

Research Paper

Effects of Cyclic-Chronic Heat Stress on Contractility-Related Genes in the Heart Muscle of Broilers based on RNA-Seq

Yadollah Badakhshan¹  and Zahra Roudbari²

1- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran,
(Corresponding author: y.badakhshan@ujiroft.ac.ir)

2- Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran

Received: 6 June, 2023

Accepted: 10 December, 2023

Extended Abstract

Background: Rapid growth of broilers leads to insufficient cardiac output, cardiac hypertrophy, and finally sudden death. When livestock are exposed to hot environments, they often try to dissipate heat by increasing blood flow to the skin. This physiological response is a way for animals to adapt to long-term thermal conditions. However, this thermoregulatory mechanism has its limitations. While different animals have varying degrees of tolerance to heat stress, the cardiovascular system can only compensate within a certain range before it starts to impact food production. Domestic poultry, such as chickens, lack sweat glands, which is a key mechanism for body cooling in many other animals. This deficiency forces the cardiovascular system to work harder, sending more blood to the skin to help regulate body temperature. Broilers, in particular, have a narrow thermoneutral zone (the range of temperatures where an animal can maintain its body temperature without expending extra energy) and a high metabolic rate, which places an even greater burden on their cardiac function. Therefore, it is an appropriate model for studying cardiac disease. Heat stress is among the stressors affecting cardiac performance. In accordance with the cardiac system susceptibility of poultry to heat stress, especially broilers because of their fast growth rate, to enhance the ability of modern broiler chickens to withstand heat stress through selective breeding, we need to identify the crucial genes and biological processes that lead to unbalanced heart development and the high incidence of heat-induced heart problems. Thus, the aim was to consider the gene expression of cardiac contractility proteins under heat stress conditions during the growing period of broilers.

Methods: Ross 708 broilers were subjected to heat stress (HS) of 35–37 °C for 8 hours daily for 21 days post-hatch. Initially, male broilers had unrestricted access to feed and water in spacious colony houses maintained at 33 °C, with the temperature gradually decreasing by 3 °C per week until it reached 24 °C by the day 21 post-hatch. At the conclusion of the growth period, the broilers were euthanized, and their left ventricles were isolated for mRNA extraction. RNA-seq data were obtained from NCBI's with the accession number SRP082125. All the expressions of differentially expressed genes (DEGs) were determined and analyzed by DAVID online bioinformatics tools. Gene ontology qualification, including biological processes (BP), cellular component (CC), and molecular role (MF), were achieved from DAVID. Heat stress induction was from days 21-42 for 8 hours every day for 21 days until to end of the growing period.

Results: Gene expression changes were related to 35 genes of the muscular cardiocyte of the left ventricle. From seven genes related to the protein of troponin, TNN and TNNI1 genes, declined significantly, with an increase in the TNNT3 gene expression ($P < 0.05$). Of five genes related to the tropomyosin protein, the TPM1 gene showed a significant increase in expression ($P < 0.05$). Of the two genes related to the ryanodine receptor, RYR3 had significant gene upregulation ($P < 0.05$). From the ten genes related to DHPR, only CACNA2D2 had significant downregulation ($P < 0.05$). Among four calmodulin-related genes, CAMKK1 and CAMK1D showed significant downregulation, and CAMSAP2 revealed upregulation ($P < 0.05$). Significant reductions occurred in the expression of five associated genes of heavy-chain myosin ($P < 0.05$).

Conclusion: Heat stress reduced gene expression of ryanodine, DHPR, and troponin, those related to calcium release into the cell cytosol. Furthermore, it prevents cardiac hypertrophy by decreasing the expression of genes related to the heavy chain of myosin. Thus, the vulnerability

of modern broilers to heart problems, when exposed to high temperatures, may be linked to their heart's reduced capacity, which is likely due to their relatively smaller heart size. According to genetic analysis, the smaller heart size in broilers under heat stress than those in a comfortable temperature environment is likely caused by slower cell growth and division. This research identifies specific genes and biological pathways that could be targeted through breeding to develop broilers that are more resistant to heat stress and have healthier hearts. This study has identified specific genes and biological processes linked to the reduction in heart size observed in broiler chickens subjected to heat stress. These insights provide new opportunities for developing targeted breeding strategies to address this issue. The findings indicate that selective breeding, by focusing on the identified genes and pathways, may enable the development of broiler chickens that are more resistant to heat stress and have healthier hearts. By concentrating on these genetic factors, breeders can work toward creating broiler populations that are more resilient to high temperatures and less susceptible to heart problems.

Keywords: Broiler, Gene Expression, Heat Stress, Heart, Hypertrophy,

How to Cite This Article: Badakhshan, Y., & Roudbari, Z. (2024). Effects of Cyclic-Chronic Heat Stress on Contractility-Related Genes in the Heart Muscle of Broilers based on RNA-Seq. *Res Anim Prod*, 15(2), 21-31. DOI: [10.61186/rap.15.2.21](https://doi.org/10.61186/rap.15.2.21)

مقاله پژوهشی

تأثیر استرس گرمایی مزمن-منقطع بر ژن‌های مرتبط با پروتئین‌های انقباضی در عضله قلب جوجه گوشتی: براساس داده‌های RNA-Seq

یدالله بدخشانی^۱ و زهرا رودباری^۲

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران، (نویسنده مسئول: y.badakhshan@ujiroft.ac.ir)

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۱۶

صفحه ۲۱ تا ۳۱

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: طیور گوشتی به دلیل رشد سریع، با عدم کفایت سیستم قلبی-عروقی و در نتیجه با هیپرتروفی ماهیچه قلب و مرگ ناگهانی مواجه می‌شوند. از این رو مدل مناسبی برای مطالعه سیستم قلبی می‌باشند. یکی از استرس‌هایی که می‌تواند عملکرد قلب را تحت تأثیر قرار دهد، استرس گرمایی می‌باشد. حیوانات هنگام مواجهه با گرمای هوا، شدت خون‌رسانی به سطح پوست را می‌افزایند تا به‌روش عرق کردن و گرمای تشعشعی به خنک کردن خود کمک کنند. ماکیان اهلی فاقد غدد عرق بوده و این بر وخامت اوضاع برای خنک کردن بدن می‌افزاید. سیستم قلبی-عروقی برای این منظور فشار بیشتری را در طیور تحمل می‌کند تا خون‌رسانی بیشتری را به سطح پوست انجام دهد. نرخ متابولیسم بالایی بدن در طیور گوشتی و منطقه خنثی حرارتی محدود پرندها فشار بیشتری را بر قلب و عروق طیور به‌وجود می‌آورد. با توجه به حساسیت سیستم قلبی و عروقی طیور نسبت به استرس گرمایی خصوصاً جوجه گوشتی به دلیل نرخ رشد سریع و نرخ متابولیسم بالا، هدف این مطالعه بررسی تأثیر استرس گرمایی بر بیان ژن پروتئین‌های انقباضی قلب جوجه‌های گوشتی تا پایان دوره پرورش بود. همچنین برای بهبود توان قلبی-عروقی طیور گوشتی در شرایط استرس گرمایی، نیاز به بررسی و شناسایی ژن‌های مرکزی در مسیرهای متابولیسمی و عملکردی قلب می‌باشد تا به فهم بهتر علل نارسایی قلب طیور تحت استرس‌های طولانی مدت پی برده شود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق جوجه‌های گوشتی نژاد راس ۷۰۸ از روز ۲۱ پرورش تحت استرس گرمایی چرخه‌ای روزانه قرار داده شدند. گروه شاهد تحت شرایط پرورش نرمال و خنثی حرارتی بودند. در تمام طول دوره پرورش دسترسی به آب و خوراک برای همه گروه‌ها آزاد بود. دما در ابتدای دوره ۳۳ درجه سانتی‌گراد بود و به‌طور هفتگی ۳ درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد تا به ۲۱ روزگی سن رسیدند. از سن مذکور تحت استرس گرمایی قرار داده شدند. در آخر مرغ‌ها به‌صورت روش انسانی کشتار و ماهیچه بطن چپ استخراج و کل ژنوم توالی‌یابی ژنی شد. براین اساس ابتدا داده‌های مربوطه از پایگاه NCBI با شماره دسترسی SRP082125 در فرمت SRA دانلود شدند. در ادامه برای بررسی کیفیت داده‌ها از نرم‌افزار FastQC و برای ویرایش داده‌ها و حذف آداپتورها از نرم‌افزار Trimmomatic استفاده گردید. انجام مراحل نقشه‌یابی خوانش‌ها به‌روی ژنوم مرجع و آنالیز بیان ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار CLC Geneomics انجام شد. از وب سایت GeneOntology برای شناسایی مسیرهای بیولوژیکی ژن‌ها، تعیین نقش ژن‌ها در مسیرهای عملکردی سلول و از نرم‌افزار STRING جهت رسم شبکه ژنی و شناسایی ژن‌های هاب و ژن‌های مرکزی در بین مسیرهای مختلف متابولیسمی سلول‌های قلب استفاده شد.

