Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 17, Issue 1, 2026 p: 33-44

OPEN ACCESS

Research Paper

A Transcriptome Study of Ovarian Tissue to Identify Hub Genes and Gene Clusters Involved in Ovarian Cancer in Holstein Cows

Mostafa Ghaedrahmati[1], Farhad Ghafouri-Kesbi[2] and Ahmad Ahmadi[2]

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
(Corresponding author: f.ghafouri@basu.ac.ir, ahmadi@basu.ac.ir)

Received: 20 July, 2025 Revised: 01 October, 2025 Accepted: 05 November, 2025

Extended Abstract

Background: Although the causes of ovarian cancer, its genetics, and drugs that affect it have been frequently studied in humans, it has been less studied in farm animals, especially dairy cows. Moreover, little information is available about this disease, and only some cases have been reported in Holstein cows. Given that ovarian cancer and the body's immune responses to this disease have a genetic background, it is expected that the expression of some genes will change in ovarian cancer conditions. In addition, the interaction of genes involved in ovarian cancer in the form of networks and gene clusters is also expected. Despite the fact that the occurrence of ovarian cancer can affect the performance of the production system by causing mortality and infertility, few genetic studies have been conducted on ovarian cancer in dairy cows. Therefore, this study was conducted to investigate the gene network, gene clusters, and hub genes involved in ovarian cancer using microarray data.

Methods: Gene expression data related to healthy and cancerous ovarian stromal cells, with accession number GSE225981, were extracted from the NCBI website and the GEO Expression Omnibus database. The relevant data were classified into two groups. The first group was animals with ovarian cancer, and the second group was healthy animals (control treatment). A list of significant genes was prepared based on the P-value and LogFC statistics and introduced into the online DAVID software. Further studies were gene enrichment analysis, gene ontology, and analysis of the pathways in which the genes were involved. The gene list was also introduced to the Cytoscape software to be used for network analysis with its algorithms. The protein interaction network and gene clusters were drawn using the STRING resource. Next, gene clusters (highly dense areas of correlated genes in the main network) were identified using the ClusterONE plugin. Three methods were used to identify key genes in the network: degree of centrality, betweenness centrality, and closeness centrality. These network topology measures were calculated using the CytoNCA plugin. In addition, ten central genes in the network (hub genes) were identified and drawn as a network using the Cytohubba plugin.

Results: A total of 512 genes with significant differential expression between healthy and cancer cells were identified and formed the initial network. Five significant gene clusters, which were dense areas within the gene network, were identified in the structure of this network. Pathways related to cancer occurrence were observed for most of the clusters. For example, genes in cluster 1 were associated with cell division and cell cycle processes, cluster 2 with cell movement and cancer metastasis, cluster 3 with drug resistance and cancer induction, cluster 4 with intracellular oxidation processes, and cluster 5 with cortisol synthesis and secretion and purine metabolism. In terms of importance criteria, including degree of centrality, betweenness centrality, and closeness centrality, ten genes, EGFR, CD44, FGF2, ESR1, PTGS2, CCNA2, CDH2, BDNF, FGF10, and KLF4, were identified as the hub genes. These genes played a role in processes such as cell proliferation, cell death, inflammation, tumor growth, cancer metastasis, chemotherapy resistance, tumor growth suppression, and the occurrence of various types of cancer.

Conclusion: The results of this study show that the genes involved in ovarian cancer not only act individually but also interact with each other in the form of networks and gene clusters. The

Copyright ©2026 Ghaedrahmati et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 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.

expression of some genes increased in cancer cells compared to healthy cells, while decreased expression was observed in others. Overall, by identifying genes expressed in ovarian cancer, this study can help better understand the genetic background of ovarian cancer. The EGFR, CD44, FGF2, ESR1, PTGS2, CCNA2, CDH2, BDNF, FGF10, and KLF4 genes identified in the present study can be used to identify drugs effective against the disease using the relevant online tool.

Keywords: Ovarian cancer, Gene, Gene cluster, Microarray

How to Cite This Article: Ghaedrahmati, M., Ghafouri-Kesbi, F., & Ahmadi, A. (2026). A Transcriptome Study of Ovarian Tissue to Identify Hub Genes and Gene Clusters Involved in Ovarian Cancer in Holstein Cows. *Res Anim Prod,* 17(1), 33-44. DOI: 10.61882/rap.2026.1541

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

بررسی ترانسکریپتوم بافت تخمدان برای شناسایی ژن‌های هاب و خوشه‌های ژنی درگیر در سرطان تخمدان گاوهای هلشتاین

مصطفی قائد رحمتی[۱]، فرهاد غفوری کسبی[۱] و احمد احمدی[۱]

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، (نویسنده مسوول: f.ghafouri@basu.ac.ir ،ahmadi@basu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۴

صفحه: ۳۳ تا ۴۴

چکیده مبسوط

مقدمه: اگرچه دلایل وقوع سرطان تخمدان، ژنتیک آن و داروهای موثر بر آن در انسان مکرراً مورد بررسی قرار گرفته‌اند، با این وجود در دام‌های مزرعه‌ای به‌خصوص گاوهای شیری کمتر بررسی شده‌اند، اطلاعات اندکی در مورد آن در دسترس است و فقط مواردی از وقوع آن در گاوهای هلشتاین گزارش شده است. با توجه به این که سرطان تخمدان و پاسخ‌های ایمنی بدن به این بیماری زمینه ژنتیکی دارند، قابل انتظار است که بیان برخی از ژن‌ها در شرایط وقوع سرطان تخمدان دست‌خوش تغییر شود. در ضمن، تعامل ژن‌های درگیر در سرطان تخمدان در قالب شبکه و خوشه‌های ژنی نیز قابل انتظار است. علی‌رغم این که سرطان تخمدان می‌تواند از طریق ایجاد مرگ و میر و ناباروری عملکرد سیستم تولیدی را تحت تاثیر قرار دهد، در گاوهای شیری تاکنون مطالعات ژنتیکی چندانی در مورد آن انجام نشده است. لذا، این تحقیق برای بررسی شبکه ژنی و خوشه‌های ژنی و ژن‌های هاب درگیر در سرطان تخمدان با استفاده از اطلاعات ریزآرایه انجام شد.

مواد و روش‌ها: داده‌های بیان ژن مربوط به سلول‌های استرومای سالم و سرطانی تخمدان با شماره دسترسی GSE225981 از سایت NCBI و از پایگاه GEO Expression Omnibus استخراج گردیدند. داده‌های مربوطه در دو گروه طبقه‌بندی شده بودند. گروه اول حیوانات مبتلا به سرطان تخمدان و گروه دوم حیوانات سالم (گروه کنترل). لیست ژن‌های معنی‌دار بر اساس آماره‌های P-value و LogFC تهیه شد و به نرم‌افزار آنلاین DAVID معرفی گردید و با استفاده از آن، آنالیز غنی‌سازی ژن، هستی‌شناسی ژن و تجزیه و تحلیل مسیرهایی که ژن‌ها در آن دخیل بودند انجام شد. همچنین، لیست ژن‌ها در نرم‌افزار Cytoscape قرار داده شد تا به کمک الگوریتم‌های آن جهت آنالیز شبکه استفاده شود و شبکه برهم‌کنش پروتئینی و خوشه‌های ژنی با استفاده از برنامه STRING رسم گردید. در ادامه، خوشه‌های ژنی (نواحی بسیار متراکم از ژن‌های همبسته در شبکه اصلی) نیز با استفاده از افزونه ClusterONE مشخص شدند. برای شناسایی ژن‌های کلیدی در شبکه، از سه روش استفاده شد: درجه مرکزیت، مرکزیت بینابینی، و مرکزیت نزدیکی. این معیارهای توپولوژی شبکه با استفاده از افزونه CytoNCA محاسبه شدند و سپس با استفاده از افزونه Cytohubba، ده ژن کلیدی در شبکه (ژن‌های هاب) به‌صورت یک شبکه مشخص و رسم گردید.

