تحقیقات تولیدات دامی

سال دهم/شماره سوم/پاییز ۱۴۰۰ (۴۴-۳۳)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

بررسی تفاوت‌های جنسیتی در بروز آسیت و نیم رخ بیان ژنی در بافت کلیه جوجه‌های گوشتی

صدیقه ملک شاهدهی[1*]، سید حسن حافظیان[2]، قدرت رحیمی میانجی[3]، کریم حسن پور[4]

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۰۶ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۳)

چکیده

سندرم آسیت یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در صنعت طیور است که در آن، بافت‌های مختلف بدن از جمله کلیه درگیر می‌شوند. این سندروم در بین نرها و ماده‌ها با فراوانی متفاوتی بروز پیدا می‌کند، اما ساز و کارهای ژنی در بروز متفاوت آسیت در دو جنس تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. در این پژوهش، نیم رخ بیان ژن بافت کلیه مرغ‌ها و خروس‌های خط پدری (B) از لاین تجاری آرین مبتلا به سندرم آسیت با استفاده از داده‌های RNA-Seq مورد مقایسه قرار گرفت. به دلیل تنش سرمایی شدید اعمال شده، میزان بروز آسیت بسیار بالا و حدود ۵۹ درصد بود که در پرنده‌های نر (۶۳/۴ درصد) نسبت به ماده‌ها (۵۴/۱ درصد) بالاتر بود. نتایج بررسی ترانسکریپتومی نشان داد که تعداد ۲۴۱ ژن در مقایسه بین پرنده‌های نر و ماده آسیتی به‌طور معنی‌داری تفاوت بیان داشتند. هستی‌شناسی ژن‌های مذکور نشان داد که مسیرهای بیوسنتز آنتی بیوتیک و اسیدهای آمینه، سوخت و ساز کربن، چسبندگی سلولی و تعامل گیرنده–ماتریکس خارج سلولی در این فرآیند درگیر بودند. پاسخ بدن به آسیب‌های ناشی از آسیت در بافت کلیه، توسعه فیبروز کلیوی (برای ترمیم آسیب ایجاد شده)، کاهش فعالیت مسیرهای گلیکولیز و افزایش گلوکونئوژنز جهت کاهش مصرف انرژی و اکسیژن در این مسیرها است. علاوه بر این، افزایش فعالیت مسیر پیام‌رسان STAT-JAK2 (با توجه به بیان بالای ژن‌های STAT3 و JAK2) مشاهده شد. این فرسته باعث تحریک رشد سلولی، رگ زایی، تمایز، مهاجرت و مرگ خود خواسته سلول می‌شود. انتظار بر این است که نتایج پژوهش حاضر بینش جدیدی در فهم ساز و کار مولکولی وقوع آسیت و نیز تفاوت‌های بروز آن در جنس نر در مقایسه با جنس ماده در جوجه‌های گوشتی فراهم نماید.

