of differential expressed genes based on their functions

نام ژن	نام کامل ژن	Fold change
	سیتوکین‌ها یا شیموکین‌ها	
CXCL3	Chemokine (C-X-C motif) ligand 3	-۳/۲
CXCL8	Chemokine (C-X-C motif) ligand 8	-۳/۳
CXCL6	Chemokine (C-X-C motif) ligand 6	-۶/۳
CXCL16	Chemokine (C-X-C motif) ligand 16	-۰/۸
CCL5	RANTES	-۳/۱
CCL17	chemokine (C-C motif) ligand 17	-۱/۰
CCL2	Chemokine (C-C motif) ligand 2	-۰/۹
CCL20	Chemokine (C-C motif) ligand 20	-۱/۲
	ژن های مرتبط با اینترفرون	
IFNAR1	interferon (alpha, beta and omega) receptor 1	-۰/۵
IRF1	interferon regulatory factor 1 (IRF1),	-۰/۳
IFNGR2	Interferon gamma receptor 2;	-۰/۲
IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	-۰/۲
IFNGR1	interferon gamma receptor 1 (IFNGR1),	-۰/۲
IF16	interferon, alpha-inducible protein 6	-۱/۹
IFI44L	interferon-induced protein 44-like	-۱/۸
IFIT3	interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats3	-۱/۳
IFITM2	interferon induced transmembrane protein 2	-۰/۸
ISG20	interferon stimulated exonuclease gene	-۰/۶
ISG15	ISG15 ubiquitin-like modifier	-۱/۹
1FI27	putative ISG12(a) protein	-۱/۶
Zbp-1	Z-DNA binding protein 1	-۱/۶
	اینترلوکین‌ها	
IL1R1	interleukin 1 receptor, type I	۰/۸
IL12RB2	interleukin 12 receptor, beta 2	۱/۰
IL8	Interleukin 8	-۳/۳
IL1A	Interleukin 1, alpha	-۲/۷
IL1B	interleukin 1, beta	-۲/۴
IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	-۱/۵
IL22RA1	Interleukin 22 receptor, alpha 1	-۱/۲
IL1RN	interleukin 1 receptor antagonist	-۱/۰
IRAK2	interleukin-1 receptor-associated kinase 2	-۰/۸
IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	-۰/۶
IL23A	interleukin 23, alpha subunit p19	-۰/۵
IL6ST	interleukin 6 signal transducer	-۰/۳
	ژن های مرتبط باTNF	
TNF	Tumor necrosis factor	-۲/۸
CD40	CD40 molecule, TNF receptor superfamily member 5	-۲/۶
TNFAIP3	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	-۲/۱
TNFRSF9	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9	-۲/۰
TNFSF10	Tumor necrosis factor ligand superfamily member 10	-۱/۹
TNFRSF11B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11b	-۱/۶
TNFSF13B	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 13	-۱/۲
LITAF	lipopolysaccharide-induced TNF factor	-۰/۶
TNFRSF13	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 13	-۰/۴
FAS	Fas (TNF receptor superfamily, member 6) (FAS)	-۰/۳
TNFRSF18	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 18	-۰/۶
TRAF2	TNF receptor-associated factor 2	-۰/۳
	پروستاگلاندین‌ها	
PTGS1	prostaglandin-endoperoxide synthase 1	۰/۳
PTGR1	prostaglandin redctase 1	۰/۵
PTGER2	prostaglandin E receptor 2 (subtype EP2)	-۰/۸
	تکثیر سلولی	
P53	Tumor protein p53	-۰/۲
CXCL6	Chemokine (C-X-C motif) ligand 6	-۶/۳
TNF	Tumor necrosis factor	-۲/۸
CCL2	Chemokine (C-C motif) ligand 2	-۰/۹
IL-6	Interleukin 6	-۱/۵
IL-8	interleukin 8	-۳/۳
CCND3	Cyclin D3	-۰/۴
FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	۰/۲
CCL5	RANTES	-۳/۱
BCL-2	BCL2-related protein A1 (BCL2A1)	-۴/۲
Ki-67	marker of proliferation Ki-67	۰/۳

اعداد منفی در قسمت Fold Change نمایانگر Up-regulated DEG و اعداد مثبت Down-regulated DEG می باشند