یافته‌ها: در مجموع، ۵۱۲ ژن با بیان متفاوت معنی‌دار بین سلول‌های سالم و سرطانی مشخص شدند و شبکه ابتدایی را تشکیل دادند. در ساختار این شبکه، پنج خوشه ژنی معنی‌دار که نواحی متراکم داخل شبکه ژنی هستند مشخص شد. برای اکثر خوشه‌ها، مسیرهای مرتبط با وقوع سرطان مشاهده شد. برای مثال، ژن‌های خوشه یک با فرایندهای تقسیم سلولی و چرخه سلولی، خوشه ۲ با حرکت سلول‌ها و متاستاز سرطان، خوشه ۳ با مقاومت دارویی و تحریک بروز سرطان، خوشه ۴ با فرایندهای اکسیداسیون درون سلول و خوشه ۵ با سنتز و ترشح کورتیزول و متابولیسم پورین‌ها (آدنین و گوانین) در ارتباط بودند. از نظر معیارهای اهمیت شامل درجه مرکزیت، درجه بینابینی و درجه نزدیکی، ده ژن EGFR، CD44، FGF2، ESR1، PTGS2، CCNA2، CDH2، BDNF، FGF10 و KLF4 به‌عنوان ژن‌های هاب شناسایی شدند. این ژن‌ها در فرایندهایی مانند تکثیر سلول، مرگ سلول، بروز التهاب، رشد تومور، متاستاز سرطان، مقاومت به شیمی درمانی، سرکوب رشد تومور و بروز انواع مختلف سرطان نقش داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که ژن‌های درگیر در سرطان تخمدان نه تنها به‌صورت انفرادی بلکه در تعامل با یکدیگر و در قالب شبکه و خوشه‌های ژنی هستند. بیان برخی ژن‌ها در سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های سالم افزایش و بیان برخی دیگر کاهش یافته بود. به‌طور کلی، این تحقیق با مشخص نمودن ژن‌های بیان شده در مواجهه با سرطان تخمدان، می‌تواند به درک بهتر از زمینه ژنتیکی سرطان تخمدان کمک کند. ژن‌های هاب EGFR، CD44، FGF2، ESR1، PTGS2، CCNA2، CDH2، BDNF، FGF10 و KLF4 مشخص شده در تحقیق حاضر را می‌توان جهت مشخص نمودن داروهای موثر بر بیماری با استفاده از ابزار آنلاین مربوطه مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: سرطان تخمدان، ژن، خوشه ژنی، ریزآرایه

مقدمه

ژن‌های یوکاریوتی به‌صورت زمانی و مکانی از طریق مکانیسم‌های کنترلی چندبعدی تنظیم می‌شوند Hajalizadeh (et al., 2021). تنها زیرمجموعه محدودی از کل ژنوم در هر نوع بافت به‌صورت فعال بیان می‌شود و بیان ژن به مراحل رشد وابسته است (Heidarpour *et al.*, 2011). در نتیجه، الگوهای بیان ژن در یوکاریوت‌ها مختص بافت هستند (Mohammadinejad *et al.*, 2024). علاوه بر این، سطوح محصولات ژنی سنتز شده در یک بافت معین، و همچنین آن‌هایی که توسط بافت‌های دیگر تأمین می‌شوند، به‌طور جمعی بیان ژن را تنظیم می‌کنند (Shokri *et al.*, 2023). بیان ژن یکی از زمینه‌های اصلی برای بررسی عملکرد ژنومی است که شامل جریان اطلاعات ژنتیکی ازDNAی ژنومی و در نهایت تولید پروتئین عملکردی است و میزان فعالیت ژن‌های متعدد را به طور همزمان برای ایجاد تصویری جامع از عملکرد سلول نشان می‌دهد (Habibi *et al.*, 2024). تنظیم بیان ژن به سلول این امکان را می‌دهد تا بتواند ساختار و کاربرد خود را کنترل کند و همچنین یکی از مسائل بنیادی است که کمک می‌کند تا ژنوتیپ به‌صورت فنوتیپ ظاهر شود. در واقع، کدهای ژنتیکی که در رشته‌های DNA ذخیره شده‌اند به‌وسیله بیان ژن تفسیر می‌شوند و خصوصیات و نحوه بیان ژن، باعث به وجود آمدن فنوتیپ خاص در موجودات زنده خواهد شد (Eskandarynasab & Mohammadabadi, 2021).

سرطان رشد بی رویه و خارج از برنامه طبیعی چرخه سلولی است. معمولاً زمانی که سلولی پیر شود و یا آسیب ببیند، می‌میرد و سلول جدیدی جایگزین آن خواهد شد. سرطان، زمانی آغاز می شود که تغییرات ژنتیکی، این روند منظم را به هم بزنند. در این حالت، سلول‌ها شروع به رشد غیر قابل کنترل می‌کنند و در زمان پیری یا آسیب دیدگی، نمی‌میرند. بنابر این، تعداد این سلول‌ها بیشتر و بیشتر خواهد شد و ممکن است با تجمع در کنار هم تشکیل توده‌ای را بدهند که به آن «تومور» گفته می‌شود (Padma, 2015). آسیب ژنوم که منجر به بیان ژنی نادرست می‌شود، علت اساسی عموم سرطان‌ها است. اغلب زمانی که DNA آسیب ببیند، بدن قادر است آن را ترمیم کند؛ متاسفانه در سلول‌های سرطانی، DNAی آسیب دیده اصلاح نمی‌شود (Rashidi *et al.,* 2021). فعال شدن یک یا چند انکوژن یا ژن‌های تومورزا (ژن‌های تغییر یافته‌ای هستند که در حالت عادی پروتئین‌هایی را که در کنترل رشد و تکثیر سلول‌ها نقش دارند، بیان می‌کنند) یا غیر فعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور (Tumor repressor genes) روند ایجاد سرطان را تسریع خواهد کرد. البته همه تغییرات ژنومی منجر به سرطان نمی‌شوند و فقط تعداد کمی از آنها توانایی سرطان‌زایی دارند و این مساله به ژن جهش یافته، ماهیت جهش و پتانسیل رشد و تکثیر سلول بستگی دارد. جهش‌های منجر به سرطان Driver و جهش‌هایی که منجر به سرطان نمی‌شوند Passenger نامیده می‌شوند. معمولاً چهار تا پنج جهش Driver در ژنوم سلول‌های سرطانی دیده می‌شوند (Brothwell & Barnett, 2022).

سرطان تخمدان بیشترین تعداد مرگ و میر را در بین سرطان‌های زنانه ایجاد می‌کند. تغییرات هورمونی و عوامل ژنتیکی و محیطی در بروز این بیماری نقش دارند Olbromski (*et al.,* 2022). بیش از ۹۰٪ از سرطان‌های تخمدان از سلول‌های اپیتلیال منشاء می‌گیرند که خطرناکترین نوع سرطان تخمدان هم هستند. در مقایسه با سرطان‌های اپیتلیالی تخمدان، سایر تومورهای بدخیم تخمدان ناشایع هستند. بدخیمی‌های غیر اپیتلیالی تخمدان مسئول ۱۰٪ از همهٔ سرطان‌های تخمدان هستند که شامل دو دسته ژرم سل و تومورهای استروما می‌شوند (Hasanzadeh *et al.,* 2017).