واژه‌های کلیدی: آسیت، جوجه گوشتی، کلیه، هستی‌شناسی ژن، RNA-Seq

* نویسندهٔ مسئول: s.malekshahdehi@gmail.com

doi: 10.22124/AR.2021.17794.1563

مقدمه

نیاز روزافزون جامعه به فرآورده‌های پروتئینی با منشا حیوانی، استفاده از روش‌های نوین تولید و افزایش محصول را ضروری کرده است. در میان این فرآورده‌ها، گوشت مرغ در تغذیه بشر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پرورش ماکیان در ایران دارای تاریخچه‌ای بسیار کهن است و ایران از نظر پرورش صنعتی طیور در جهان رتبه بالایی دارد. لاین مرغ آرین ایران که از شرکت طیور هیبرو هلند خریداری شده است تا سال ۱۳۸۲ عمده جوجه گوشتی کشور را تولید می‌کرد. با این حال، مشکلات لاین مذکور از جمله ضریب تبدیل غذایی نامناسب و میزان مرگ و میر بسیار بالا به علت بروز آسیت سبب شده است که لاین آرین بازارپسندی مناسبی نداشته باشد. در دو دهه اخیر، آسیت به عنوان مشکل اصلی کشور در پرورش طیور در ارتفاعات پایین بوده است. متغیرهای متعددی از جمله سازه ژنتیکی، تغذیه‌ای و محیطی از سازه‌های مستعدکننده پرندگان جهت ابتلا به آسیت هستند (Hassanpour *et al*., 2011). از این رو، شناسایی ژن‌ها و شبکه‌های ژنی موثر بر بیماری‌های متابولیکی در نمونه‌های حساس و مقاوم به آسیت می‌تواند در حوزه ژنتیک و اصلاح نژاد و اصلاح ساختار ژنتیکی جمعیت ماکیان مؤثر باشد. افزایش سرعت رشد در پرنده و به دنبال آن، افزایش میزان مصرف اکسیژن سبب ایجاد فشار خون ریوی و افزایش برون‌ده قلب می‌شود. در این شرایط ممکن است بدن پرنده نتواند به افزایش نیاز به اکسیژن پاسخ دهد و نسبت به تنش‌های محیطی حساس و مستعد ابتلا به آسیت شود. همچنین اگر انتخاب برای افزایش وزن بدن ادامه پیدا کند احتمالاً باعث افزایش شیوع بیماری آسیت در پرندگانی می‌شود که حتی در ارتفاعات پایین پرورش می‌یابند. کمبود اکسیژن مورد نیاز سوخت و ساز، منجر به آغاز یک سری حوادث متوالی می‌شود که در نهایت به بروز آسیت در پرنده منجر می‌شود. نشتی در دریچه‌های دهلیزی-بطنی و افزایش فشار سیاهرگ‌ها، منتج به کمبود اکسیژن و هیپوکسی بافتی می‌شود و کلیه‌ها از راه تولید اریتروپویتین شروع به پاسخ به این وضعیت می‌کنند، که سبب افزایش سریع در تولید اریتروسیت‌ها، حجم خون و شدت ویسکوزیته خون می‌شود. افزایش حجم خون منجر به افزایش فشار تحمیلی شده تا این که ناکارآمدی دریچه‌های قلبی به وقوع می‌پیوندد که این امر منجر به افت خروجی قلب و فشار ریوی شده و در ادامه، منجر به ترشح سرم از کبد به فضای بطنی کبدی می‌شود. افزایش فشار به کبد از راه برگشت خون سیاهرگی منجر به ترشح سرم به درون محوطه شکمی پرنده می‌شود که این مایع داخل محوطه شکمی تجمع یافته و در نهایت سبب آب‌آوردگی شکم می‌شود (Wideman *et al*., 2013). با کاهش فشار خون کلیوی و محدودیت در فیلتراسیون گلومرولی، سامانه رنین-آنژیوتنسین-آلدسترون فعال شده و در ادامه، بازجذب املاح و مایعات رخ می‌دهد. با این اوصاف، جوجه‌های گوشتی در حین توسعه آسیت تغییرات خونی زیادی را نشان می‌دهند به‌طوری که هماتوکریت، هموگلوبین و سلول‌های قرمز خون افزایش می‌یابند (Cueva *et al*., 1974). گزارش شده است که در بافت قلب، ریه و کلیه پرندگانی که در ارتفاعات پرورش داده شدند، آسیب‌های میکروسکوپی قابل توجهی مشاهده شده است (Olander *et al*., 1967). قابل ذکر است که یک ارتباط تنگاتنگ بین عروق ریوی، قلب و کلیه وجود دارد (Shi *et al*., 2014). در حالی که کلیه به جریان خون و فشار خون‌رسانی کنترل شده از طرف قلب وابسته است، قلب به‌طور مستقیم برای تنظیم هموستازی مایعات بدن و مقدار آب و نمک بدن به کلیه وابسته است. علاوه بر این، نارسایی کلیوی ممکن است باعث تشدید فشار خون ریوی شود زیرا عوامل مرتبط با گردش خون، بعد از آسیب‌های کلیوی در التهابات ریوی موثر هستند که ممکن است آسیب‌های ناشی از فشار خون ریوی را تشدید کنند (Haigney *et al*., 2004).

تاکنون پژوهش‌های متعددی در ارتباط با عارضه آسیت و نیم رخ بیان ژن در جوجه‌های گوشتی انجام شده است. در مطالعه‌ای (Cisar *et al*., 2005)، نیم رخ بیان ژن بافت‌های شش و قلب در پرندگان آسیتی و سالم بررسی شد که در این پژوهش، از ۱۷۲پروتئین ردیابی شده، دو پروتئین کلیدی میتوکندریایی در پرندگان مقاوم به آسیت شناسایی شدند. در مطالعه دیگر (Shi *et al*., 2014)، نیم رخ ترنسکریپتومیک و متابولومیک بافت کبد بررسی شد، که در این مطالعه، ۳۹۰ ژن متفاوت بیان شده (DEG) شناسایی