یافته‌ها: استرس گرمایی چرخه‌ای روزانه به مدت ۸ ساعت در روز از ۲۱ تا ۴۲ روزگی دوره پرورش سبب تغییر بیان در ۳۵ ژن مرتبط با سیستم انقباضی قلب شد. ۷ ژن مرتبط با پروتئین تروپونین بودند. که در این رابطه ژن مربوط به TNNI1، TNN و به‌طور معنی‌داری کاهش و ژن TNNT3 افزایش بیان نشان دادند ($P < 0.05$). پنج ژن مرتبط با تروپومیزین بود که از میان آن‌ها ژن TPM1 افزایش بیان معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). در مورد ژن‌های گیرنده ریانودین دو و سه در بین ژنوم رونویسی شده مشاهده گردید، اما ژن مربوط به RYR3 به‌طور معنی‌داری افزایش بیان نشان داد ($P < 0.05$). از ده ژن مرتبط با گیرنده دی هیدروپیریدین، CACNA2D2 به‌طور معنی‌داری دچار کاهش بیان گردید. از میان ۴ ژن مرتبط با کالמודولین، CAMK1D و CAMKK1 به‌طور معنی‌داری کاهش و CAMSAP2 افزایش بیان را نشان دادند ($P < 0.05$). پنج ژن مرتبط با زنجیره سنگین میوزین در بین ژنوم رونویسی شده مشاهده شدند که به‌طور معنی‌داری دچار کاهش بیان ژن شده بودند ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان داد که استرس گرمایی چرخه‌ای طولانی مدت با کاهش بیان ژن‌های مربوط به پروتئین‌های تروپونین، ریانودین و دی هیدروپیریدین از تجمع کلسیم در سیتوزول سلول‌ها می‌کاهد و همچنین با کاهش بیان رشته سنگین میوزین از هیپرتروفی قلب جلوگیری می‌کند. براساس یافته‌های حاصل از بررسی بیان کل ژنوم ارگانی از بدن که در شرایط استرس گرمایی طولانی دچار کاهش عملکرد می‌گردد، سیستم قلبی عروقی در جوجه‌های گوشتی مرحله رشد سریع می‌باشد. به عبارت دیگر شاید کلسیم موجود در سلول از نوع آزاد شده نباید باشد تا قلب بتواند در شرایط استرس گرمایی دوام بیاورد. اطلاعات ژن‌های بیان شده در حالت استرس گرمایی چرخه‌ای و مقایسه با گروه شاهد، بنایی را برای ژن‌های هدف بالقوه در برنامه‌های اصلاح نژادی و تولید نژادهای مقاوم به گرما در اختیار محققین علم مربوطه قرار خواهد داد.

واژه‌های کلیدی: آنالیز بیان ژن، استرس گرمایی، جوجه گوشتی، هیپرتروفی ماهیچه قلب

مقدمه

اغلب دچار عدم کفایت سیستم قلبی می‌شوند. نتیجه این عارضه، هیپرتروفی بطن‌ها، عدم کفایت سیستم گردش خون شش‌ها و نهایتاً مرگ ناگهانی پرنده می‌باشد (Chen et al., 2006; Nijdam et al., 2017). استرس گرمایی منقطع و طولانی‌مدت یکی از روش‌های بررسی تأثیر گرما بر جوجه‌های گوشتی می‌باشد (Gholipour et al., 2020). الفای استرس گرمایی حاد ۵ ساعت به جوجه‌ها در ۳۰ روزگی سن، منجر به آسیب‌دیدگی میوفیبریل قلب، کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و افزایش بیان چاپرون‌ها در عضله قلب شده است (Xu et al.,

به دلیل شدت انتخاب ژنتیکی در صفت سرعت رشد، سویه‌های تجاری مرغ گوشتی مستعد اختلالات متابولیسمی مانند آسیت، کبد چرب، مرگ ناگهانی، هیپرتروفی قلب شده‌اند. همه این اختلالات سبب سندروم پرفشاری ریه‌ها، هیپوکسی، خیز ششی (Yu et al., 2023)، هیپرتروفی قلب راست و چپ و مرگ ناگهانی می‌شود (Chen et al., 2017). بافت عضله قلب در جوجه‌های گوشتی یکی از حساس‌ترین ارگان‌های بدن در این نوع پرنده می‌باشد. جوجه‌های تجاری به دلیل رشد سریع

دانلود گردیدند. در این آزمایش گروه استرس گرمایی از روز ۲۱ سن در معرض دمای ۳۷ درجه به مدت ۸ ساعت در روز تا ۴۲ روزگی قرار گرفته و در ۴۲ روزگی کشتار و قلب آنها نمونه‌برداری شدند. در حالیکه گروه شاهد تحت شرایط استاندارد پرورش داده شد. تعداد قلب استخراج شده از هر گروه شش عدد بود. سپس برای کنترل کیفیت داده‌ها از نرم‌افزار FastQC و برای پیرایش داده‌ها و حذف آداپتورها از نرم‌افزار Trimmomatic استفاده گردید (Elyasi Zarrinhabaie *et al.*, 2023). سپس از نرم‌افزار CLC Genomics 20 جهت انطباق داده‌های پیرایش یافته بروی نقشه ژنوم مرغ و همچنین برای بررسی الگوی بیان ژن‌ها استفاده گردید. به منظور تجزیه عملکردی ژن‌ها از نرم‌افزار برخط GeneOntology استفاده گردید. در این مطالعه به منظور ساخت شبکه ژنی و مطالعه روابط بین ژن‌ها از پایگاه اطلاعاتی STRING استفاده شد و از بسته آماری Cytoscape جهت مصورسازی و آنالیز شبکه ایجاد شده استفاده گردید. ژن‌هایی که در مرحله قبل انتخاب کردیم به عنوان ورودی این بسته آماری استفاده شدند. پس از ایجاد شبکه از ابزار Tools گزینه Network Analysis انتخاب شد. به این ترتیب ژن‌های مؤثرتر که از نظر درجه براساس ارتباط با گره‌های دیگر نشان داده می‌شوند، شناسایی شدند.