سرطان در حیوانات مزرعه‌ای (مانند گاو و گوسفند)، حیوانات خانگی (مثل سگ‌ها، گربه‌ها، خرگوش‌ها و پرنده‌ها) و در حیوانات وحشی نیز دیده می‌شود. حتی در آبزیان نیز مواردی از سرطان گزارش شده است. سرطان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در حیوانات خانگی به شمار می‌رود (Rajmani *et al.,* 2012). سرطان شاخ و سرطان چشم و پاپیلوم از انواع شایع سرطان در گاو هستند، در حالی که تومورهای پستانی در گاو نادر هستند. سرطان چشم شایع‌ترین سرطان گاو است. این بیماری منجر به ضرر اقتصادی قابل‌توجهی می‌شود. این بیماری در نژادهای *Bos taurus* بیشتر از *Bos indicus* رخ می‌دهد و اغلب در نژادهای Hereford، کمتر در نژادهای Simmentals و Holstein-Friesian و به‌ندرت در سایر نژادها دیده می‌شود. اشعه ماوراء بنفش و سطح بالای تغذیه از عوامل مؤثر در بروز این سرطان هستند (Rajmani *et al.,* 2012). یکی دیگر از سرطان‌ها در گاو، سرطان شاخ است. شیوع سرطان شاخ بیشتر در گاوهای نر کاری و به‌ندرت در گاوهای ماده شیرده مشاهده می‌شود. به‌نظر می‌رسد که تغذیه با شیر مادر و عدم تعادل هورمونی ناشی از آن، عامل مستعدکننده یا علت مستقیم سرطان شاخ در گاوهای نر است. گاوهای اصیل معمولاً نسبت به گاوهای دورگه یا غیرمختلط در برابر سرطان شاخ آسیب‌پذیرتر هستند. علت سرطان شاخ هنوز به‌طور کامل شناخته شده نیست اما علت هورمونی برای سرطان شاخ وجود دارد، زیرا سرطان شاخ در گاوهای نر بیشتر از گاوهای ماده دیده می‌شود (Dhaka *et al.,* 2023). در گاو، ویروس پاپیلومای گاوی نوع ۴ (BPV-4) عامل ایجاد پاپیلوماهای دستگاه گوارش است که می‌تواند به کانون ایجاد سرطان تبدیل شود. گاوهای آلوده به BPV-4 دارای سیستم ایمنی سرکوب‌شده هستند. پاپیلوماتوز و سرطان‌های مداوم و گسترده دستگاه گوارش و مثانه به صورت تجربی در حیواناتی با آزاتیوپرین سرکوب ایمنی شده‌اند، ایجاد شده است. در سرطان‌های کانال گوارشی فوقانی یا روده تحتانی، DNA ویروس BPV-2 شناسایی نشده است که نشان می‌دهد ژنوم ویروسی برای حفظ حالت بدخیم لازم نیست. برعکس، DNA ویروس BPV-2 در چندین نوع سرطان مثانه شناسایی شد که نشان می‌دهد این ویروس می‌تواند به‌صورت نهفته وجود داشته باشد و در تبدیل به بدخیمی نقش داشته باشد (Rajmani *et al.,* 2012).

فیزیولوژی و غدد درون‌ریز تخمدان گاو شبیه انسان است به طوری که تخمدان گاو به عنوان یک مدل برای بررسی عملکرد و بیماری‌های تخمدان انسان استفاده می‌شود (Roberts & Huang, 2022). تومورهای تخمدان در حیوانات اهلی شامل گاو رایج هستند اما شیوع آنها در گاو کمتر است. در ۲۰۹۱۳ مورد لمس معمول از طریق مقعد، میزان بروز آنها کمتر از ۰/۵٪ بود. در مطالعه دیگری بر روی ۳۰۲ تومور گاوی، ۷٪ تومورها دستگاه تناسلی را تحت تأثیر قرار داده بودند، که ۴/۳٪ از آن‌ها تخمدان‌ها را درگیر کرده بودند (Mimoune *et al.,* 2017). اگرچه تغییر در بیان برخی ژن‌های خاص در شرایط بروز سرطان تخمدان در انسان بررسی شده است (Olbromski *et al.,* 2022)، در گاوهای شیری تا کنون ژن‌های درگیر با این بیماری در قالب یک شبکه و خوشه‌های ژنی بررسی نشده است. لذا، برای اولین بار، این تحقیق برای مشخص نمودن شبکه ژنی، خوشه‌های ژنی و ژن‌های هاب درگیر با سرطان تخمدان در گاوهای هلشتاین صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

داده‌های بیان ژن مربوط به سلول‌های استرومای سالم و سرطانی تخمدان با شماره دسترسی GSE225981 از سایت NCBI و از پایگاه GEO Expression Omnibus استخراج گردیدند. داده‌های مذکور با استفاده از Bovine Gene 1.0 ST Array طبق پلتفرم GPL16500 تولید شده‌اند که برای سنجش بیان ژنی ۲۴۴۱۵ پروب (ژن) استفاده می‌شوند و با استفاده از mRNA استخراج شده از سلول‌های سالم و بیمار و چیپ مورد نظر، تفاوت بیان ژن‌ها در بافت‌های سالم و بیمار را مشخص می‌نمایند. داده‌های مربوطه در دو گروه طبقه‌بندی

شده بودند. گروه اول حیوانات مبتلا به سرطان تخمدان و گروه دوم حیوانات سالم (گروه کنترل). شماره‌های دسترسی نمونه‌های استفاده شده در این تحقیق در جدول ۱ آورده شده‌اند.

جدول ۱- شماره دسترسی نمونه‌های بافت تخمدان

Table 1. Accession numbers of ovarian tissues

تخمدان سالم- Normal ovary	GSM7061229
تخمدان سالم- Normal ovary	GSM7061230
تخمدان سالم- Normal ovary	GSM7061231
تخمدان سرطانی-Ovarian cancer	GSM7061232
تخمدان سرطانی-Ovarian cancer	GSM7061233
تخمدان سرطانی-Ovarian cancer	GSM7061234

کنترل کیفیت اطلاعات و واکاوی تفاوت بیان ژن‌ها

هر آنالیز تفاوت بیان ژن دو هدف عمده را دنبال می‌نماید. ابتدا بر اساس مقدار لگاریتم Fold Change تخمینی از بزرگی تفاوت بیان ژنی بین دو یا چند وضعیت انجام و سپس معنی‌دار بودن تفاوت بیان ژنی و تصحیح برای آزمون چندگانه بررسی می‌شود. اما قبل از واکاوی بیان ژن‌ها، کنترل کیفیت داده‌های خام و نرمال‌سازی برای حذف اثرات جانبی ضروری است. کنترل کیفیت و نرمال‌سازی داده‌ها توسط نرم‌افزار برخط GEO2R (Clough *et al.,* 2024) انجام شد و در مرحله بعد و در همین نرم‌افزار با معرفی دو گروه سالم و بیمار، ژن‌های با بیان متفاوت بین دو تیمار سالم و بیمار در سطح احتمال P-value <0.05 و آماره Foldchange Log (-1.5 > LogFC< +1.5) مشخص گردیدند. برای جلوگیری از وقوع False Positives از روش (Benjamini & Hochberg, 1995) برای تصحیح مقادیر P-valueها استفاده شد.

تجزیه و تحلیل شبکه تنظیمی بین ژن‌های متفاوت بیان

در این مرحله، لیست ژن‌های معنی‌دار بر اساس آماره‌های P-value و LogFC وارد سایت DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) (Huang *et al.,* 2007) شد. از تعداد ۵۹۵ ژن با تفاوت بیان معنی دار، تعداد ۵۱۲ ژن در سایت DAVID دارای اطلاعات بودند و ۸۳ ژن دیگر فاقد هر گونه اطلاعات در زمینه فرآیندهای سلولی، مسیرهای زیستی و عملکردهای مولکولی بودند و لذا از تجزیه و تحلیل‌های بعدی کنار گذاشته شدند. همچنین، نرم‌افزار آنلاین DAVID برای آنالیز غنی‌سازی ژن (Gene set enrichment analysis) هستی‌شناسی ژن (Gene ontology, GO) و تجزیه و تحلیل مسیرهایی که ژن‌ها در آن دخیل بودند (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathways (KEGG) مورد استفاده قرار گرفت.