شد که از این بین، ۲۱۲ ژن دارای بیان بالا و ۱۷۸ ژن دارای بیان پایین در گروه آسیتی نسبت به شاهد بودند. همچنین در مطالعه‌ای (Wang *et al*., 2012)، پروتئومیکس بافت کبد دو گروه حساس و مقاوم به آسیت بررسی شد و نتایج نشان داد تفاوت بیان ۱۸ پروتئین بین جوجه‌های مبتلا به آسیت و جوجه‌های سالم وجود دارد. Yang *et al*. (2016) ترانسکریپتوم سرخرگ ریوی جوجه‌های گوشتی با سندرم آسیت را بررسی نمودند و ژن‌ها و مسیرهایی را برای گیرنده‌های سرخرگ ششی مشخص کردند. همچنین گزارش شده است که در ترانسکریپتوم بافت قلب (بطن راست) جوجه‌های آسیتی و سالم، تعداد ۱۲۵ ژن، ۴۰ ایزوفرم، ۸۵ گروه TSS و ۶۲ CDS بین دو تیمار سالم و آسیتی تفاوت بیان داشتند (Hassanpour *et al*., 2015). با این حال، علی‌رغم پژوهش‌های متعددی که در بررسی مقایسه‌ای بیان ژن‌ها در پرندگان آسیتی و سالم انجام شده است، هنوز هیچ پژوهشی که تفاوت‌های جنسیتی در بروز آسیت و بیان ژن مرغ‌ها و خروس‌های مستعد آسیت را بررسی کند، انجام نشده است. در تحقیق حاضر، نیم رخ بیان ژن با استفاده از داده‌های RNA-Seq در جوجه خروس‌های آسیتی با جوجه مرغ‌های آسیتی مورد مقایسه قرار گرفته است تا بتوان با انجام این پژوهش، مسیرهای احتمالی متفاوت زیستی که در بروز آسیت در دو جنس در جوجه‌های گوشتی دخیل هستند را آشکار نمود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ۷۳۹ قطعه جوجه یک روزه از ۷۱ خانواده خواهر-برادر ناتنی پدری از خط پدری لاین آرین در یک سالن پرورشی تا ۲۱ روزگی در شرایط استاندارد نگهداری شدند. در روز ۲۱ دوره پرورش، تنش سرمایی (در دمای ۲۴ درجه سلسیوس) شروع شد و تا انتهای دوره پرورش (۴۸ روزگی) ادامه پیدا کرد. بروز آسیت با میزان سوخت و ساز پرنده ارتباط مستقیم دارد، لذا تا حد امکان میزان سوخت و ساز پرنده با اعمال سرما ارتقاء داده شد تا آسیت القاء شود. علاوه بر سرما از کولرهایی که در سالن، یک جریان خفیف هوا ایجاد می‌کردند نیز استفاده شد. بعد از اعمال تنش سرمایی، پرندگانی که علایم آسیت را نشان دادند در دسته آسیتی و سایر پرنده‌ها در دسته سالم دسته-بندی شدند. برای نمونه‌برداری از بافت کلیه، در روز ۳۹ دوره پرورش، تعداد ۷۰ پرنده با علائم ظاهری آسیت کشتار شدند و بعد از تعیین و تائید آسیتی بودن پرنده‌ها، نمونه‌های بافتی از آن‌ها جمع‌آوری و سریعاً به تانک ازت منتقل شدند.

برای بررسی ژن‌های با بیان متفاوت در بافت کلیه جوجه خروس‌ها و جوجه مرغ‌های آسیتی، نمونه‌های بافتی تعداد ۱۶ پرنده آسیتی (هشت پرنده نر و هشت پرنده ماده) انتخاب شدند تا برای استخراج mRNA کل از آن‌ها استفاده شود. همچنین تعداد ۱۶ پرنده سالم متناظر (هشت پرنده نر و هشت پرنده ماده) نیز نمونه‌برداری شدند. استخراج RNA کل با استفاده از محلول ترایزول (YTzoL) به‌صورت انفرادی انجام شد و مقدار مساوی از mRNA چهار پرنده با یکدیگر ادغام شدند. در ادامه، تعداد دو نمونه ادغام شده از نر بیمار (هر نمونه ادغام شده از بافت کلیه چهار پرنده)، دو نمونه ادغام شده از ماده بیمار، دو نمونه ادغام شده از نر سالم و دو نمونه ادغام شده از ماده سالم به‌دست آمد.

مقایسه تفاوت بیان ژن بین گروه‌های ماده آسیتی با نر آسیتی و ماده سالم با نر سالم انجام شد. به منظور حذف اثر جنسیت بر بیان ژن، ژن‌هایی که در دو مقایسه بالا به‌صورت مشترک دارای تفاوت بیان معنی‌داری بودند کنار گذاشته شدند و تجزیه‌های پایین‌دست صرفاً برای ژن‌هایی که فقط در مقایسه ماده آسیتی با نر آسیتی دارای تفاوت بیان معنی‌دار بودند، انجام شد. کمیت و کیفیت RNAها با استفاده از الکتروفورز در ژل آگاروز یک درصد و نانودراپ بررسی شد.