نتایج و بحث

در بطن چپ مرغ‌های تحت استرس گرمایی طولانی مدت چرخه‌ای به‌طورمعنی‌داری بیان ژن‌های مربوط به تروپونین تغییر یافته است. شش ژن تروپونینی بیان شده شامل TNN، TNNT1، TNNT2، TNNT3، TNNT1 و TNNT2 می‌باشند. در دسته ژن‌های مرتبط با تروپونین به‌غیر از بیان TNNT3 سایر ژن‌ها بیان کاهشی نشان دادند. در این بین ژن‌های TNN، TNNT2، TNNT3، TNNT1 کاهش بیان ژن و TNNT3 افزایش بیان معنی‌دار داشتند. سایر ژن‌های تروپونین به‌رغم بیان کاهشی نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبودند. گیرنده ریانودین RYR3 افزایش بیان معنی‌دار و RYR2 با وجود کاهش بیان نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود. در عضله قلب بیان ژن مربوط به تروپومیزین شماره ۱ تا ۴ مشاهده شد، اما ژن TPM1 افزایش بیان معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت. گیرنده دی‌هیدروپیریدين ۹ ژن مرتبط با خود در قلب دارد که تنها بیان کاهشی ژن CACNA2D2 از این دسته در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. دسته پروتئین کینازهای وابسته به کالمودولین CAMK1D، CAMKK1 کاهش بیان معنی‌دار و CAMSAP2 افزایش بیان معنی‌دار داشت. ژن مربوط به فسفولامبان و پمپ سدیم-کلسیم غشایی به‌رغم بیان کاهشی، اما تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. پنج ژن مرتبط با ساختار زنجیره سنگین میوزین شامل MYH1، MYH1A، MYH1D، MYH1F، MYH7 به‌طور معنی‌داری بیان کاهشی نسبت به گروه شاهد داشتند. نتایج در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است. مسیرهای بیولوژیک و نتایج استخراج شده از نرم‌افزار هستی‌شناسی ژن‌های فوق در جدول شماره ۳ آورده شده است. شاخص چند برابری استخراج شده از هستی‌شناسی ژن‌های فوق برای اکثر ژن‌ها چند برابری

(2019). در تحقیق دیگری القای استرس گرمایی طولانی مدت به جوجه‌ها سبب کاهش شیوع هیپرتروفی قلب به‌همراه تغییر در مسیرهای تقسیم سلولی، متابولیسم سلولی قلب گزارش شده است (Zhang *et al.*, 2017).

دو نوع هیپرتروفی در عضله قلب وجود دارد. ۱- هیپرتروفی فیزیولوژیک که در افراد ورزشکار رخ داده و طبیعی می‌باشد ۲- هیپرتروفی پاتولوژیک که در شرایط عدم کفایت سیستم عروق ششی یا گردش خون عمومی بدن اتفاق می‌افتد. در هر دوی این‌ها سیستم انقباضی عضله قلب دچار تغییر می‌شود. در حالت پاتولوژیک و فیزیولوژیک به ترتیب ۲۲۵ و ۲۰۸ پروتئین متفاوت بیان شده بودند که ۵۳ مورد در هر دو حالت مشابه بود (Kwon *et al.*, 2018). عضله قلب از نوع مخطط غیر ارادی می‌باشد و هر چرخه انقباضی و جفت شدن تحریک-انقباض به ورود آهسته کلسیم به سلول، کانال تبادل سدیم-کلسیم، کانال کلسیمی وابسته به ولتاژ، گیرنده ریانودین، پمپ ساکوپلاسم آندوپلاسمیک کلسیم، تروپونین، تروپومیزین، کالمودولین، فسفولامبان نیاز دارد و انقباض‌پذیری قلب مستقیماً به تغییرات تراکم کلسیم داخل سیتوزولی، فعالیت پروتئین‌های سارکومر وابسته می‌باشد. تغییر بیان این پروتئین‌ها در حالت گشادی قلب و نارسایی قلبی گزارش شده است (Barefield *et al.*, 2010). در حالت هیپرتروفی پاتولوژیک، کنتیک کلسیم آهسته‌تر شده، هموستازی کلسیم درون سلول به‌هم می‌ریزد، که منجر به افزایش تراکم کلسیم آزاد درون سلول و فعالیت فسفولامبان می‌شود (MacLennan *et al.*, 2003). غیرفعال شدن فسفولامبان به‌واسطه موتاسیون ژنی در ماهی سبب سیستول نامنظم و مرگ ناگهانی در لاروها می‌شود (Vicente *et al.*, 2022). تغییر در پروتئین‌های میوفیبریل قلب در حالت نارسایی قلبی به‌صورت کاهش فعالیت میوزین و تروپونین در حالت گشادی بطن‌ها گزارش گردید (Singh *et al.*, 2022).

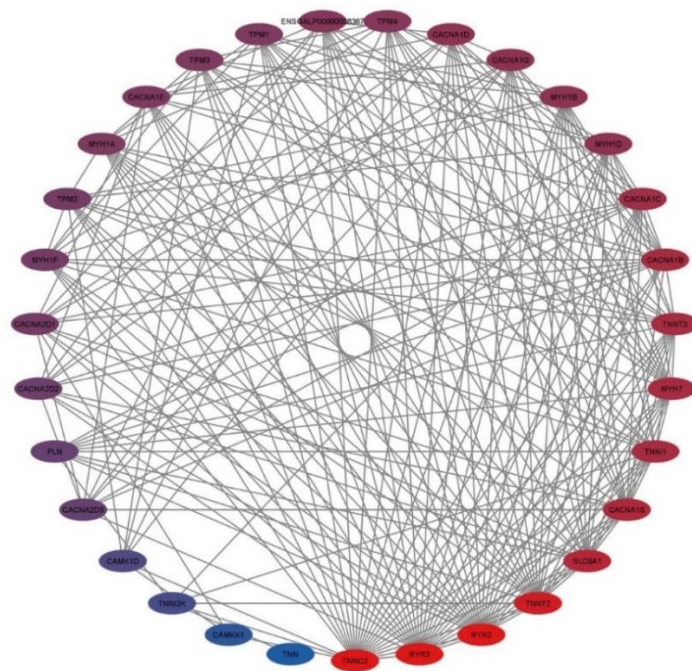
افزایش حرارت بدن به‌مدت ۲۰-۱۵ دقیقه در دمای ۴۰-۴۲ درجه برای درمان برخی سرطان‌ها گزارش شد. همچنین هیپرترمای کوتاه مدت در بهبود ایسکمی بطنی در موش صحرایی و مؤثر بودن آن به‌شدت ایسکمی، سن و طول دوره افزایش حرارت وابسته اعلام شده است (Stallings *et al.*, 2014). در استرس هیپرترمای موقت، بیان ژن‌های چاپرون، کانال پتاسیمی حساس به ATP، فعالیت کاتالاز و پروتئین کیناز افزایش می‌یابد (Xi, 2001). استرس گرمایی ۵ تا ۸ ساعت به سلول‌های قلب موش صحرایی سبب افزایش مرگ سلول‌ها شده است. استرس گرمایی با افزایش لاکتات دهیدروژناز، مالون دی‌آلدید و به‌طور کلی استرس اکسیداتیو در محیط کشت سلول‌های قلب مشاهده می‌گردد (Zhang *et al.*, 2020). از این‌رو هدف تحقیق حاضر بررسی تغییرات سیستم سلولی مولکولی انقباض عضله قلب جوجه گوشتی نژاد راس ۷۰۸ تحت استرس گرمایی مزمن چرخه‌ای براساس داده‌های توالی‌یابی شده به‌روش RNA-Seq و مقایسه آن با نارسایی‌های قلبی حاصل از هیپرتروفی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

داده‌های RNA-Seq مورد استفاده در این مطالعه از پایگاه NCBI با شماره دسترسی SRP082125 در فرمت SRA

به معنی موقعیت استراتژیک آن ژن برای ارسال ارتباط بین گره‌های مختلف در شبکه می‌باشد. به معنی دیگر درجه بینایی بیشتر نشانگر اهمیت آن ژن برای ارسال اطلاعات بین گره‌های مختلف است. ۳۱ ژن از بین ۳۵ ژن پروتئین‌های انقباضی و ژن‌های مرتبط در شبکه ژنی قرار گرفتند و چهار ژن قادر به تشخیص در شبکه ژنی نبودند. این چهار ژن هیچ گونه همبندی با شبکه نشان ندادند.

بالتر از ۱۰۰ درصد در مسیرهای بیولوژیک مربوط به سیستم انقباضی قلب را نشان می‌دهد (جدول شماره ۳). اطلاعات مربوط به شبکه ژنی، هاب ژن‌ها و تعداد ارتباطات بین آنها در جدول شماره ۲ و شکل شماره یک نشان داده شده است. بیشترین ارتباطات بین ژنی در شبکه مربوط به RYR2، RYR3 و TNNC2 با ۲۵ ارتباط، TNNT2 با ۲۳ و SLC8A1 با ۲۰ ارتباط بود. تعداد ارتباط‌های بینایی بیشتر



شکل ۱- بررسی برهم‌کنش ژن‌های دارای بیان متفاوت و مؤثر بر سیستم انقباضی عضله قلب جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر استرس گرمایی. تغییرات رنگ از قرمز به آبی کاهش درجه ارتباط ژن‌ها را نشان می‌دهد.