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

منابع

1. Windig, J., M. Calus, B. Beerda and R. Veerkamp. 2006. Genetic correlations between milk production and health and fertility depending on herd environment. Journal Of Dairy Science, 89: 1765-1775.
2. Sheldon, I.M., G.S. Lewis, S. LeBlanc and R.O. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology, 65: 1516-1530.
3. Gilbert, R.O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N. Erb and M. Frajblat. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. Theriogenology, 64: 1879-1888.
4. Maizon, D., P. Oltenacu, Y. Gröhn, R. Strawderman and U. Emanuelson. 2004. Effects of diseases on reproductive performance in Swedish Red and White dairy cattle. Preventive Veterinary Medicine, 66: 113-126.
5. Földi, J., M. Kulcsar, A. Pecsi, B. Huyghe, C. DeSa, J. Lohuis, P. Cox and G. Huszenicza. 2006. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. Animal Reproduction Science, 96: 265-281.
6. Barbosa-Cesnik, C., K. Schwartz and B. Foxman. 2003. Lactation mastitis. Jama, 289: 1609-1612.
7. Hogeveen, H., K, Huijps and T. Lam. 2011. Economic aspects of mastitis: New developments. New Zealand Veterinary Journal, 59: 16-23.
8. Sordillo, L.M. and K.L. Streicher. 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 7: 135-146.
9. Sheldon, I.M., E.J. Williams, A.N. Miller., D.M. Nash and S. Herath. 2008. Uterine diseases in cattle after parturition. The Veterinary Journal, 176: 115-121.
10. Cronin, J.G., M.L. Turner, L. Goetze, C.E. Bryant and I.M. Sheldon. 2012. Toll-like receptor 4 and MYD88-dependent signaling mechanisms of the innate immune system are essential for the response to lipopolysaccharide by epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. Biology of Reproduction, 86: 51.
11. Sheldon, I.M. and M.H. Roberts. 2010. Toll-like receptor 4 mediates the response of epithelial and stromal cells to lipopolysaccharide in the endometrium. PLoS ONE, 5: e12906.
12. Herath, S., E.J. Williams, S.T. Lilly, R.O. Gilbert, H. Dobson, C.E. Bryant and I.M. Sheldon. 2007. Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their Endocrine Function. Reproduction, 134: 683-693.
13. Sheldon, I., D. Noakes, A. Rycroft, D. Pfeiffer and H. Dobson. 2002. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. Reproduction, 123: 837-845.
14. Williams, E.J., K. Sibley, A.N. Miller, E.A. Lane, J. Fishwick, D.M. Nash, S. Herath, G.C. England, H. Dobson and I.M. Sheldon. 2008. The effect of Escherichia coli lipopolysaccharide and tumour necrosis factor alpha on ovarian function. American Journal of Reproductive Immunology, 60:462-473.
15. Lavon, Y., G. Leitner, E. Klipper, U. Moallem, R. Meidan and D. Wolfenson. 2011. Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. Domestic Animal Endocrinology, 40:98-109.
16. Selsted, M.E. and A.J. Ouellette. 2005. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. Nature Immunology, 6: 551-557.
17. Akira, S., S. Uematsu and O. Takeuchi. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. Cell, 124: 783-801.
18. Herath, S., D.P. Fischer, D. Werling, E.J. Williams, S.T. Lilly, H. Dobson, C.E. Bryant and I.M. Sheldon. 2006. Expression and function of Toll-like receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. Endocrinology, 147: 562-570.
19. Goldammer, T., H. Zerbe, A. Molenaar, H.J. Schuberth, R. Brunner, S. Kata and H.M. Seyfert. 2004. Mastitis increases mammary mRNA abundance of β-defensin 5, toll-like-receptor 2 (TLR2) and TLR4 but not TLR9 in cattle. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 11: 174-185.
20. Schmitz, S., M. Pfaffl, H. Meyer and R. Bruckmaier. 2004. Short-term changes of mRNA expression of various inflammatory factors and milk proteins in mammary tissue during LPS-induced mastitis. Domestic Animal Endocrinology, 26: 111-126.
21. Bannerman, D.D., M.J. Paape, J.W. Lee, X. Zhao, J.C. Hope and P. Rainard. 2004. Escherichia coli and Staphylococcus aureus elicit differential innate immune responses following intramammary infection. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 11: 463-472.
22. Esteve-Codina, A., R. Kofler, N. Palmieri, G. Bussotti, C. Notredame and M. Pérez-Enciso. 2011. Exploring the gonad transcriptome of two extreme male pigs with RNA-seq. BMC Genomics, 12: 11-15.
23. Verspohl, E.J. and J. Podlogar. 2012. LPS-induced proliferation and chemokine secretion from BEAS-2B cells. Pharmacology & Pharmacy, 3(2): 34-37.
24. Ulmer, A.J., H.D. Flad, T. Rietschel and T. Mattern. 2000. Induction of proliferation and cytokine production in human T lymphocytes by lipopolysaccharide (LPS). Toxicology, 152: 37-45.
25. Zhang, L., M. Rees and R. Bicknell. 1995. The isolation and long-term culture of normal human endometrial epithelium and stroma. Expression of mRNAs for angiogenic polypeptides basally and on oestrogen and progesterone challenges. Journal of Cell Science, 108: 323-331.
26. Andrews, S. 2010. FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data. Reference Source.
27. Bolger, A.M., M. Lohse and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics, 67: 170-175.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