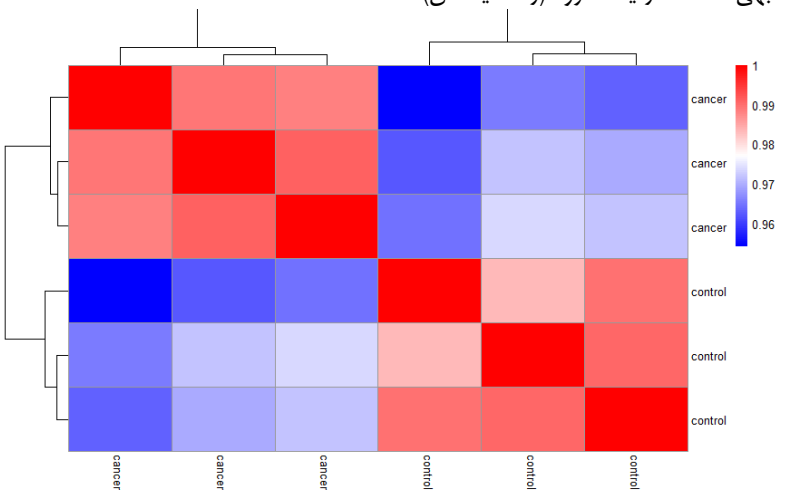
مشخص کردن ژن‌های هاب و خوشه‌های ژنی در شبکه

لیست ژن‌های به دست‌آمده از نرم‌افزار آنلاین DAVID در نرم‌افزار Cytoscape (Shannon *et al.,* 2003) قرار داده شد تا به کمک الگوریتم‌های آن جهت آنالیز شبکه استفاده شود. این ابزار بر اساس میزان همبستگی که در ژن‌های مربوطه وجود دارد، شبکه بیان ژن را ترسیم می‌کند. الگوریتم Network Analyzer که یک افزونه بارگذاری شده در نرم‌افزار Cytoscape است، برای آنالیز شبکه به کار برده شد و شبکه برهم‌کنش پروتئینی (Protein-Protein Interaction, PPI) و خوشه‌های ژنی با استفاده از منبع STRING Jensen (et al., 2009) رسم گردید. برای شناسایی ژن‌های کلیدی در شبکه، از سه آماره استفاده شد: درجه مرکزیت (Degree of Centrality, DC)، مرکزیت بینابینی (Betweeness Centrality, BC) و مرکزیت نزدیکی (Closeness Centrality, CS). این معیارهای توپولوژی شبکه با استفاده از افزونه CytoNCA Tang, Li, Wang, Pan, & Wu, (2015) محاسبه شدند. در ادامه، خوشه‌های ژنی (نواحی بسیار متراکم از ژن‌های همبسته در شبکه اصلی) نیز با استفاده از افزونه ClusterONE Nepusz, Yu, & Paccanaro, (2012) مشخص شدند. همچنین، با استفاده از افزونه Cytohubba (Chin *et al.,* 2014) ژن‌های هاب در شبکه مشخص و به‌صورت یک شبکه ده ژنی رسم گردیدند.

نتایج و بحث

مطالعات اندکی در مورد زمینه ژنتیکی سرطان در دام‌های اهلی مانند گاو صورت گرفته‌اند. در یک مورد، جهش در ژن سرکوبگر تومور p53 و ارتباط آن با سرطان لنف در گاوهای شیری بررسی شد. نتایج نشان دادند که وقوع جهش در ژن p53 با وقوع سرطان لنف در ارتباط بود به صورتی که در گاوهایی که ژن جهش یافته را داشتند وقوع سرطان لنف با درصد بالایی مشاهده گردید Konishi, Kameyama, & Yamamoto, 2021). در مطالعه دیگر، نشان داده شد که ویروس BLV (Bovine Leukemia Virus) که در گاو با سرطان لنف در ارتباط است می‌تواند از طریق گوشت یا شیر به انسان منتقل شده و سرطان سینه را ایجاد کند (de Quadros *et al.,* 2023). به جز این دو گزارش، مقاله معتبر دیگری در زمینه بررسی ژنتیکی سرطان در گاوهای شیری یافت نشد که این مساله در جای خود تفسیر نتایج این تحقیق را دشوار نمود. به هر حال، زمینه ژنتیکی سرطان در انسان مکرراً مورد بررسی قرار گرفته است و شبکه ژنی و ژن‌های انفرادی برای انواع سرطان مشخص شده‌اند. لذا، به ناچار در این تحقیق برای تفسیر نتایج از مقالات مربوط به مطالعات انسانی استفاده شد.

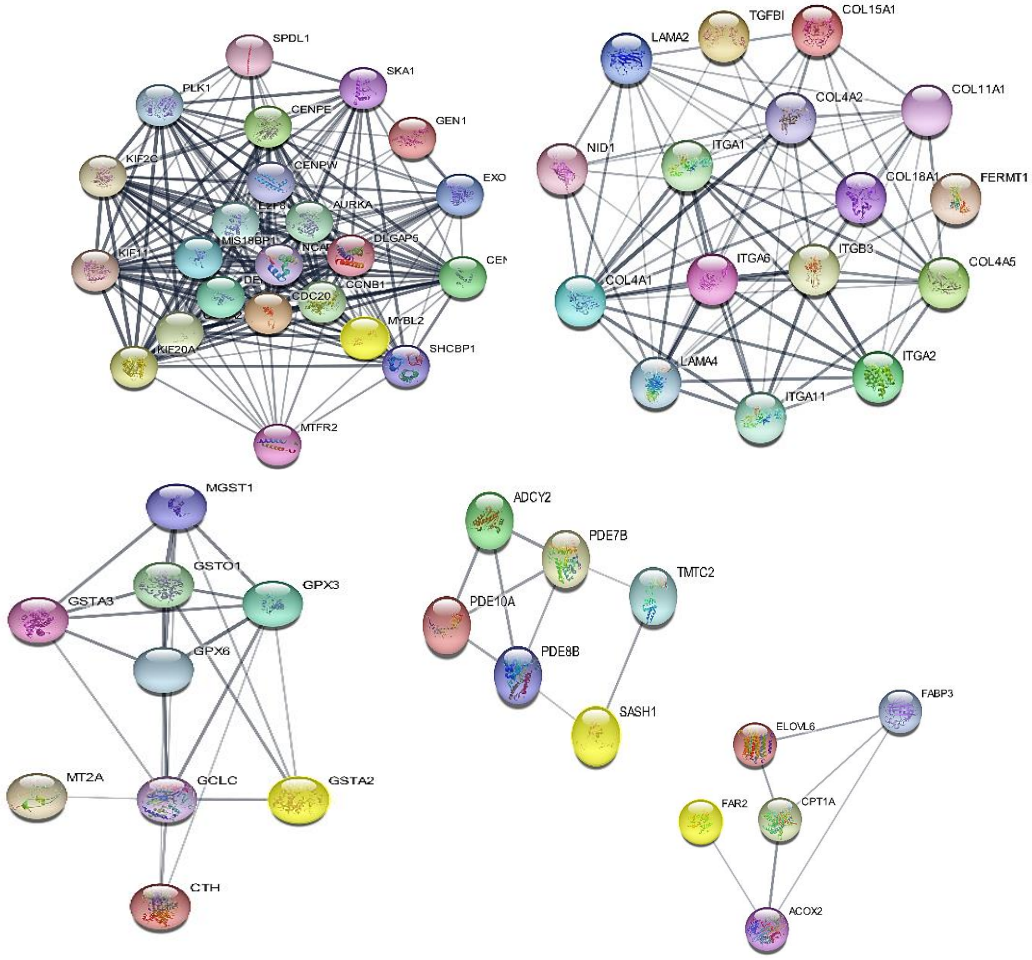
نمودار حرارتی (Heat map) مربوط به نمونه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. هدف این نمودار ایجاد یک کلاسترینگ یا خوشه‌بندی اولیه و نمایش اطلاعات عددی به صورت رنگ است. کلاسترینگ به این معنی است که نمونه‌هایی که حاوی اطلاعات ژنتیکی مشابهی هستند در یک گروه (رنگ یکسان) قرار می‌گیرند. در واقع، این نمودار همبستگی بین نمونه‌ها را نشان می‌دهد. همان گونه که مشاهده می‌شود، نمونه‌ها در دو گروه (سالم و سرطانی) خوشه‌بندی شده‌اند و همبستگی بین نمونه‌ها در هر گروه بیشتر از همبستگی بین نمونه‌های دو گروه است.