Figure 1. Studying the interaction of differently expressed genes in the cardiac muscle of broiler hearts under cyclic heat stress conditions. The color change from red to blue indicating a reduction in gene expression degree

جدول ۱- چند برابری بیان ژن‌های مرتبط با پروتئین‌های انقباضی در عضله قلب جوجه‌های گوشتی تحت استرس گرمایی

Table 1. Gene expression contractility system in left heart of broiler under chronic heat stress condition.

نام ژن Feature ID	سطح معنی‌داری P-value	تغییر بیان ژن Fold Change	سطح غنای ژن FDR
TNN	0.022974	-4.75	0.302524
TNNT3	0.038188	2.416667	0.378693
TNNC2	0.337999	-2.66667	0.875375
TNNI1	9.71×10^{-03}	-1.85159	0.207002
TNNI3K	0.090653	-1.46565	0.536474
TNNT1	0.571387	-1.44444	1
TNNT2	0.125595	-1.3203	0.608066
TPMT	0.129286	-1.39286	0.616536
TPM4	0.881753	-1.06913	1
TPM3	0.592076	1.007742	1
TPM2	0.099852	1.164307	0.553823
TPM1	0.045068	1.392339	0.408519
RYR3	5.62×10^{-03}	1.733728	0.161847
RYR2	0.356025	-1.10543	0.887983
SLC8A1	0.28896	-1.66785	0.828212
PLN	0.886477	-1.06788	1
CACNA1C	0.551518	-1.53135	1
CACNA1H	0.706828	-1.48485	1
CACNA1G	0.673324	-1.15385	1
CACNA1S	1	-1.13043	1
CACNA2D1	0.167318	1.047971	0.672993
CACNA1E	0.883104	1.25	1
CACNA1D	0.750409	1.277778	1
CACNA1B	1	2	1
CACNA2D2	2.27×10^{-04}	-3.55892	0.034147
CACNA2D3	1	-2	1
CAMSAP1	0.82068	-1.24543	1
CAMSAP2	0.022643	1.152714	0.302137
CAMK1D	0.013106	-4.03659	0.238115
CAMKK1	2.30×10^{-03}	-2.21401	0.108616
MYH7	1.80×10^{-06}	-346.057	1.99×10^{-03}
MYH1F	9.81×10^{-05}	-17.8776	0.022078
MYH1D	2.40×10^{-04}	-15.5905	0.035284
MYH1A	0.032241	-13.6667	0.356597
MYH1B	0.011058	-8	0.221396

تأثیر استرس گرمایی مزمن-منقطع بر ژن‌های مرتبط با پروتئین‌های انقباضی در عضله قلب جوجه گوشتی ۲۶

جدول ۲- شاخص‌های کمی حاصل از آنالیز شبکه ژن‌های دارای بیان متفاوت و مؤثر بر سیستم انقباضی عضله قلب جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر استرس گرمایی.

Table 2. Indexs of Gene network analysis of effective Genes on heart contractility system of broiler under heat stress.

نام ژن Gene symbol	مرکزیت نزدیکی Closeness score	مرکزیت بینابینی Betweenness score	درجه ارتباط ژن‌ها Gene interaction number
RYP3	0.83	50.77	25
TNNC2	0.857	101.88	25
RYP2	0.83	43.29	25
TNNT2	0.81	51.6	23
SLC8A1	0.73	22.94	20
CACNA1S	0.71	19.91	19
CACNA1B	0.69	24.95	18
TNNT3	0.69	9.03	18
MYH7	0.69	14.29	18
TNNI1	0.71	22.50	18
CACNA1C	0.68	13.07	17
MYH1B	0.65	4.30	15
CACNA1G	0.65	16.7	15
CACNA1D	0.65	4.79	15
MYH1D	0.66	18.11	15
TPM4	0.63	6.66	14
CACNA1E	0.62	3.40	13
MYH1A	0.62	3046	13
TPM1	0.62	6.34	13
TPM3	0.62	5.40	13
CACNA2D1	0.58	14.08	12
MYH1F	0.61	2.13	12
CACNA2D2	0.56	0.84	11
CACNA2D3	0.56	0.569	10
PLN	0.57	8.29	10
CAMK1D	0.54	6.82	7
TNNI3K	0.52	58.39	6
CAMKK1	0.5	1.3	3
TNN	0.34	0	1

جدول ۳- هستی‌شناسی و مسیرهای بیولوژیک مرتبط با ژن‌های انقباضی قلب جوجه تحت استرس گرمایی مزمن

Table 3. Gene ontology of heart contraction related genes of broiler treated with cyclic-chronic-heat stress condition.

نام ژن Name of genes	شاخص غنای ژن FDR	سطح معنی‌داری P value	شاخص غنای ژن در مسیر Fold enrichment	مسیر بیولوژیک GO term
CACNA1C CACNA2D1	2.97×10^{-05}	2.18×10^{-05}	> 100	calcium ion transmembrane transport via high voltage-gated calcium channel
TNNT1, TNNI1, MYH7	6.53×10^{-05}	3.67×10^{-07}	> 100	کانال ولتاژی کلسیم در غشاء transition between fast and slow fiber
RYP2, SLC8A1	6.08×10^{-03}	4.57×10^{-05}	> 100	مؤثر بر نیروی انقباض کند و سریع positive regulation of the force of heart contraction
PLN, MYH7, RYP2, SLC8A1	2.18×10^{-05}	1.11×10^{-07}	> 100	تنظیم مثبت قدرت انقباض قلب regulation of the force of heart contraction
CACNA2D1, CACNA1G, CACNA1C, CACNA1D, SLC8A1	6.17×10^{-08}	1.42×10^{-10}	> 100	تنظیم نیروی انقباضی قلب membrane depolarization during cardiac muscle cell action potential
CACNA1B, SLC8A1, CACNA1D, CACNA1S, CACNA1C, CACNA1E, CACNA2D1	2.69×10^{-11}	2.75×10^{-14}	> 100	دپلاریزه کردن غشاء در طول پتانسیل عمل calcium ion import across plasma membrane
TPM1, TNNT2, MYH7	2.64×10^{-04}	1.70×10^{-06}	> 100	انتقال کلسیم از عرض غشاء actin-myosin filament sliding
SLC8A1, RYP2, CACNA1C, PLN	3.10×10^{-05}	1.66×10^{-06}	91.61	لغزش فیلامنت اکتین و میوزین regulation of release of sequestered calcium ion into cytosol by sarcoplasmic reticulum
RYP2, CACNA1C	2.29×10^{-02}	1.97×10^{-04}	> 100	تنظیم رهایش کلسیم به درون سیتوزول regulation of ventricular cardiac muscle cell action potential
SLC8A1, PLN	2.88×10^{-02}	2.59×10^{-04}	94.88	تنظیم پتانسیل عمل بطن‌ها relaxation of cardiac muscle
MYH7, CACNA2D1, CACNA1G, TNNT2, CACNA1C, TPM1, CACNA1D, TNNI1, SLC8A1, RYP2	6.01×10^{-14}	3.83×10^{-17}	87.39	انبساط ماهیچه قلب cardiac muscle contraction

GO annotations provide biological knowledge about genes and their protein products.

در این تحقیق با استفاده از داده‌های توالی ژنومی جوجه‌های گوشتی، تأثیر استرس گرمایی طولانی‌مدت- چرخه‌ای بر سیستم انقباضی بطن چپ جوجه‌ها مشاهده شد. در سیستم انقباضی قلب، پروتئین‌های انقباضی شامل تروپونین،

بطن راست در شرکت کنندگان ماراتن مشاهده می‌شود (Shave et al., 2010).