توالی‌یابی نمونه‌های استخراج شده با استفاده از فن‌آوری ایلومینا هایسک ۲۵۰۰ به وسیله شرکت Novogene چین انجام شد. نمونه‌های mRNA ارسالی دارای معیار خردشدگی بالاتر از هشت بودند. در ادامه، برای انجام توالی‌یابی از Oligo dT beads استفاده شد که با اتصال به دم پلی A انتهای mRNAها، باعث حفظ آن‌ها و حذف RNAهای کوچک‌تر از قبیل RNAهای ریبوزومی، tRNA و غیره می-شود. سپس mRNAها به وسیله کیت‌های خاصی شکسته شده و به قطعات کوتاه‌تری تبدیل شدند. با استفاده از

پرایمرهای هگزامری، از روی قطعات شکسته شده، cDNA ساخته شد. سپس cDNAهای با طول مشخص (حدود ۲۵۰ باز) انتخاب، انتهای آن‌ها ترمیم و باز آدنین به آن‌ها اضافه شد. سپس آداپتور به آن‌ها اضافه شد و در نهایت با استفاده از دستگاه‌های توالی‌یابی ایلومینا هایسک ۲۵۰۰ مورد توالی‌یابی قرار گرفتند. بیش از ۲۰ میلیون جفت خوانش دوطرفه به ازای هر نمونه تولید شد.

برای کنترل کیفی داده‌ها و فیلتراسیون از نرم افزار FastQC و Trimmomatic و برای نقشه‌یابی خوانش‌ها روی ژنوم مرجع (Gallus_gallus-5.0) از نرم افزار Tophat استفاده شد. تجزیه‌ها در محیط لینوکس و با استفاده از نرم افزارها و بسته‌های نرم افزار R انجام شد. از نرم افزارهای DEseq و HTseq برای بررسی بیان ژن و تجزیه افتراقی ژن‌ها استفاده شد. به منظور بررسی ویژگی‌های ساختاری و عملکردی ژن-های معنی‌دار از پایگاه اطلاعاتی DAVID 6.8 استفاده شد. این پایگاه با اتصال به پایگاه‌های دیگری مانند GO[1] و KEGG به بررسی عملکردی و مسیرهای متابولیکی ژن‌های معنی‌دار می‌پردازد. در ادامه، نتایج مربوط به بیان افتراقی ژن‌ها در بین جوجه خروس‌ها و جوجه مرغ‌ها به همراه ریشه‌شناسی آن‌ها مورد بررسی و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

شیوع بالای آسیت (۴۳۳ پرنده بیمار از ۷۳۳ پرنده سالم) در آزمایش حاضر بیانگر حساسیت بالای لاین پدری مورد بررسی به آسیت است. همچنین با تشدید تنش آسیت‌زا، فراوانی آسیت افزایش پیدا کرد. فراوانی بسیار بالای آسیت تا حدودی بیانگر کافی بودن تنش اعمال شده در بروز آسیت در همه یا بیشتر پرندگان حساس (از نظر ژنتیکی مستعد بروز آسیت) است.

در این پژوهش، ۶۳/۴ درصد (۲۴۴/۳۸۵) از جوجه‌های نر و ۵۴/۱ درصد (۱۸۹/۳۴۹) از جوجه‌های ماده به علت آسیت تلف شدند. بنابراین، به نظر می‌رسد که جوجه‌های نر نسبت به جوجه‌های ماده به آسیت حساس‌تر باشند. این نتیجه با نتایج پژوهش‌های قبلی مطابقت دارد (Wideman 2000, Hasanpur *et al*., 2015). این ممکن است به دلیل بالاتر بودن نرخ متابولیکی در جوجه‌های نر نسبت به جوجه‌های ماده باشد. به‌علاوه، جوجه‌های ماده نسبت به جوجه‌های نر رشد پایین‌تری دارند. بنابراین این امکان وجود دارد که جوجه‌های ماده طی مراحل بعدی رشد نسبت به توسعه علائم آسیت حساس شوند. اطلاعات آماری در خصوص تفاوت‌های فنوتیپی پرنده‌های نر و ماده سالم و بیمار در جمعیت مورد استفاده در تحقیق حاضر در مطالعه Jabbari *et al*. (2019) اشاره شده است.

در پژوهش‌های مختلف نشان داده شده است که پرنده‌های نر نسبت به پرنده‌های ماده به آسیت حساس‌تر هستند. در یک مطالعه (Wideman, 2000)، فراوانی بروز آسیت در پرندگان نر، ۴۳/۶ درصد و در پرندگان ماده، ۱۲/۳ درصد گزارش شده بود. در مطالعه‌ای دیگر، مشخصات جنین دو لاین گوشتی (لاین پدری و لاین مادری) از نظر آسیت بررسی شد (Dewil *et al*., 1996). این پژوهشگران دریافتند که حساسیت بالا به آسیت حاصل انتخاب ژنتیکی برای چندین متغیر فیزیولوژیکی در مرحله جنینی است. آنها نرخ سوخت و ساز ناشی از کارکرد کمتر تیروئید را در مرحله جنینی به عنوان یک عامل مستعدکننده برای توسعه بعدی نارسایی قلبی و بروز آسیت در پرندگان حساس گزارش کردند، زیرا این عامل باعث جوجه‌درآوری دیرتر و در نتیجه، ایجاد یک وضعیت هیپوکسی در مرحله جنینی می‌شود.