28. Dobin, A., C.A. Davis, F. Schlesinger, J. Drenkow, C. Zaleski, S. Jha, P. Batut, M. Chaisson and T.R. Gingeras. 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. Bioinformatics, 29: 15-21.
29. Love, M.I., W. Huber and S. Anders. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome biology, 15: 110-114.
30. Wellnitz, O., E. Arnold and R. Bruckmaier. 2011. Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different immune responses in the bovine mammary gland. Journal of Dairy Science, 94: 5405-5412.
31. Krikun, G., J. Trezza, J. Shaw, M. Rahman, S. Guller, V.M. Abrahams and C.J. Lockwood. 2012. Lipopolysaccharide Appears to Activate Human Endometrial Endothelial Cells Through TLR-4-Dependent and TLR-4-Independent Mechanisms. American journal of reproductive immunology, 68: 233-237.
32. Liu, L., Y. Lin, L. Liu, Y. Bian, L. Zhang, X. Gao and Q. Li. 2015. 14-3-3γ regulates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and lactation in dairy cow mammary epithelial cells by inhibiting NF-κB and MAPKs and up-regulating mTOR signaling. International Journal of Molecular Sciences, 16: 16622-16641.
33. Zhao, M., A. Zhou, L. Xu and X. Zhang. 2014. The role of TLR4-mediated PTEN/PI3K/AKT/NF-κB signaling pathway in neuroinflammation in hippocampal neurons. Neuroscience, 269: 93-101.
34. Butchar, J.P., K.V. Parsa, C.B. Marsh and S. Tridandapani. 2006. Negative regulators of toll-like receptor 4-mediated macrophage inflammatory response. Current Pharmaceutical Design, 12: 4143-4153.
35. Goodier, M.R. and M. Londei. 2000. Lipopolysaccharide stimulates the proliferation of human CD56+ CD3− NK cells: a regulatory role of monocytes and IL-10. The Journal of Immunology, 165: 139-147.
36. Tulic, M.K., J.J. Manoukian, D.H. Eidelman and Q. Hamid. 2002. T-cell proliferation induced by local application of LPS in the nasal mucosa of nonatopic children. Journal of allergy and Clinical Immunology, 110: 771-776.
37. Wiktorowska-Owczarek, A., M. Namiecińska and J. Owczarek. 2015. The effect of ibuprofen on bfgf, vegf secretion and cell proliferation in the presence of LPS in hmec-1 cells. Acta Poloniae Pharmaceutica, 72: 889-894.
38. Toda, K., N. Kumagai, K. Tsuchimoto, H. Inagaki, T. Suzuki, T. Oishi, K. Atsukawa, H. Saito, T. Morizane and T. Hibi. 2000. Induction of hepatic stellate cell proliferation by LPS-stimulated peripheral blood mononuclear cells from patients with liver cirrhosis. Journal of Gastroenterology, 35: 214-220.
39. Niranjan, R., R. Nagarajan, K. Hanif, C. Nath and R. Shukla. 2014. LPS induces mediators of neuroinflammation, cell proliferation, and GFAP expression in human astrocytoma cells U373MG: the anti-inflammatory and anti-proliferative effect of guggulipid. Neurological Sciences, 35: 409-414.
40. He, Z., Y. Gao, Y. Deng, W. Li, Y. Chen, S. Xing, X. Zhao, J. Ding and X. Wang. 2012. Lipopolysaccharide induces lung fibroblast proliferation through Toll-like receptor 4 signaling and the phosphoinositide3-kinase-Akt pathway. PLoS ONE, 7: e35926.
41. Español, A., M. Maddaleno, M. Lombardi, M. Cella, P. Martinez Pulido and M. Sales. 2014. Treatment with LPS plus INF-γ induces the expression and function of muscarinic acetylcholine receptors, modulating NIH3T3 cell proliferation: participation of NOS and COX. British Journal of Pharmacology, 171: 5154-5167.
42. Knapp, M., E. Severinson-Gronowicz, J. Schröder and S. Strober. 1979. Characterization of a Spontaneous Murine B Cell Leukemia .BCL1. II. Tumor Cell Proliferation and IgM Secretion After Stimulation by LPS. The Journal of Immunology, 123: 1000-1006.
43. Marcia Delattre, A., B. Carabelli, M. Aurélio Mori, C. Pudell, D. RBL da Silva, I. Menezes, P.R.G. Kempe, P. Vinícius Staziaki, P.A. Dombrowski and C. da Cunha. 2013. Multiple intranigral unilateral LPS infusion protocol generates a persistent cognitive impairment without cumulative dopaminergic impairment. CNS & Neurological Disorders-Drug Targets .Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders, 12: 1002-1010.
44. Yokota, S.I., T. Okabayashi, M. Rehli, N. Fujii and K.I. Amano. 2010. Helicobacter pylori lipopolysaccharides upregulate toll-like receptor 4 expression and proliferation of gastric epithelial cells via the MEK1/2-ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway. Infection and Immunity, 78: 468-476.
45. Lin, T.Y., C.W. Fan, M.C. Maa and T.H. Leu. 2015. Lipopolysaccharide-promoted proliferation of Caco-2 cells is mediated by c-Src induction and ERK activation. BioMedicine, 5: 5-10.
46. Park, J., G.J. Gores and T. Patel. 1999. Lipopolysaccharide induces cholangiocyte proliferation via an interleukin-6–mediated activation of p44/p42 mitogen-activated protein kinase. Hepatology, 29: 1037-1043.
47. Chen, G.Y., J. Tang, P. Zheng and Y. Liu. 2009. CD24 and Siglec-10 selectively repress tissue damage–induced immune responses. Science, 323: 1722-1725.
48. O'Hara, S.P., P.L. Splinter, C.E. Trussoni, G.B. Gajdos, P.N. Lineswala and N.F. LaRusso. 2011. Cholangiocyte N-Ras protein mediates lipopolysaccharide-induced interleukin 6 secretion and proliferation. Journal of Biological Chemistry, 286: 30352-30360.
49. Eslani, M., A. Movahedan, N. Afsharkhamseh, H. Sroussi and A.R. Djalilian. 2014. The role of toll-like receptor 4 in corneal epithelial wound healingtlr4 in corneal epithelial wound healing. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 55: 6108-6115.
50. Basso, F.G., D. Soares, T. Pansani, A. Turrioni, D. Scheffel, C. de Souza Costa and J. Hebling. 2015. Effect of LPS treatment on the viability and chemokine synthesis by epithelial cells and gingival fibroblasts. Archives of Oral Biology, 60: 1117-1121.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