تروپومیوزین یکی از پروتئین‌های مرتبط با رشته‌های اکتین می‌باشد که در حالت استراحت روی محل‌های اتصال میوزین به اکتین را پوشانده است. در تحقیق حاضر تنها یکی از ۵ ژن مرتبط با این پروتئین بیان ژن معنی‌دار داشت. TPM1 به‌طور معنی‌داری تحت استرس گرمایی طولانی در قلب جوجه‌ها افزایش بیان نشان داد. تروپومیوزین آلفا و کاپا توسط ژن TPM1، ایزوفرم بتا توسط ژن TPM2 و ایزوفرم گاما توسط ژن TPM3 ساخته می‌شوند. تاکنون در انسان نارسایی قلبی حاصل از تروپومیوزین گزارش نشده است. تنها در مورد گشادی قلب، افزایش بیان تروپومین کاپا مشاهده می‌گردد. در مدل موش‌های تراریخته تا ۵۷ درصد بیان از نوع بتا بود که همراه با کاهش قدرت انقباضی و افزایش فاز استراحت قلب است. در مدل موش تراریخته که افزایش بیان ایزوفرم کاپا را داشتند، افزایش ضربان قلب و کاهش حساسیت به کلسیم در سلول‌های قلب مشاهده می‌شود (Jagatheesan et al., 2010). بنابراین برحسب نوع تغییری که در ایزوفرم‌های تروپومیوزین رخ می‌دهد، عملکرد قلب نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در رابطه با تروپومیوزین آلفا، ارتباط نزدیکی بین بیماری عروق کرونر قلب و افزایش آنتی‌بادی ضد تروپومیوزین آلفا گزارش شد. به‌طوریکه در افراد مستعد یا درگیر بیماری عروق کرونر قلب، سطح این آنتی‌بادی به‌طور معنی‌داری بالا می‌باشد (Y. Zhang et al., 2020). براین اساس افزایش بیان تروپومیوزین آلفا در قلب احتمالاً به عملکرد و محافظت از قلب کمک می‌کند. همان‌طور که در قلب جوجه‌های تحت استرس گرمایی طولانی مدت افزایش این فرم از تروپومیوزین را داشته است. تروپومیوزین از هر دو نوع ایزوفرم آلفا و کاپا در میوکارد جوجه از روز دوم انکوباسیون ساخته می‌شود که بیشترین مقدار مربوط به ایزوفرم آلفا می‌باشد (Wang et al., 2008).

ریانودین، پروتئین سازنده کانال کلسیمی در شبکه سارکوپلاسمی سلول‌های قلب می‌باشد که تاکنون سه ایزوفرم از آن مورد شناسایی شد. ریانودین RYR1 اغلب در ماهیچه اسکلتی و اعصاب پورکنج مخچه، RYR2 اکثراً در قلب و مغز و RYR3 در مناطق حافظه، هیپوکمپ و دیافراگم بیان می‌شوند، اما هیچ‌کدام اختصاصاً در یک بافت بیان نمی‌شود (Lanner, 2012). در مطالعه اخیر تحت استرس گرمایی مزمن، ریانودین RYR3 در بطن جوجه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش بیان داشت، اما RYR2 با وجود کاهش بیان ژن به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. آریتمی‌های قلبی حاصل از سطح آسیب دیده کلسیم در سیتوزول سلول‌های قلب می‌باشد. یکی از دلایل مهم در این رابطه نقص در عملکرد کانال‌های ریانودین می‌باشد که با سفریله شدن شدید این کانال‌ها، آزادسازی کلسیم به سیتوزول افزایش یافته و تراکم بالای کلسیم به مرور زمان سبب کاهش حساسیت مولکول‌های انقباضی قلب و بروز آریتمی‌های قلب می‌شود (Lehnart et al., 2008). ایزوفرم‌های ۲ و ۳ هر دو برای ایجاد کانال ریانودین لازم می‌باشند، اما اهمیت ایزوفرم ۲ در تنظیم آزادسازی کلسیم به سیتوزول بالاتر می‌باشد. به‌طوری‌که نقص در سیستم RYR2

تروپومیوزین، ریانودین، کالمدیولین و رشته سنگین میوزین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر استرس گرمایی، تغییر بیان ژن داشته و دچار تغییرات اپی‌ژنیک شده بودند. TNNI ظرف چند ساعت از ترومای قلبی افزایش می‌یابد. این پروتئین در نمونه خون موش‌هایی که به مدت ۲۰ دقیقه تحت دمای ۴۱ درجه بودند، افزایش داشت. (Chen et al., 2020) تروپومین یک پروتئین با سه زیرواحد C، T و I می‌باشد که در پوشاندن پروتئین اکتین و ممانعت از اتصال اکتین به میوزین کمک می‌کند. اندازه‌گیری این پروتئین در استرس گرمایی حاد در موش صحرایی به‌عنوان شاخص بیوشیمیایی مناسبی در تشخیص آسیب استرس گرمایی به قلب اعلام شد (Audet et al., 2015). موتاسیون ژن تروپومین در انسان سبب بیماری قلبی شده و به‌صورت صفت اتوزومی غالب قابلیت وراثت‌پذیری دارد (Lu et al., 2013). مهار و کاهش بیان ژن تروپومین TNNT2 در قلب جوجه‌ها در مرحله رویانی، سبب ناقص شدن قلب و تکامل ناقص میوفیبریل‌های قلب آن‌ها می‌شود (England et al., 2016). برخلاف یافته‌های گزارش شده، در تحقیق حاضر میزان بیان ژن مربوط به TNNI1، TNNI1 کاهش و TNNT3 افزایش بیان پس از یک دوره استرس گرمایی مزمن و چرخه‌ای را نشان داد. همانگونه که گفته شد TNNT2 در سلامت قلب نقش داشته و نقص در بیان آن باعث بیماری‌های نارسایی قلب می‌گردد، اما این گفته درباره TNNI1 گفته نشد. احتمالاً TNNI1 در مواجهه با استرس گرمایی در قلب افزایش یافته و سپس دچار افت بیان می‌شود، اما TNNT2 با ادامه یافتن استرس شروع به افزایش بیان کرده و از آنجا که برای حفظ عملکرد انقباضی قلب ضروری می‌باشد، سطح بیان آن افزایش می‌یابد. همچنین در مطالعات انسانی افزایش اولیه TNNI در خون افراد در معرض استرس گرمایی و غیرگرمایی مشاهده می‌شود و این افزایش به‌عنوان یک شاخص غیرمستقل در تعیین آسیب قلبی انسان اعلام شده است (Hausfater et al., 2010). در تایید مطلب بالا در موش‌های صحرایی خسته شده از شنا، تنها در سه ساعت پس از استرس حاصله، TNNI در خون افزایش داشته و قابل تشخیص بوده و در ۲۴ ساعت با گروه شاهد هیچ تفاوتی نشان نداد (Nie et al., 2010). البته بالا بودن سطح سرمی تروپومین در افراد مبتلا به گرفتگی عروق کرونر قلب و شاخص بودند گزارش شد. همچنین استرس حاصل از ورزش سبب بالا رفتن بیان آن می‌شود (Liebetrau et al., 2015). بنابراین اهمیت تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با تروپومین در استرس‌های طولانی‌مدت که همراه با افزایش بیان بعضی و کاهش بیان برخی دیگر همراه است می‌تواند به اهمیت هر کدام از این ژن‌ها در محافظت از قلب مربوط شود. از طرف دیگر افزایش TNNI در زمان اولیه مواجهه با استرس و کاهش بیان آن در مواجهه با طولانی شدن یک استرس مزمن چرخه‌ای به‌دلیل نقش این پروتئین در مهار هیدرولیز ATP می‌باشد، زیرا در شرایط اولیه استرس ضربان و توان انقباضی زیادی برای قلب لازم بوده، اما در استرس طولانی‌مدت برای ایجاد این تغییرات نیاز نمی‌باشد. برای مثال در ورزش‌هایی مانند ماراتن سطح بیان ژن تروپومین افزایش می‌یابد. این افزایش همراه با کاهش زودگذر قدرت انقباضی

وابسته به ولتاژ در بسیاری از سلول‌های تحریک‌پذیر می‌باشد. موش‌های عاری از این زیرواحد حساسیت بالایی به تشنج‌های مغزی و کاهش طول عمر داشته‌اند. این موش‌ها در مقایسه با موش‌های سالم برادی کاردی بیشتری را نشان داده‌اند. همچنین این موش‌ها اکوکاردیوگراف و ضربان نرمالی از خود نشان دادند، اما گرفتگی عضلانی و اسپاسم به‌طور معنی‌داری در آن‌ها بیشتر بود (Ivanov et al., 2004). نقص در ژن CACNA2D2 سبب انسفالوپاتی و کاهش سلول‌های پورکنج مخچه و در نتیجه حساسیت بالا به سرعت و تشنج می‌گردد. این نشان دهنده اهمیت ژن CACNA2D2 در مغز و ماهیچه اسکلتی می‌باشد (Punetha et al., 2019). تصور می‌شود کاهش معنی‌دار بیان ژن CACNA2D2 در جوجه‌ها تحت استرس گرمایی طولانی به‌منظور کاستن از ضربان قلب باشد. به‌طوریکه گفته شد در موش‌های عاری از این ژن برادی کاردی فراوان اتفاق می‌افتد.