بررسی ترانسکریپتوم: حدود ۸۵ درصد از خوانش‌ها روی ژنوم مرجع نقشه‌یابی شدند. نکته قابل توجه این است که بسیاری از خوانش‌ها به‌طور صحیح و در فاصله معقولی نسبت به جفت خود روی ژنوم منطبق شدند[2]. بنابراین می-توان استنتاج کرد که کیفیت خوانش‌ها بسیار مطلوب بوده و توالی‌یابی با کمترین خطا انجام شد. خلاصه داده‌های حاصل از توالی‌یابی در جدول ۱ ارائه شده است.

نتایج تفاوت بیان ژن نشان داد که در مقایسه ماده سالم با نر سالم، تعداد ۴۶۶۴ ژن دارای تفاوت بیان معنی‌دار بودند. همچنین در مقایسه ماده آسیتی با نر آسیتی، تعداد ۴۴۷ ژن دارای تفاوت بیان معنی‌دار بودند. در مقایسه بین نرها و ماده‌های بیمار نمی‌توان ادعا کرد که تمام ۴۴۷ ژن با بیان متفاوت صرفاً به دلیل تفاوت ساز و کارهای بروز بیماری در

1. Gene Ontology Consortium

2. Concordant pair alignment

جدول ۱- اطلاعات آماری تعداد خوانش‌های خام، ویرایش شده و تعداد کل خوانش‌های نقشه‌یابی شده روی ژنوم مرجع
Table 1. Summary statistics of raw reads, processed reads, and mapped reads on reference genome

Sample name	Raw reads	Filtered reads	Concordant pair alignment (%)	Disconcordant pair alignment (%)	Alignment pairs	Total clean reads
Ascites female-1	23811191	23451509 (98.5)	78.8	0.8	16807183	21158696
Ascites female-2	21514258	21200749 (98.5)	77.9	0.6	15089649	19246614
Ascites male-1	24546273	24233173 (98.7)	77.3	0.7	17359560	23211044
Ascites male-2	25585001	25147989 (98/2)	77.6	0.6	17892409	22932237
Healthy famale-1	21486454	21181135 (98.5)	83.9	0.5	16242643	19280095
Healthy famale-2	22517021	22278145 (98.9)	83.3	0.5	17153759	20378777
Healthy male-1	24469651	24233173 (98.7)	82.3	0.5	18481350	18876795
Healthy male-2	23710793	23372942 (98.5)	74.4	0.5	15804226	21086785

دو جنس باشد، بلکه خود اثر جنسیت می‌تواند عامل بروز تفاوت بیان در تعدادی از ژن‌ها باشد. بنابراین ژن‌هایی که در هر دو مقایسه به‌صورت مشترک دارای تفاوت بیان بودند (۲۰۷ ژن)، به عنوان ژن‌هایی که صرفاً به دلیل تفاوت جنسیتی دارای تفاوت بیان بودند در نظر گرفته شده و حذف شدند و تعداد ۲۴۰ ژن باقیمانده برای ادامه بررسی در نظر گرفته شدند. این ژن‌ها در این پژوهش "ژن‌های مسبب بروز آسیت" نامیده شدند. از بین ۲۴۰ ژن مسبب بروز، تعداد ۱۱۲ ژن در نرهای آسیتی نسبت به ماده‌های آسیتی دارای بیان بالا و ۱۲۸ ژن دیگر دارای بیان پایین بودند.

در پژوهشی به منظور بررسی تفرق بیان ژن روی نژاد آرین، ۲۰۰۳۴ ژن در مجموع نمونه‌ها مشاهده شد که بعد از جداسازی ژن‌های با میزان بیان مختلف، در مجموع، ۲۹۱ ژن با ۶۶ مسیر زیستی شناسایی شدند، به‌طوری که ۵۳ ژن در مسیر زیستی آپوپتوزیس قرار داشتند. بررسی‌های هستی‌شناسی ژن‌ها نشان داد که مسیرهای تنظیم فرآیندهای سلولی در تنظیم منفی آپوپتوزیس به‌طور معنی-داری تحت تاثیر آسیت است (صحرایی و همکاران، ۱۳۹۸). در مطالعه‌ای دیگر، بر مبنای تجزیه ترانسکریپتومیکس و متابولومیکس، سندرم آسیت در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس تجزیه و تحلیل RNA-seq در کبد جوجه‌های گوشتی، ۳۹۰ ژن با بیان متفاوت شناسایی شدند. در مقایسه بین گروه آسیتی با گروه شاهد، ۲۱۲ ژن با بیان بالا و ۱۷۸ ژن با بیان پایین شناسایی شدند. گزارش شده است که این ژن‌ها در مسیرهای بیوسنتز آنتی بیوتیک و اسیدهای آمینه دخالت دارند (Shi *et al*., 2014).