شکل ۱- نمودار حرارتی همبستگی بین نمونه‌ها را نشان می‌دهد. رنگ آبی و قرمز به ترتیب نمونه‌های سرطانی و سالم را نشان می‌دهد. دام‌هایی که حاوی اطلاعات ژنتیکی مشابه‌تری هستند همبستگی بالاتری با هم دارند (رنگ تیره‌تر).

Figure 1. The heat map diagram shows the correlation between samples. Blue and red colors indicate cancerous and healthy samples, respectively. Animals that contain more similar genetic information have higher correlations with each other (darker color).

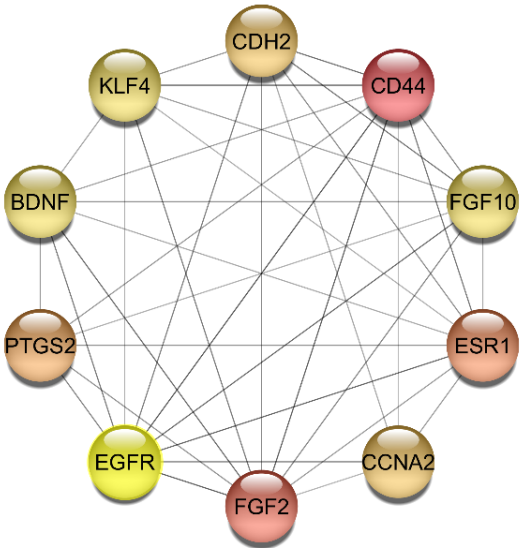
پنج خوشه ژنی معنی‌دار در سطح ۵٪ در شکل ۲ نشان داده شده‌اند. خوشه‌های ژنی نواحی بسیار متراکم در شبکه ژنی هستند که در آنها حداکثر ارتباطات بین ژن‌ها برقرار است. همچنین، مسیرهای سیگنال‌دهی این ژن‌ها در جدول ۲ نشان داده‌اند. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، مسیرهای عملکردی هر خوشه کاملاً متمایز از بقیه خوشه‌ها است و برای اکثر خوشه‌ها، مسیرهای مرتبط با وقوع سرطان مشاهده می‌شوند. برای مثال، ژن‌های خوشه یک با فرایندهای تقسیم سلولی و چرخه سلولی، خوشه ۲ با حرکت سلول‌ها و متساستاز سرطان، خوشه ۳ با مقاومت دارویی و تحریک بروز سرطان، خوشه ۴ با فرایندهای اکسیداسیون درون سلول و خوشه ۵ با سنتز و ترشح کورتیزول و متابولیسم پورین‌ها (آدنین و گوانین) در ارتباط هستند که اختلال در متابولیسم آن‌ها با پیشرفت سرطان در ارتباط است (Sigismund *et al.*, 2018؛ Larsson *et al.*, 2021؛ Akl *et al.*, 2016؛ Ardizzone *et al.*, 2023؛ Rueff & Rodrigues, 2016؛ Yin *et al.*, 2018).



شکل ۲- خوشه‌های ژنی (نواحی متراکم در شبکه که در آن‌ها ژن‌ها در حداکثر تعامل با یکدیگر هستند).
Figure 2. Gene clusters (dense areas in the network where genes interact with each other at maximum).

جدول ۲- مسیرهای سیگنالدهی خوشه‌های ژنی (مسیرهایی که هر خوشه ژنی در آن دخیل است).
Table 2. Signaling pathways of gene clusters (pathways in which gene clusters are involved).

خوشه Cluster	تعداد ژن No. of genes	آماره P P-value	مسیرهای پیام رسانی Signaling pathways
1	23	2.66×10^{-8}	چرخه سلولی، تقسیم سلولی، پیری سلولی، سرطان ریه Cell division, Cell cycle, Cell aging, Lung cancer
2	16	5.04×10^{-6}	تکثیر و تمایز سلولی، چسبندگی سلولی، متاستاز سرطان. Cell multiplication and differentiation, Cell adhesion, Metastasis
3	9	0.004	متابولیسم داروها، مقاومت دارویی، بروز سرطان کبد، تحریک بروز سرطان متابولیسم سیستئین و متیونین. Drug metabolization, Drug resistance, Liver cancer, Cancer stimulation, Cysteine and methionine metabolism
4	5	0.011	واکنش‌های اکسیداسیون درون‌سلولی، متابولیسم اسیدهای چرب. Oxidative process, Fatty acid metabolism
5	6	0.016	سندروم کوشین، متابولیسم پورین، سنتز و ترشح کورتیزول، مسیرهای سیگنالدهی cAMP. Cushing syndrome, Cortisol production and secretion, cAMP signaling



شکل ۳- ژن‌های هاب با بیشترین اهمیت در شبکه ژنی بر اساس درجه مرکزیت، مرکزیت بینابینی و مرکزیت نزدیکی
Figure 3. Hub genes with the most importance in the network based on the Degree of Centrality, Betweenesss Centrality, and Closeness Centrality

جدول ۳- ژن‌های Hub رتبه‌بندی شده بر اساس معیارهای CytoNCA
Table 3-Gene hub ranking based on CytoNCA criteria

ژن	نام ژن	درجه مرکزیت Degree of centrality	درجه بینابینی Betweenness centrality	درجه نزدیکی Closeness centrality
EGFR	گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی Epidermal growth factor receptor	51	26581.29	0.009149
CD44	مولکول CD44 CD44 molecule	51	19837.67	0.009147
FGF2	فاکتور رشد فیبروبلاست Fibroblast growth factor 2	47	14092.44	0.009142
ESR1	گیرنده استروژن ۱ Estrogen receptor 1	36	9533.11	0.009129
PTGS2	پروستاگلاندین اندوپراکسید سنتاز-۲ Prostaglandin-endoperoxide synthase 2	33	9924.41	0.009120
CCNA2	سایکلین A2 Cyclin A2	29	9873.72	0.009115
CDH2	کادهرین ۲ Cadherin 2	29	8482.07	0.009110
BDNF	فاکتور نورون زایی مشتق شده از مغز Brain-derived neurotrophic factor	25	3859.38	0.009128
FGF10	فاکتور رشد فیبروبلاست ۱۰ Fibroblast growth factor 10	25	2210.03	0.009126
KLF4	فاکتور رونویسی KLF KLF transcription factor 4	25	3411.59	0.009123

شکل ۳ گروهی از ژن‌ها را نشان می‌دهد که هسته مرکزی شبکه ژنی را تشکیل می‌دهند و در اصطلاح ژن‌های Hub نامیده می‌شوند. این ژن‌ها از نظر معیارهای اهمیت شامل درجه مرکزیت، درجه بینابینی و درجه نزدیکی در رتبه‌های ۱ تا ۱۰ قرار گرفتند (جدول ۳). همان گونه که مشاهده می‌شود، این ژن‌ها خود شبکه‌ای از ژن‌ها را تشکیل می‌دهند که در برهم‌کنش با یکدیگر هستند (شکل ۳). مهمترین ژن در این شبکه ژن EGFR است. EGFR یک پروتئین کیناز را کد می‌کند که نقش حیاتی در کنترل رشد، تقسیم و مرگ سلولی دارد. وجود جهش در این ژن منجر به برهم ریختن اثر تنظیمی آن و در نتیجه رشد غیر قابل کنترل سلولی می‌شود. جهش ژن EGFR در پاتوژنز بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان ریه، سرطان‌های سیستم عصبی و سرطان سر و گردن نقش دارد. این که این ژن از نظر معیارهای اهمیت در رتبه اول قرار گرفته است نشان می‌دهد که جهش در آن و یا تغییر در بیان این ژن نقشی اساسی در بروز سرطان تخمدان در گاو دارد. همان گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، این ژن با تمامی ژن‌های هاب در تعامل است که بر اهمیت این ژن تاکید دارد. با توجه به اهمیت این مولکول، داروهای جدیدی با هدف اثرگذاری بر EGFR طراحی و ساخته شده‌اند که به مهارکننده‌های تیروزین کیناز معروف هستند. بعضی از جهش‌ها (جهش‌های فعال‌کننده) مولکول EGFR را کاندید مناسب برای هدف گیری توسط این داروها قرار می‌دهند. از این رو، بیماران مبتلا به سرطان که دارای ژنEGFR جهش‌یافته هستند از درمان با این گروه از داروها سود می‌برند (Sigismund *et al.,* 2018).