در بطن چپ پروتئین کیناز وابسته به کالمودولین CAMK1D و CAMK1 تحت استرس گرمایی طولانی کاهش بیان معنی‌دار آماری از خود نشان دادند. این دو پروتئین در فسفوریلاسیون فسفولامبان، کانال ریانودین، کانال کلسیمی وابسته به ولتاژ نقش دارند. افزایش بیان این ژن‌ها در حالت هیپرتروفی- پاتولوژیک قلب گزارش شده است که سبب افزایش فسفوریلاسیون ریانودین و آزادسازی بیشتر کلسیم به سیتوزول و همچنین کند شدن غیرفعال شدن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ در سارکولیم می‌شود (Maier et al., 2007). امروزه یکی از عوامل ایجادکننده در نارسایی قلبی و بیماری‌های مزمن قلب افزایش پروتئین کینازهای وابسته به کالمودولین ذکر شده است و به‌دنبال راه‌کاری برای تغییر این بیان می‌باشند (Nassal et al., 2020). براساس تحقیق حاضر استرس گرمایی چرخه‌ای- مزمن به‌خوبی در کاهش بیان ژن‌های مربوط به این مسیر عمل کرده است و یکی از راه‌کارهای پیشنهادی می‌تواند باشد. ژن CAMSAP2 که وابستگی نزدیکی با کالمودولین دارد در استرس گرمایی به‌طور معنی‌داری افزایش بیان داشته است. این خانواده از پروتئین‌های Spectrin تنظیم شده به‌واسطه کالمودولین می‌باشند که در استحکام و تقارن، سلامت و استحکام غشا و همچنین تکثیر سلول نقش دارند. نقص در بیان این ژن سبب بروز آریتمی‌های قلبی می‌شود. به‌طوریکه ارتباط نزدیکی بین فیبریلاسیون دهلیزی و کاهش بیان این پروتئین اعلام می‌گردد (Derbala et al., 2018). اسپکتترین باعث قوام و سلامت در سیستم هادی قلب می‌گردد و اسکلت سلولی قلب به بیان مناسب از این پروتئین نیاز دارد (Nassal et al., 2021). بنابراین کالمودولین و پروتئین‌های وابسته به آن نقش مهمی در سلامت قلب داشته و در هر دو مسیر اختلال یا جلوگیری از اختلال در عملکرد انقباضی قلب می‌تواند عمل کند.

در تحقیق حاضر ۵ ژن مرتبط با زنجیره سنگین میوزین بیان شد، که همه آن‌ها به‌طور معنی‌داری دچار افت بیان ژن شدند. زنجیره سنگین میوزین به‌عنوان رشته اتصال با خط Z عمل می‌کند که با اتصال اکتین و میوزین و هیدرولیز مولکول ATP سبب کشیده شدن سارکومر و تولید نیرو می‌شود. ژن‌های

قلب سبب بیماری‌هایی مانند تاکی کاردی بطنی، افزایش بدخیم دمای بدن می‌شود (van der Werf et al., 2011). تاکنون تأثیر استرس‌های طولانی بر حافظه از طریق تغییر در RYR2 در مغز مورد بررسی و گزارش قرار گرفته است، چنانکه استرس طولانی سبب تغییر در RYR2 در هیپوکمپ و کل مغز موش‌ها و کاهش حافظه فضایی در آن‌ها شده است، با طولانی شدن استرس، ساختار ریانودین دچار تغییر مدل شده و به‌واسطه هیپرفسفوریلاسیون کم کم خاصیت کانالی خود را از دست می‌دهد (Liu et al., 2012). در ماکیان تیپ گوشتی شامل بوقلمون و جوجه مرغ گوشتی یکی از مشکلات تأثیر استرس زمان حمل و نقل و کشتارگاه بر کیفیت گوشت می‌باشد. این استرس چند ساعته منجر به زردی، نرمی و اکسیده شدن گوشت می‌گردد، براساس تحقیقات انجام شده علت این تغییر، نقص در سیستم کانال‌های RYR2 در ماهیچه اسکلتی اعلام شده است (Strasburg et al., 2009). گرمزدگی و افزایش دمای بدن به‌طور بدخیم یکی از مهم‌ترین موارد ایست قلبی و مرگ می‌باشند، بررسی‌های انجام شده آنتاگونیست‌های کانال ریانودین را بهتر از آب سرد برای نجات قربانیان گرمزدگی نشان داده است (Laitano et al., 2020). در یک آزمایش دیگر موش‌های حساس و دارای نقص در کانال‌های RYR1 با استنشاق گاز هالوتان با استرس گرمایی ۳۸ درجه به‌سرعت تلف شدند (Lopez et al., 2018). همان‌طور که گفته شد در استرس گرمایی طولانی RYR2 کاهش بیان غیرمعنی‌دار به‌لحاظ آماری و ژن RYR3 افزایش بیان داشته است. ژن RYR3 مهمترین ایزوفرم ریانودین در مغز می‌باشد (Lanner, 2012). همچنین در محیط آزمایشگاهی اهمیت RYR3 در تمایز و تکثیر اولیگودندروگلیاها به‌واسطه تنظیم آزادسازی کلسیم از شبکه آندوپلاسمی مشاهده شده است (Abad et al., 2018). همچنین نوعی میوپاتی در انسان به نقص در ایزوفرم RYR3 نسبت داده شده است (Nilipour et al., 2018). اخیراً نقش ایزوفرم RYR3 هیپوکمپ موش در ایجاد جریان آهسته کلسیم پس از هیپریلاریزاسیون نوروها شناسایی شده است، به‌طوریکه نوروهای که به‌لحاظ ژنتیکی فاقد ژن RYR3 بودند توانایی ایجاد جریان آهسته فوق را نداشتند (Tedoldi et al., 2020). بر همین اساس شاید بتوان گفت که افزایش RYR3 در بطن چپ جوجه‌های تحت استرس طولانی‌مدت گرمایی به‌دلیل ایجاد و حفظ جریان آهسته رهایش کلسیم باشد.

ده زیرواحد وابسته به کانال دی هیدروپیریدین در بطن چپ جوجه‌ها تحت استرس گرمایی طولانی‌مدت دچار تغییر بیان ژن شده بودند. در این بین تنها زیر واحد CACNA2D2 به لحاظ آماری بیان کاهشی معنی‌داری را نشان داد. به‌طور کلی گیرنده دی‌هیدرو پیرین (DHPR) در جفت شدن تحریک-انقباض در غشای سلول قلب نقش دارد، محل قرارگرفتن این گیرنده در غشای پلاسمایی است. با ارتباط فیزیکی که ما بین این گیرنده و کانال RYR وجود دارد هر تحریک منجر به آزادسازی کلسیم از کانال ریانودین می‌شود. همچنین DHPR به‌صورت کانال کلسیمی عمل کرده و ورود کلسیم به سلول را تسهیل می‌کند (Lanner, 2012). CACNA2D2 یکی از زیرواحد‌های کانال کلسیمی

نتیجه‌گیری کلی

انقباض میوسایت‌های قلب به سیستم منظمی از پروتئین‌های تنظیم‌گر کلسیم درون و برون سلولی وابسته می‌باشد. از طرف دیگر موتور انقباض شامل پروتئین‌های اکتین و میوزین بروی میوفیبریل‌ها می‌باشد. از دسته پروتئین‌های تنظیم‌گر ریانودین و دی‌هیدروپیپیریدین می‌باشند که به‌واسطه استرس گرمایی طولانی‌مدت دچار کاهش بیان می‌شوند، هر دوی این پروتئین‌ها سبب آزادسازی کلسیم به سیتوزول می‌شوند. در دسته پروتئین‌های موتور انقباضی رشته سنگین میوزین تحت استرس گرمایی طولانی کاهش بیان ژن می‌یابد، افزایش بی‌رویه بیان این رشته انقباضی سبب هیپرتروفی در قلب می‌شود. بنابراین کاهش بیان پروتئین‌های مذکور در پیشگیری از هیپرتروفی قلب مؤثر خواهد بود. احتمالاً انجام این تغییر به‌واسطه چرخه‌های کوتاه و متوالی از استرس گرمایی شبیه آنچه در نتایج آزمایش به‌رویی جوجه‌های گوشتی به‌دست آمده، قابل‌القا است.