در این مطالعه، فرآیند زیستی ریشه‌شناسی مربوط به تجزیه تفاوت بین گروه‌های نر و ماده آسیتی نیز مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). در فرآیندهای زیستی معنی‌دار شده مربوط به تفاوت نر و ماده آسیتی، مسیر پیام‌دهی شناسایی شده مربوط به JAK2-STAT بسیار با اهمیت است. مسیر پیام‌دهی JAK2-STAT اطلاعات را از فرسته‌های خارج سلولی به هسته انتقال می‌دهد که منجر به رونویسی DNA و بیان ژن‌های مربوط به ایمنی، تکثیر، رشد، تمایز، مرگ خود خواسته سلول و انکوژنز می‌شود (Dreesen and Brivanlou, 2007, Masterson *et al*., 2018).

یکی از مهم‌ترین تفاوت‌های جوجه‌های گوشتی جنس نر و ماده، تفاوت از نظر رشد و سوخت و ساز است. آثار زیستی عوامل رشد به وسیله گیرنده‌های اختصاصی آن‌ها روی سلول‌های هدف القاء می‌شود. بسیاری از این گیرنده‌ها، جزئی از خانواده بزرگ گیرنده‌های اریتروپویتینی هستند که پس از اتصال با لیگاند خود، دایمریزه می‌شوند. دایمریزه شدن لیگاند منجر به فعالیت یک سری مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی می‌شود که مهم‌ترین آن‌ها، مسیر STAT-JAK2 است (Masterson, *et al*., 2018).

مسیر پیام‌دهی JAK2-STAT دارای سه جز اصلی شامل: گیرنده سطح سلولی و دو پروتئین مبدل سیگنال و فعال-کننده پروتئین STAT است. زمانی که یک مولکول رشد به گیرنده خارج سلولی متصل شود، منجر به تجمع آن‌ها شده و موجب القای انتقال پیام از JAK به STAT و تاثیر روی عوامل رونویسی ژن‌ها می‌شود. این فرآیندها باعث دایمریزه شدن و انتقال عوامل از سیتوپلاسم به هسته شده و در

داخل هسته، فرآیند رونویسی از ژن‌های اختصاصی را فعال می‌کند (Haque *et al*., 2018).

ژن JAK2 در مسیر STAT/JAK که یکی از بنیادی‌ترین مسیرهای پیام‌دهی جهت انتقال اثر عوامل رشد و سیتوکین‌های مختلف به هسته سلول است، فعالیت می‌کند و روی رشد و سوخت و ساز اثرگذار است. این فرسته بعد از فعال شدن باعث تحریک رشد سلولی، رگ‌زایی، تمایز، مهاجرت و مرگ خود خواسته سلول می‌شود. این ژن، پروتئینی را تولید می‌کند که در رشد، تقسیم و تکثیر سلول‌ها دخیل است و پروتئین STAT3 را فعال می‌کند که مسیرهای پیام‌دهی شیمیایی را از بیرون سلول به هسته منتقل می‌کند (Kumar and Ratwan, 2018). در پژوهشی دیگر (Canto *et al*., 2018)، مشخص شد که پروتئین JAK2 به‌طور ویژه‌ای برای کنترل تولید سلول‌های خونی از سلول-های بنیادی خون‌ساز بسیار مهم است. سلول‌های بنیادی درون مغز استخوان قرار دارند و دارای توان بالقوه برای تولید گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها هستند. همچنین، پروتئین STAT پس از فعال شدن وارد هسته سلول شده و به مناطق خاصی از DNA (مناطق تنظیم ژن) متصل شده که سبب فعال شدن یا غیر فعال شدن بیان ژن-ها می شود. به همین دلیل است که این پروتئین به عنوان یک عامل رونویسی شناخته می‌شود. پروتئین STAT3 در تمام بافت‌های بدن از جمله کلیه فعال است و نقش مهمی در توسعه سیستم‌های بدن دارد. STAT3 با واسطه عوامل رشد و سیتوکین‌ها، نقش مهمی را در فرآیند آپوپتوز، تمایز، تکثیر و پاسخ ایمنی ایفا می‌کند و در چرخه سلولی هم نقش دارد (Canto *et al*., 2018).

مسیر بعدی، مسیر گلیکونئوژنز است که به عنوان یک فرآیند در تجزیه تفاوت بیان ژن‌ها در بررسی حاضر معنی‌دار گزارش شد. گلیکونئوژنز یک مسیر آنابولیکی است و منجر به آزاد شدن گلوکز می‌شود. لازم به ذکر است که در تولید گلوکز از مسیر گلیکونئوژنز، کلیه نقش کلیدی دارد. در این بررسی و در مسیر متابولیکی گلیکونئوژنز، ژن‌های PGAM1 و ALDOC معنی‌دار شدند. با توجه به اینکه یکی از مراحل گلیکولیز، واکنش دو طرفه تبدیل ۱ و ۶ بیس فسفوگلیسرات (1,6-BP) به دو تریوز گلیسرآلدئید ۳ فسفات (G3P) و دی هیدروکسی استون فسفات (DHAP) به وسیله آلدولاز است (Sanders and Diehl, 2015)، افزایش بیان ALDOC (ژن آلدولاز) از راه فعال شدن رونویسی HIF-1 (عامل القایی هیپوکسی)، در پژوهش های متعددی گزارش شده است. بیان این دو ژن در زمان کمبود اکسیژن در کلیه زیاد می-شود. در پژوهش حاضر، ژن آلدولاز جزء ژن‌های با بیان پایین بوده که نشان می‌دهد در مسیر گلیکونئوژنز فعالیت دارد. همچنین گزارش شده است که قند خون ناشتای پرندگان در هوای سرد و در چهار و شش هفتگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از پرندگان در شرایط دمای طبیعی است. این مشاهده به سطح بالای گلوکونئوژنز در پرندگان آسیتی نسبت داده شده است (Daneshyar *et al*., 2009).