CD44 یک پروتئین غشایی است که در مولکول‌های با خاصیت چسبندگی یافت می‌شود و توسط ژنی با ۲۰ اگزون کد می‌شود. در گاوهای شیری، این ژن با صفات تولید شیر در ارتباط است. یک مطالعه انجام شده وقوع دو جهش از نوع SNP در این ژن را نشان می‌دهد که به طور معنی‌داری با صفات تولید شیر مانند میزان تولید شیر، درصد چربی شیر و درصد پروتئین شیر در ارتباط است (Sun *et al.,* 2022). در حالت طبیعی، CD44 نقش سرکوب‌کننده رشد سلول را دارد اما با وقوع جهش در آن این ویژگی را از دست می‌دهد. از نظر پاتوفیزیولوژی، CD44 در فرایند رشد سلول، زنده‌مانی، قدرت حرکت سلول، رشد تومور و متاستاز سلول‌های سرطانی در ارتباط است. همچنین، فعالیت آن در تومور با پیش‌آگهی ضعیف در سرطان‌های متفاوت نظیر سرطان‌های سینه، ریه، تخمدان، معده، کولورکتال و سرطان‌های سر و گردن مرتبط است (Wu *et al.,* 2020). همان گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، این ژن نیز با تمامی ژن‌های هاب در تعامل است که اهمیت این ژن در شبکه را نشان می‌دهد.

ژن FGF2 یا فاکتور رشد فیبروبلاست بر روی کروموزوم شماره ۱۰ قرار دارد و عضوی از خانواده بزرگ FGFها است که شامل ۲۳ نوع FGF است. این خانواده ژنی نقش مهمی در توسعه جنین، ثبات ارگان‌های بدن در افراد بالغ، بافت زایی و التیام زخم دارد. در گاوهای شیری، این ژن با صفات تولید شیر و صفات تولیدمثلی در ارتباط است (Kibar & Aytekin, 2025). FGF2 که FGF پایه یا bFGF هم نامیده می‌شود یک تنظیم‌کننده مهم برای رشد و تمایز سلول‌ها به شمار می‌رود و توسط سلول‌های ماهیچه‌های صاف و ماکروفاژها تولید می‌شود. در سلول‌های سرطانی، FGF2 سیگنال‌هایی را ایجاد می‌کند که در نتیجه رشد و توسعه بافت سرطانی را منجر می‌شود. همچنین، وقوع جهش در این ژن با مقاومت به شیمی‌درمانی در ارتباط است (Ardizzone *et al.,* 2023).

ESR1 یا گیرنده استروژن برای رشد مجاری پستان در طی دوره بلوغ ضروری است. ژن ESR1 در بافت‌های قلب، کلیه، مغز، تخمدان، رحم، پستان و بیضه بیان می‌شود. بیشترین سطح بیان در بافت‌های کلیه، تخمدان، رحم و بیضه و کمترین سطح بیان در بافت مغز و قلب هستند (Mohammadabadi, 2020). استروژن یک هورومون استروئیدی است که از طریق فعال کردن ESR1 اثر شدیدی بر توسعه بافت پستان دارد. این ژن بر روی کروموزوم ۶ قرار دارد. در سرطان پستان، جهش‌های نقطه‌ای در این ژن (کدان ۵۹۴) اتفاق می‌افتند و میزان فعالیت این ژن به شدت افزایش می‌یابد (Tomita *et al.,* 2015). همچنین، نقش این ژن در سرطان تخمدان مطالعه شده است. در سلول‌های تخمدان، ESR1 در توسعه فولیکول‌ها و بلوغ اووست‌ها نقش دارد و وقوع جهش در ژن ESR1 در ۱۵٪ از موارد سرطان تخمدان گزارش شده است (Kang *et al.,* 2020).

ژن پروستاگلاندین اندوپراکسید سنتاز-۲ (PTGS2) سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) را رمزدهی می‌کند. سیکلواکسیژناز-۲ یکی از ایزوفرم‌های پروستاگلاندین اندو پراکسید سنتازها است که حالت پروتئینی آن‌ها به سیکلواکسیژنازها (COXها) معروف هستند. به‌دلیل نقش کلیدی که در تبدیل آراشیدونیک اسید به پروستاگلاندین‌ها دارند، نقش مهمی در التهابات ایفا می‌کنند. از بین دو ایزوفرم شناخته شده این خانواده، سیکلواکسیژناز۱ (COX-1) به‌دلیل بیان پایدار و ثابت آن در اکثر بافت‌ها عمدتاً به عنوان یک ژن خانه‌دار (housekeeping) محسوب می‌شود که پروستاگلاندین‌های مورد نیاز سلول‌ها را ایجاد می‌کند. COX-2 ایزوفرم القاپذیر این خانواده محسوب می‌شود و در اکثر بافت‌ها به صورت طبیعی فاقد بیان است و پس از تحریک توسط برخی ترکیبات از جمله سیتوکین‌ها مانند اینترلوکین ۱-بتا، فاکتور نکروز توموری آلفا، فاکتورهای رشد مانند فاکتور رشد اپیدرمی و آغازکننده‌های تومور مانند فاکتور هسته ای کاپا B- بیان آن القا می‌شود (Colagar *et al.,* 2023). در پی القا COX-2 و سنتز پروستاگلاندین‌ها به‌خصوص پروستاگلاندین E2 با نقش خاص خود در ایجاد التهابات و میتوژنز با وقوع و پیشرفت شرایط پیش‌سرطانی و سرطانی مرتبط هستند. افزایش سطح COX-2 در بسیاری از بیماری‌های التهابی مزمن مانند آرتریت روماتوئید و آسم، دیابت و همچنین محیط‌های توموری دیده می‌شود (Hashemi Goradel *et al.,* 2019).

ژن CCNA2 در روی کروموزوم شماره ۴ قرار دارد و تقریباً در تمامی بافت‌های بدن بیان می‌شود. این ژن در وقوع برخی سرطان‌ها و ایجاد متاستاز نقش دارد. بیان این ژن همچنین باعث افزایش حالت تهاجمی سرطان می‌شود. شواهدی وجود دارند که آلودگی‌های هوایی مانند دود سیگار منجر به تحریک

بیان CCNA2 شده‌اند که سرطان ریه را در پی خواهد داشت. تحریک CCNA2 منجر به مختل‌شدن فعالیت سلول‌های AT2 می‌شود که این سلول‌ها اولاً سورفاکتانت ترشح می‌کنند و در ضمن نقش محافظتی در آلئول‌های ریه دارند و از سلول‌ها در مقابل عوامل بیماریزا محافضت نموده، نقش پاک‌کنندگی سلول‌های سرطانی را ایفا می‌کنند (He *et al.,* 2024).