خانواده میوزین شامل MYH1A، MYH1B، MYH1D و MYH1F نیز به‌طور معنی‌داری تحت استرس گرمایی طولانی‌مدت در بطن چپ جوجه‌ها کاهش بیان نشان داده بودند. رنجیره سنگین میوزین بتا به‌واسطه ژن MYH7 بیان می‌گردد و افزایش بیان آن سبب تغییر سلول ماهیچه از نوع هوازی به غیر هوازی می‌شود. ایجاد هیپرتروفی پاتولوژیک در موش به‌واسطه افزایش فشار پس بار در سرخرگ آئورت سبب افزایش بیان این پروتئین و افزایش فعالیت گلیکولیزی و آنزیم‌های گلیکولتیک در ماهیچه قلب گردید (Yeh et al., 2022). بنابراین در شرایط افزایش بیان MYH7 ماهیچه قلب از مسیر بتا اکسیداسیون به مسیر گلیکولیز تغییر ایجاد می‌کند (Kolwicz Jr et al., 2012) و ماهیچه قلب از حالت ضربان منظم و آهسته که ویژگی ماهیچه هوازی است به ماهیچه ضربان تند و نامنظم که ویژگی ماهیچه غیرهوازی است تبدیل می‌شود (Bertero et al., 2018). شاید استرس گرمایی چرخه‌ای - طولیل‌مدت به‌واسطه تغییر در بیان ایزوفرم‌های مختلف زنجیره سنگین از بروز هیپرتروفی در جوجه‌های گوشتی جلوگیری به‌عمل آورد.

References

- Abad, C., & Tan, Y.-V. (2018). Immunomodulatory roles of PACAP and VIP: lessons from knockout mice. *Journal of Molecular Neuroscience*, 66, 102-113. <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1150-y>
- Audet, G. N., Quinn, C. M., & Leon, L. R. (2015). Point-of-care cardiac troponin test accurately predicts heat stroke severity in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 309(10), R1264-R1272. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00286.2015>
- Barefield, D., & Sadayappan, S. (2010). Phosphorylation and function of cardiac myosin binding protein-C in health and disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 48(5), 866-875. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.11.014>
- Bertero, E., & Maack, C. (2018). Metabolic remodelling in heart failure. *Nature Reviews Cardiology*, 15(8), 457-470. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0044-6>
- Chen, C. Y., Lin, H. Y., Chen, Y. W., Ko, Y. J., Liu, Y. J., Chen, Y. H., Walzem, R. L., & Chen, S. E. (2017). Obesity-associated cardiac pathogenesis in broiler breeder hens: Pathological adaption of cardiac hypertrophy1,2. *Poultry science*, 96(7), 2428-2437. <https://doi.org/10.3382/ps/pex015>
- Chen, Y., Jiang, W., Liu, X., Du, Y., Liu, L., Ordovas, J. M., Lai, C.-Q., & Shen, L. (2020). Curcumin supplementation improves heat-stress-induced cardiac injury of mice: physiological and molecular mechanisms. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 78, 108331. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108331>
- Derbala, M. H., Guo, A. S., Mohler, P. J., & Smith, S. A. (2018). The role of β II spectrin in cardiac health and disease. *Life Sciences*, 192, 278-285. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.11.009>
- Elyasi Zarringhabaie1, G., Sadeghi, M., & Miraie Ashtiani, S. R. (2023). Comparison of some Alignment Software in the Analysis of Dairy Cows RNA-Seq Data. *Research on Animal Production*, 14(39), 131-138.
- England, J., Pang, K. L., Parnall, M., Haig, M. I., & Loughna, S. (2016). Cardiac troponin T is necessary for normal development in the embryonic chick heart. *Journal of Anatomy*, 229(3), 436-449. <https://doi.org/10.1111/joa.12486>
- Gholipour, M., Vahedi, V., Hajighahramani, S., & Ansari Pirsarei, Z. (2020). The Effect of Bitter Orange Blossom Powder on Growth Performance, Carcass Characteristics and Some Blood Parameters of Broiler Chickens Under Heat Stress Condition. *Research on Animal Production*, 11(30), 74-82. <https://doi.org/10.52547/rap.11.30.74>
- Hausfater, P., Doumenc, B., Chopin, S., Le Manach, Y., Santin, A., Dautheville, S., Patzak, A., Hericord, P., Mégarbane, B., & Andronikof, M. (2010). Elevation of cardiac troponin I during non-exertional heat-related illnesses in the context of a heatwave. *Critical care*, 14(3), 1-9. <https://doi.org/10.1186/cc9034>
- Ivanov, S. V., Ward, J. M., Tessarollo, L., McAreavey, D., Sachdev, V., Fananapazir, L., Banks, M. K., Morris, N., Djurickovic, D., Devor-Henneman, D. E., Wei, M.-H., Alvord, G. W., Gao, B., Richardson, J. A., Minna, J. D., Rogawski, M. A., & Lerman, M. I. (2004). Cerebellar Ataxia, Seizures, Premature Death, and Cardiac Abnormalities in Mice with Targeted Disruption of the *Cacna2d2* Gene. *The*