آنزیم PGAM1 فسفوگلیسرات موتاز در چرخه گلیکولیز، ۳-فسفوگلیسرات را به ۲-فسفوگلیسرات تبدیل می‌کند و در واکنش ایزومریزاسیون نقش دارد. فعالیت این ژن نیز به دنبال فعالیت HIF-1 در زمان کمبود اکسیژن به ویژه در سرطان کلیه گزارش شده است. به دلیل بیان پایین ژن PGAM1 در پژوهش حاضر، این آنزیم بیشتر در واکنش‌های گلیکونئوژنز فعالیت دارد و منجر به آزاد شدن گلوکز می‌شود که در این پژوهش، می‌توان به عنوان تفاوت دو جنس در بروز بیماری اشاره کرد (Marin-Hernandez *et al*., 2009).

در فرآیند انتقال پتاسیم، ژن KCNJ1 که زیر واحد کانال پتاسیمی حساس به ATP (KATP) را رمزدهی می‌کند، به دلیل نقش اساسی در ترشح انسولین، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Elbein, 2002). این کانال‌ها در تنظیم سوخت و ساز بدن و فعالیت الکتریکی فرآیندهای غشایی دخالت دارند. کانال‌های پتاسیمی موجود در کلیه که با ژن KCNJ1 بیان می‌شوند به ROMK معروف هستند و به سه ایزوفرم متفاوت در بخش‌های مختلف انتهای نفرون و همچنین در مجاری جمع‌کننده ادرار شناسایی شده‌اند و ترشح یون K^+ را به عهده دارند. این ژن در بررسی حاضر در فرآیند زیستی انتقال پتاسیم معنی‌دار گزارش شده است که نشان می‌دهد کلیه در زمان بیماری آسیت، نقش مهمی در بازجذب پتاسیم و املاح بر عهده دارد.

جدول ۲- بررسی فرآیند زیستی ریشه‌شناسی مربوط به تجزیه مسیر متابولیسمی معنی‌دار KEGG بین جوجه‌های نر و ماده آسیتی

Table 2. Significant terms of biological process in KEGG pathways between ascetic male and female chickens

Term	Count	*P*-value	Genes
GO:0097286~iron ion import	2	0.037	MELTF,FTH1
GO:0007044~cell-substrate junction assembly	2	0.037	ITGB3, FN1
GO:0060397~JAK-STAT cascade involved in growth hormone signaling pathway	2	0.037	STAT3, JAK2
GO:0006532~aspartate biosynthetic process	2	0.055	GOT1, BCAT1,ITGA1
GO:0006750~glutathione biosynthetic process	2	0.073	GGT1, GCLC
GO:0050667~homocysteine metabolic process	2	0.091	MTHFR, NOX4
GO:0007021~tubulin complex assembly	2	0.091	CRYAB, TBCA
GO:2001223~negative regulation of neuron migration	2	0.091	STAT3, ERBB4
GO:0010107~potassium ion import	3	0.044	KCNJ5, ATP12A, KCNJ1
GO:0006094~gluconeogenesis	3	0.080	GOT1, ALDOC, PGAM1
GO:0048146~positive regulation of fibroblast proliferation	3	0.080	MIFITGB3, FN1
GO:2001237~negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway	3	0.080	NRP1, HTT, GCLC
GO:0007626~locomotory behavior	4	0.074	NAV2, HEXB,CHRNA4, PENK
GO:0008285~negative regulation of cell proliferation	7	0.064	DLEC1, STAT3,ALDH1A2,FTH1,ITGA1,NOX4
GO:0005887~integral component of plasma membrane	13	0.019	SLC22A7,SLC16A3,SLC6A6,KCNJ5,SLC6A19

در فرآیند زیستی فیلتراسیون املاح که در این بررسی معنی‌دار گزارش شده است، ژن‌های SLC22A7، SLC16A3 و SLC6A6 متعلق به گروه ناقل املاح هستند و به عنوان پروتئین‌های انتقالی غشایی دخالت دارند. این ناقلین نقش مهمی در انتقال و جذب فعال مواد یونیزه در سلول‌های پروکسیمال کلیوی دارند. با کاهش فشار خون کلیوی و محدودیت در فیلتراسیون گلومرولی، سامانه رنین-آنژیوتنسین-آلدسترون فعال و در ادامه بازجذب املاح و مایعات رخ می‌دهد (Wideman and Bottje, 1993).