CDH2 به خانواده CDHها یا کادهرین‌ها تعلق دارد. پروتئین حاصل از آن مولکولی وابسته به کلسیم است و نقش اتصالات سلولی را برعهده دارد و به عنوان ژن سرکوبگر تومور در بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان پستان تعدیل می‌شود. از آنجایی که CDH2 چسبندگی و توسعه ساختار طبیعی اپیتلیال و فنوتیپ آن را ارتقا می‌دهد، تنظیم رو به پایین آن در سلول‌های سرطانی با افزایش در انتقال مزانشیمی–اپیتلیالی، حرکت، تهاجمی بودن، و متاستاز کلی ارتباط دارد. این پروتئین در سطوح طبیعی در محل متاستاتیک بیان می‌شود و همچنین در سیتوپلاسم سرطان‌های لوبولار اولیه و متاستاتیک بافت سرطانی تجمع می‌یابد. ارتباط مستقیم این ژن با سرطان پستان نشان داده شده است (Guvakova *et al.,* 2020).

فاکتور نورون‌زایی مشتق‌شده از مغز (Brain-Derived Neurotrophic) توسط ژنی به نام BDNF کد می‌شود. ژن BDNF بر روی کروموزوم ۱۱ قرار دارد و دارای نه اگزون است. این فاکتور از خانواده نوروتروفین‌ها است که سبب گسترش شبکه عصبی مرکزی و محیطی می‌شود. همچنین، مسئولیت راه‌اندازی سیناپس‌های عصبی و برقراری ارتباطات نورونی را نیز بر عهده دارد. بیشترین فعالیت آن در هیپوکامپ و بخش رویی مغز است (Mirzaii-Fini *et al.,* 2018). در گاوهای شیری، نشان داده شده است که این ژن با متابولیسم انرژی و میزان محصول چربی شیر نیز در ارتباط است (Zilk *et al.,* 2011). برخی مطالعات وجود ارتباط بین ژن BDNF و برخی انواع سرطان مانند سرطان ریه و سرطان معده را نشان می‌دهند. تحقیقات نشان داده‌اند که بیان این ژن یک فاکتور ضروری برای رشد آکسونی است و قطع بیان آن باعث اختلال در راه رفتن و ایستادن و ایجاد حرکات ناهماهنگ در موش‌ها می‌شود (Behnam Sabayan & Luc Bonneux, 2011).

ژن FGF10 به خانواده ژن‌های FGF تعلق دارد که فاکتورهای رشد فیبروبلاست را رمزدهی می‌کنند. این فاکتورها در رشد و توسعه بافت‌های بدن نقشی اساسی دارند. موش‌هایی که در آن‌ها ژن FGF10 سرکوب شده است بلافاصله پس از تولد می‌میرند چرا که برخی اندام های داخلی مانند ریه، کلیه و کیسه صفرا در آنها تشکیل نمی‌شود (Ohuchi *et al.,* 2000). در برخی انواع سرطان، نقش FGF10 بررسی شده است. برای مثال، این ژن در سلول‌های بافت پستانی بیان نمی‌شود و بیان آن با وقوع سرطان سینه در زنان در ارتباط است. بر این اساس، مارکرهای SNP که منجر به بیان این ژن در سلول‌های بافت پستان می‌شوند به عنوان مارکر برای پیش‌آگهی وقوع سرطان سینه مورد ستفاده قرار می‌گیرند. همچنین، نقش ژن FGF10 در انواع دیگر سرطان شامل سرطان پروستات، پانکراس، معده، پوست و ریه نیز تایید شده است (Clayton & Grose, 2018).

ژن‌های KLF یک خانواده از عوامل رونویسی هستند که نقش بسیار مهم و حیاتی در بسیاری از فرایندهای مهم سلول از جمله نمو، تکثیر، تمایز، آپوپتوز، مهاجرت و تشکیل تومور ایفا می‌کنند (Yori et al., 2011). ژن KLF4 اغلب در سلول‌های تمایزیافته به‌عنوان یک ضد تکثیر و ضد آپوپتوز بیان می‌شود. به‌نظر می‌رسد که محصول این ژن به‌عنوان یک سرکوبگر تومور عمل میکند. با این‌حال، مطالعات اخیر ژن KLF4 را به عنوان یک آنکوژن نیز معرفی می‌کنند. از آنجا که KLF4 در بسیاری از فرایندهای مهم سلولی درگیر است، ارتباط این ژن با بسیاری از سرطان‌ها از جمله معده، روده، پستان، خون، مثانه، کلیه، مری و ریه معلوم شده است (Foster *et al.,* 2000).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که شبکه‌ای از ژن‌ها حاوی خوشه‌های ژنی در سرطان تخمدان درگیر هستند. میزان بیان برخی ژن‌ها در سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های سالم متفاوت بود. با مشخص نمودن ژن‌های بیان‌شده در مواجهه با سرطان تخمدان، می‌توان به درک بهتری از ساز و کارهای ژنتیکی در هنگام وقوع سرطان تخمدان رسید. ده ژن EGFR، CD44، FGF2، ESR1، PTGS2، CCNA2، CDH2، BDNF، FGF10 و KLF4 به‌عنوان مهمترین ژن‌های شبکه (ژن‌های هاب) شناسایی شدند. از این ژن‌ها می‌توان برای جستجوی داروهای موثر بر سرطان تخمدان در بانک‌های اطلاعاتی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه بوعلی سینا و در قالب رساله دکتری انجام شد.

References

Akl, M. R., Nagpal, P., Ayoub, N. M., Tai, B., Prabhu, S. A., Capac, C. M., . . . & Suh, K. S. (2016). Molecular and clinical significance of fibroblast growth factor 2 (FGF2/bFGF) in malignancies of solid and hematological cancers for personalized therapies. *Oncotarget, 7*(28), 44735.

Ardizzone, A., Bova, V., Casili, G., Repici, A., Lanza, M., Giuffrida, R., . . . & Esposito, E. (2023). Role of basic fibroblast growth factor in cancer: biological activity, targeted therapies, and prognostic value. *Cells, 12*(7),1002.

Behnam Sabayan, M., & Luc Bonneux, M. (2011). Dementia in Iran: how soon it becomes late! *Archives of Iranian medicine, 14*(4), 290.

Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological), 57*(1), 289-300.

Brothwell, M., & Barnett, G. (2022). Cancer genetics and genomics–part 2. *Clinical Oncology, 34*(6), e262-e267.

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*, 1-7.

Clayton, N. S., & Grose, R. P. (2018). Emerging roles of fibroblast growth factor 10 in cancer. *Frontiers in Genetics, 9*, 499.

Clough, E., Barrett, T., Wilhite, S. E., Ledoux, P., Evangelista, C., Kim, I. F., . . . & Sherman, P. M. (2024). NCBI GEO: archive for gene expression and epigenomics data sets: 23-year update. *Nucleic Acids Research, 52*(D1), D138-D144.

Colagar, A. H., Moshtaghian, A., & Zahedi, T. (2023). The Role of Cyclooxygenase-2 in Signaling Pathways Promoting Colorectal Cancer. *Koomesh, 25*(1), 16-23.

de Quadros, D. L., Ribeiro, V. A., Rezende, M. A., Mate, Y. A., Gomes, M. A., Secchi, K., & Kreutz, L. C. (2023). Oncogenic viral DNA related to human breast cancer found on cattle milk and meat. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 101*, 102053.

Dhaka, P., Singh, A., Bhardwaj, S. K., Sharma, S., & Mittal, P. K. (2023) .Importance of horns in dairy cattle. *Ind. Farm., 10*(5), 266-269.

Eskandarynasab, S., & Mohammadabadi, M. (2021). Transcriptome Analysis of Mammary Gland Tissue to Identify Major Genes Involved in the Milk Production. *Research on Animal Production, 12*(32), 160-166. [In Persian]

Foster, K. W., Frost, A. R., McKie-Bell, P., Lin, C.-Y., Engler, J. A., Grizzle, W. E., & Ruppert, J. M. (2000). Increase of GKLF messenger RNA and protein expression during progression of breast cancer. *Cancer Research, 60*(22), 6488-6495.