- American Journal of Pathology*, 165(3), 1007-1018. doi:[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63362-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63362-7)
- Jagatheesan, G., Rajan, S., & Wieczorek, D. F. (2010). Investigations into tropomyosin function using mouse models. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 48(5), 893-898. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.10.003>
- Kolwicz Jr, S. C., Olson, D. P., Marney, L. C., Garcia-Menendez, L., Synovec, R. E., & Tian, R. (2012). Cardiac-specific deletion of acetyl CoA carboxylase 2 prevents metabolic remodeling during pressure-overload hypertrophy. *Circulation Research*, 111(6), 728-738. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.268128>
- Kwon, H. K., Jeong, H., Hwang, D., & Park, Z.-Y. (2018). Comparative proteomic analysis of mouse models of pathological and physiological cardiac hypertrophy, with selection of biomarkers of pathological hypertrophy by integrative proteogenomics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1866(10), 1043-1054. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2018.07.006>
- Laitano, O., Murray, K. O., & Leon, L. R. (2020). Overlapping mechanisms of exertional heat stroke and malignant hyperthermia: evidence vs. conjecture. *Sports Medicine*, 50(9), 1581-1592. <https://doi.org/10.1007/s40279-020-01318-4>
- Lanner, J. T. (2012). Ryanodine receptor physiology and its role in disease. *Calcium Signaling*, 217-234. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2888-2_9
- Lehnart, S. E., Mongillo, M., Bellinger, A., Lindegger, N., Chen, B.-X., Hsueh, W., Reiken, S., Wronska, A., Drew, L. J., & Ward, C. W. (2008). Leaky Ca²⁺ release channel/ryanodine receptor 2 causes seizures and sudden cardiac death in mice. *The Journal of clinical investigation*, 118(6), 2230-2245. <https://doi.org/10.1172/JCI35346>
- Liebetrau, C., Gaede, L., Dörr, O., Hoffmann, J., Wolter, J. S., Weber, M., Rolf, A., Hamm, C. W., Nef, H. M., & Möllmann, H. (2015). High-sensitivity cardiac troponin T and copeptin assays to improve diagnostic accuracy of exercise stress test in patients with suspected coronary artery disease. *European Journal of Preventive Cardiology*, 22(6), 684-692. <https://doi.org/10.1177/2047487314529691>
- Liu, X., Betzenhauser, Matthew J., Reiken, S., Meli, Albano C., Xie, W., Chen, B.-X., Arancio, O., & Marks, Andrew R. (2012). Role of Leaky Neuronal Ryanodine Receptors in Stress- Induced Cognitive Dysfunction. *Cell*, 150(5), 1055-1067. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.052>
- Lopez, J. R., Kaura, V., Diggle, C. P., Hopkins, P. M., & Allen, P. D. (2018). Malignant hyperthermia, environmental heat stress, and intracellular calcium dysregulation in a mouse model expressing the p.G2435R variant of RYR1. *British Journal of Anaesthesia*, 121(4), 953-961. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2018.07.008>
- Lu, Q.-W., Wu, X.-Y., & Morimoto, S. (2013). Inherited cardiomyopathies caused by troponin mutations. *Journal of geriatric cardiology*, 10(1), 91.
- MacLennan, D. H., & Kranias, E. G. (2003). Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility. *Nature reviews Molecular cell biology*, 4(7), 566-577. <https://doi.org/10.1038/nrm1151>
- Maier, L. S., & Bers, D. M. (2007). Role of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase (CaMK) in excitation-contraction coupling in the heart. *Cardiovascular Research*, 73(4), 631-640. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.11.005>
- Nassal, D., Gratz, D., & Hund, T. J. (2020). Challenges and opportunities for therapeutic targeting of calmodulin kinase II in heart. *Frontiers in pharmacology*, 11, 35. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00035>
- Nassal, D., Yu, J., Min, D., Lane, C., Shaheen, R., Gratz, D., & Hund, T. J. (2021). Regulation of cardiac conduction and arrhythmias by ankyrin/spectrin-based macromolecular complexes. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 8(5), 48. <https://doi.org/10.3390/jcdd8050048>
- Nie, J., Close, G., George, K. P., Tong, T. K., & Shi, Q. (2010). Temporal association of elevations in serum cardiac troponin T and myocardial oxidative stress after prolonged exercise in rats. *European journal of applied physiology*, 110(6), 1299-1303. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1604-6>
- Nijdam, E., Zailan, A., Van Eck, J., Decuyper, E., & Stegeman, J. (2006). Pathological features in dead on arrival broilers with special reference to heart disorders. *Poultry Science*, 85(7), 1303-1308. <https://doi.org/10.1093/ps/85.7.1303>
- Nilipour, Y., Nafissi, S., Tjust, A. E., Ravenscroft, G., Hossein Nejad Nedai, H., Taylor, R. L., Varasteh, V., Pedrosa Domellöf, F., Zangi, M., & Tonekaboni, S. H. (2018). Ryanodine receptor type 3 (RYR 3) as a novel gene associated with a myopathy with nemaline bodies. *European journal of neurology*, 25(6), 841-847. <https://doi.org/10.1111/ene.13607>
- Punetha, J., Karaca, E., Gezdirici, A., Lamont, R. E., Pehlivan, D., Marafi, D., Appendino, J. P., Hunter, J. V., Akdemir, Z. C., & Fatih, J. M. (2019). Biallelic CACNA2D2 variants in epileptic encephalopathy and cerebellar atrophy. *Annals of clinical and translational neurology*, 6(8), 1395-1406. <https://doi.org/10.1002/acn3.50824>
- Shave, R., Baggish, A., George, K., Wood, M., Scharhag, J., Whyte, G., Gaze, D., & Thompson, P. D. (2010). Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(3), 169-176. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.03.037>

- Singh, R. R., Slater, R. E., Wang, J., Wang, C., Guo, Q., Motani, A. S., Hartman, J. J., Sadayappan, S., & Ason, B. L. (2022). Distinct Mechanisms for Increased Cardiac Contraction Through Selective Alteration of Either Myosin or Troponin Activity. *JACC: Basic to Translational Science*, 7(10), 1021-1037. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2022.04.013>
- Stallings, J. D., Ippolito, D. L., Rakesh, V., Baer, C. E., Dennis, W. E., Helwig, B. G., Jackson, D. A., Leon, L. R., Lewis, J. A., & Reifman, J. (2014). Patterns of gene expression associated with recovery and injury in heat-stressed rats. *BMC genomics*, 15(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1058>
- Strasburg, G. M., & Chiang, W. (2009). Pale, soft, exudative turkey-The role of ryanodine receptor variation in meat quality1. *Poultry Science*, 88(7), 1497-1505. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00181>
- Tedoldi, A., Ludwig, P., Fulgenzi, G., Takeshima, H., Pedarzani, P., & Stocker, M. (2020). Calcium-induced calcium release and type 3 ryanodine receptors modulate the slow afterhyperpolarising current, sIAHP, and its potentiation in hippocampal pyramidal neurons. *PLoS One*, 15(6), e0230465. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230465>
- van der Werf, C., Kannankeril, P. J., Sacher, F., Krahn, A. D., Viskin, S., Leenhardt, A., Shimizu, W., Sumitomo, N., Fish, F. A., & Bhuiyan, Z. A. (2011). Flecainide therapy reduces exercise-induced ventricular arrhythmias in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Journal of the American College of Cardiology*, 57(22), 2244-2254. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.01.026>
- Vicente, M., Salgado-Almario, J., Valiente-Gabioud, A. A., Collins, M. M., Vincent, P., Domingo, B., & Llopis, J. (2022). Early calcium and cardiac contraction defects in a model of phospholamban R9C mutation in zebrafish. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 173, 127-140. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2022.10.005>
- Wang, J., Thurston, H., Essandoh, E., Otoo, M., Han, M., Rajan, A., Dube, S., Zajdel, R. W., Sanger, J. M., & Linask, K. K. (2008). Tropomyosin expression and dynamics in developing avian embryonic muscles. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 65(5), 379-392. <https://doi.org/10.1002/cm.20267>
- Xi, D. T. P. B. R. C. K. L. (2001). Whole body hyperthermia and preconditioning of the heart: basic concepts, complexity, and potential mechanisms. *International Journal of Hyperthermia*, 17(5), 439-455. doi:10.1080/02656730110064342
- Xu, J., Yin, B., Huang, B., Tang, S., Zhang, X., Sun, J., & Bao, E. (2019). Co-enzyme Q10 protects chicken hearts from in vivo heat stress via inducing HSF1 binding activity and Hsp70 expression. *Poultry Science*, 98(2), 1002-1011. <https://doi.org/10.3382/ps/pey498>
- Yeh, H.-h., Chang, Y.-M., Chang, Y.-W., Lu, M.-Y. J., Chen, Y.-H., Lee, C.-C., & Chen, C.-C. (2022). Multiomic analyses reveal enriched glycolytic processes in β -myosin heavy chain-expressed cardiomyocytes in early cardiac hypertrophy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology Plus*, 1, 100011. <https://doi.org/10.1016/j.jmccpl.2022.100011>
- Yu, J., Liu, X., Wang, K., Wang, H., Han, Y., Kang, J., Deng, R., Zhou, H., & Duan, Z. (2023). Underlying mechanism of Qiling Jiaogulan Powder in the treatment of broiler ascites syndrome. *Poultry Science*, 102(1), 102144. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102144>
- Zhang, J., Schmidt, C. J., & Lamont, S. J. (2017). Transcriptome analysis reveals potential mechanisms underlying differential heart development in fast-and slow-growing broilers under heat stress. *BMC genomics*, 18(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3675-9>
- Zhang, X., Chen, B., Wu, J., Sha, J., Yang, B., Zhu, J., Sun, J., Hartung, J., & Bao, E. (2020). Aspirin Enhances the Protection of Hsp90 from Heat-Stressed Injury in Cardiac Microvascular Endothelial Cells Through PI3K-Akt and PKM2 Pathways. *Cells*, 9(1), 243. <https://doi.org/10.3390/cells9010243>
- Zhang, Y., Zhao, H., Liu, B., Li, L., Zhang, L., Bao, M., Ji, X., He, X., Yi, J., & Chen, P. (2020). Low level antibodies against alpha-tropomyosin are associated with increased risk of coronary heart disease. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 195. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00195>