51. Li, L., W. Shoji, H. Takano, N. Nishimura, Y. Aoki, R. Takahashi, S. Goto, T. Kaifu, T. Takai and M. Obinata. 2007. Increased susceptibility of MER5 .peroxiredoxin III. knockout mice to LPS-induced oxidative stress. Biochemical and Biophysical Research Communications, 355: 715-721.
52. Klunker, L., S. Kahlert, P. Panther, A.K. Diesing, N. Reinhardt, B. Brosig, S. Kersten, S. Dänicke, H.J R. Othkötter and J. Kluess. 2013. Deoxynivalenol and lipopolysaccharide alter epithelial proliferation and spatial distribution of apical junction proteins along the small intestinal axis. Journal of Animal Science, 91: 276-285.
53. Daly, K.A., S.L. Mailer, M.R. Digby, C. Lefévre, P. Thomson, E. Deane, K.R. Nicholas and P. Williamson. 2009. Molecular analysis of tammar (Macropus eugenii) mammary epithelial cells stimulated with lipopolysaccharide and lipoteichoic acid. Veterinary Immunology and Immunopathology, 129: 36-48.
54. Freitag, A., A. Reimann, I. Wessler and K. Racké. 1996. Effects of bacterial lipopolysaccharides (LPS) and tumour necrosis factor-α (TNFα) on rat tracheal epithelial cells in culture: morphology, proliferation and induction of nitric oxide (NO) synthase. Pulmonary Pharmacology, 9: 149-156.
55. Hei, Z., A. Zhang, J. Wei, X. Gan, Y. Wang, G. Luo and X. Li. 2012. Lipopolysaccharide effects on the proliferation of NRK52E cells via alternations in gap-junction function. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 73: 67-72.
56. Cohn, Z.J., A. Kim, L. Huang, J. Brand and H. Wang. 2010. Lipopolysaccharide-induced inflammation attenuates taste progenitor cell proliferation and shortens the life span of taste bud cells. BMC Neuroscience, 11: 11-15.
57. Calvinho, L.F., R.A. Almeida and S. Oliver. 2000. Influence of bacterial factors on proliferation of bovine mammary epithelial cells. Revista Argentina De Microbiologia, 33: 28-35.
58. Piotrowska-Tomala, K., M. Siemieniuch, A. Szóstek, A. Korzekwa, I. Woclawek-Potocka, A. Galváo, K. Okuda and D. Skarzynski. 2012. Lipopolysaccharides, cytokines, and nitric oxide affect secretion of prostaglandins and leukotrienes by bovine mammary gland epithelial cells. Domestic Animal Endocrinology, 43: 278-288.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]