Guvakova, M. A., Prabakaran, I., Wu, Z., Hoffman, D. I., Huang, Y., Tchou, J., & Zhang, P. J. (2020). CDH2/N-cadherin and early diagnosis of invasion in patients with ductal carcinoma in situ. *Breast Cancer Research and Treatment, 183*, 333-346.

Habibi, P., Hosseinzadeh, S., Javanmard, A., & Rafat, A. (2024). The Identification and Classification of Some Candidate Genes Associated with Resistance to Infectious Nematodes in Sheep Using Microarray Data. *Research on Animal Production, 15*(2), 1-10. [In Persian]

Hajalizadeh, Z., Dayani, O., Khezri, A., Tahmasbi, R., Mohammadabadi, M., Solodka, T., . . . & Babenko, O. (2021). Expression of calpastatin gene in Kermani sheep using real-time PCR.

Hasanzadeh, M., Homaee, F., Ahmadi, S., & Zargar, A. (2017). Evaluation of Risk Factors of Non Epithelial Ovarian Cancer. *Alborz University Medical Journal, 6*(4), 299-304.

Hashemi Goradel, N., Najafi, M., Salehi, E., Farhood, B., & Mortezaee, K. (2019). Cyclooxygenase-2 in cancer: a review. *Journal of Cellular Physiology, 234*(5), 5699-6683.

He, Q., Qu, M., Xu, C., Wu, L., Xu, Y., Su, J., . . . & Cai, J. (2024). Smoking-induced CCNA2 expression promotes lung adenocarcinoma tumorigenesis by boosting AT2/AT2-like cell differentiation. *Cancer Letters, 592*, 216922.

Heidarpour, F., Mohammadabadi, M., Zaidul, I., Maherani, B., Saari, N., Hamid, A., . . . & Mozafari, M. (2011). Use of prebiotics in oral delivery of bioactive compounds: a nanotechnology perspective. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 66*(5), 319-324.

Huang, D. W., Sherman, B. T., Tan, Q., Kir, J., Liu, D., Bryant, D., . . . & Lane, H. C. (2007). DAVID Bioinformatics Resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists. *Nucleic Acids Research*, *35*(suppl_2), W169-W175.

Jensen, L. J., Kuhn, M., Stark, M., Chaffron, S., Creevey, C., Muller, J., . . . & Simonovic, M. (2009). STRING 8—a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms. *Nucleic Acids Research, 37*(suppl_1), D412-D416.

Kang, M., Chong, K. Y., Hartwich, T. M., Bi, F., Witham, A. K., Patrick, D., . . . & Kelk, D. (2020). Ovarian BDNF promotes survival, migration, and attachment of tumor precursors originated from p53 mutant fallopian tube epithelial cells. *Oncogenesis, 9*(5), 55.

Kibar, M., & Aytekin, İ. (2025). Strong associations between the FGF-2 gene and productivity traits of Holstein-Friesian dairy cattle. *Gene, 940*, 149027.

Konishi, M., Kameyama, K.-i., & Yamamoto, T. (2021). Mutations in the tumor suppressor gene p53 in cattle are associated with enzootic bovine leukosis. *Veterinary Microbiology, 263*, 109269.

Mimoune, N., Kaidi, R., Belarbi, A., Kaddour, R., & Azzouz, M. Y. (2017). Ovarian tumors in cattle. *Human and Veterinary Medicine, 9*(2), 41-44.

Mirzaii-Fini, F., Dowlati, M. A., Dehghani Ashkezari, M., & Kouchaki, E. (2018). Investigating the association of Val/Met polymorphism of the BDNF gene with the incidence of disease in patients with Alzheimer and comparison with healthy elderly people in Iran. *Feyz Medical Sciences Journal, 22*(6), 617-623.

Mohammadabadi, M. (2020). Expression of ESR1 gene in Raini Cashmere goat using Real Time PCR. *Agricultural Biotechnology Journal, 12*(1), 177-192.

Mohammadinejad, F., Mohammadabadi, M., Roudbari, Z., Siahkouhi, S. E., Babenko, O., Klopenko, N., . . . & Soumeh, E. A. (2024). Analysis of liver transcriptome data to identify the genes affecting lipid metabolism during the embryonic and hatching periods in ROSS breeder broilers. *Journal of Livestock Science & Technologies (JLST), 12*(2).

Nepusz, T., Yu, H., & Paccanaro, A. (2012). Detecting overlapping protein complexes in protein-protein interaction networks. *Nature Methods, 9*(5), 471-472.

Ohuchi, H., Hori, Y., Yamasaki, M., Harada, H., Sekine, K., Kato, S. & Itoh, N. (2000). FGF10 acts as a major ligand for FGF receptor 2 IIIb in mouse multi-organ development. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 277*(3), 643-649.

Olbromski, P. J., Pawlik, P., Bogacz, A., & Sajdak, S. (2022). Identification of new molecular biomarkers in ovarian cancer using the gene expression profile. *Journal of Clinical Medicine, 11*(13), 3888.

Padma, V. V. (2015). An overview of targeted cancer therapy. *BioMedicine, 5*, 1-6.

Rajmani, R., Mishra, M., Singh, P. K., Sahoo, A. P., Tiwari, A. K., Doley, J., & Kumar, G. R. (2012). Common neoplasms in animals—An overview. *Journal of Animal Research, 2*(2), 127-137.

Rashidi, S., Asadi, A., & Abdolmaleki, A. (2021). Cancer Stem Cells: A Narrative Review. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences, 20*(2), 201-226.

Roberts, J., & Huang, C.-C. J. (2022). Chapter four-bovine models for human ovarian diseases. In: Prog. Mol. Biol. Transl. Sci, Academic Press.

Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., . . . & Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research, 13*(11), 2498-2504.

Shokri, S., Khezri, A., Mohammadabadi, M., & Kheyrodin, H. (2023). The expression of MYH7 gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. *Agricultural Biotechnology Journal, 15*(2), 217-236.

Sigismund, S., Avanzato, D., & Lanzetti, L. (2018). Emerging functions of the EGFR in cancer. *Molecular Oncology, 12*(1), 3-20.

Sun, Y., Wu, X., Ma, Y., Liu, D., Lu, X., Zhao, T., & Yang, Z. (2022). Molecular marker-assisted selection of ABCG2, CD44, SPP1 genes contribute to milk production traits of Chinese Holstein. *Animals, 13*(1), 89.

Tang, Y., Li, M., Wang, J., Pan, Y., & Wu, F.-X. (2015). CytoNCA: a cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks. *Biosystems, 127*, 67-72.

Tomita, S., Abdalla, M. O. A., Fujiwara, S., Matsumori, H., Maehara, K., Ohkawa, Y., . . . & Nakao, M. (2015). A cluster of noncoding RNAs activates the ESR1 locus during breast cancer adaptation. *Nature Communications, 6*(1), 6966.

Wu, G., Song, X., Liu, J., Li, S., Gao, W., Qiu, M., . . . & Chen, Y. (2020). Expression of CD44 and the survival in glioma: a meta-analysis. *Bioscience Reports, 40*(4), BSR20200520.

Yin, J., Ren, W., Huang, X., Deng, J., Li, T., & Yin, Y. (2018). Potential mechanisms connecting purine metabolism and cancer therapy. *Frontiers in Immunology, 9*, 1697.

Yori, J. L., Seachrist, D. D., Johnson, E., Lozada, K. L., Abdul-Karim, F. W., Chodosh, L. A., . . . & Keri, R. A. (2011). Krüppel-like factor 4 inhibits tumorigenic progression and metastasis in a mouse model of breast cancer. *Neoplasia, 13*(7), 601-IN605.