Differential Gene Expression Analysis in Bovine Endometrial Epithelial Cells Following by *E. Coli* LPS Challenge

Mojtaba Najafi[1], Ghodrat Rahimi-Mianji[2], Yongzhi Guo[3], Naveed Jhamat[3], Goran Andersson[4], Patrice Humblot[4] and Erik Bangcom-Rudllof[5]

1- PhD in Genetics and Livestock Modification, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, (Corresponding author: mojtaba_najafy@yahoo.com)
2- Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
3, 4 and 5- PhD Student, Associate Professor and Professor, Swedish University of Agricultural Science
Received: August 28, 2016 Accepted: December 5, 2016

Abstract

Lipopolysaccharide is a component of outer membrane of gram-negative bacteria involved in the pathogenic process leading to mastitis and metritis in dairy cattle. Additionally, LPS could be caused endometrium inflammation and implantation failure in many animal species. Based on economic importance of these diseases in dairy cattle industry, analysis of differential gene expression (DGE) and also detection of related pathways in LPS challenge using transcriptome analysis is essential in understanding the mechanism of process. In the present study, after separation of endometrial epithelial cells, and expose them with different doses of LPS (0, 2 and 8 mg/ml), total RNA was extracted and was used for transcriptome libraries preparation. In general, 12 samples (four samples per cow) were sequenced by high throughput technology from three Swedish Red breed cows. The DGE and also biological pathways were identified. The results of present study showed that 2035 genes differentially were expressed between control and treated groups which 752 genes involved in cell proliferation and apoptosis pathway. Additionally, the results of counted epithelial cells have shown that LPS could be significantly increased cell proliferation. Biological pathway analysis showed that some signaling pathways related to immune system such as Toll-like receptor, T cell receptor, MAPK signaling pathway, chemokine signaling pathways, endometrial cancer pathway and also apoptosis and cell proliferation signaling pathways involved in this challenge. According to our knowledge, this study is the first research that has been done in bovine endometrial epithelial cells which can increase our understanding related to the mechanisms of inflammations caused by uterine infections in dairy cattle.

Keywords: Biological Pathways, Endometrial, Epithelial Cells, Cell Proliferation, Lipopolysaccharide, Transcriptome Analysis

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.121]