در فرایند زیستی انتقال آهن که در این بررسی معنی‌دار گزارش شده است، سطح بیان ژن METLF همانند پژوهش‌های دیگر، در مغز، سطح اپی‌تلیال غدد بزاقی، پانکراس، کلیه و مجاری عروقی بیشتر از سایر بافت‌ها گزارش شده است (Richardson, 2000, Dunn *et al*., 2006). همچنین پژوهش‌های دیگر، فرآیندهای زیستی و فیزیولوژیکی مختلفی نظیر انتقال آهن، تمایز ائوزینوفیل، آنژیوژنز و فعال‌سازی پلاسمینوژن را برای ژن METLF پیشنهاد کرده‌اند (Demeule *et al*., 2002).

سوخت و ساز آهن به وسیله مجموعه‌ای از ژن‌ها کنترل می‌شود که از مهم‌ترین آن‌ها، ژن FTH1 است. فریتین نقش مهمی در انتقال آهن، رگ‌زایی[1]، ایمنی، التهاب و پیام‌دهی دارد. فریتین شامل ۲۴ زیرواحد پلی پپتیدی زنجیره سنگین (FTH1) و زنجیره سبک (FTL) است (Richardson, 2000). تنظیم آهن سلولی شامل جذب، ذخیره و انتقال آهن به وسیله پروتئین‌های تنظیمی همچون گیرنده‌های ترانسفرین، گلیوبلاستوما و فریتین سرم است که در هنگام افزایش جذب آهن، میزان بیان این پروتئین‌ها افزایش می‌یابد (Gonçalves *et al*., 2007). افزایش بیان پروتئین‌های تنظیم‌کننده آهن خون در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در ادامه تغییرات خونی، با القای آسیت و هیپوکسی بافتی در بدن پرنده، کلیه تحریک می‌شود و تحریک ترشح اریتروپویتین از کلیه‌ها در پاسخ به هیپوکسمیا باعث ازدیاد تولید هموگلوبین و گلبول قرمز و به دنبال آن افزایش درصد هماتوکریت خون می‌شود، که با نتایج بررسی حاضر به عنوان تفاوت دو جنس در بروز بیماری هم‌خوانی دارد.

در پژوهش حاضر، علاوه بر بررسی فرآیندهای زیستی، مطالعه مسیرهای معنی‌دار در پایگاه داده‌های KEGG مربوط به تجزیه تفاوت بین گروه‌های نر و ماده آسیتی نیز

1. Angiogenesis

انجام شد (جدول ۳). نتایج نشان داد که این ژن‌ها نیز در مسیرهای بیوسنتز آنتی بیوتیک و اسیدهای آمینه، سوخت و ساز کربن، چسبندگی کانونی سلولی و تعامل گیرنده با ECM به‌طور معنی‌دار غنی شده‌اند، که این نتیجه با نتایج پژوهش دیگر (Wang *et al*., 2012) هم‌خوانی دارد. در پژوهش مذکور، تجزیه و تحلیل پروتئومیکس کبدی نشان داد که ۱۸ پروتئین دارای تفاوت بیان بودند. این پروتئین‌ها به‌طور عمده در اسکلت سلولی، سوخت و ساز گلوکز، لیپیدها و اسیدهای آمینه، ترشح سلولی، مرگ خود خواسته سلول، مسیر پیام‌دهی، پاسخ ایمنی و التهابی نقش دارند (Petit and Thiery, 2000).

دو مسیر معنی‌دار KEGG برای ژن‌های متفاوت بیان شده نظیر Focal adhesion و ECM-receptor intraction در برهم کنش گیرنده‌های برون یاخته‌ای (ECM) و فرآیند رشد بافت‌های پیرامونی و محافظتی ماهیچه‌ای نقش بسیار مهمی در تفاوت دو جنس ایفا می‌کنند. ژن‌های مسیر زیستی گیرنده‌های برون یاخته‌ای تفاوت بیان معنی‌داری داشتند که در رگ‌زایی و توسعه آن دخالت دارند. این امر نشان‌دهنده توسعه بیماری آسیت و فیبروز کلیوی است. همچنین بهبود زخم یک رویداد فیزیولوژیکی حیاتی برای ادامه زندگی است. فرآیند پیچیده‌ای که منجر به بهبود زخم شده و انواع مختلفی از سلول‌ها مانند فیبروبلاست‌ها، سیتوکین‌ها، پروتئین‌های ECM و عوامل رشد خاص در آن دخالت دارند و در ادامه، موجب ترمیم بافت و بازگشت یکپارچگی آن می‌شود. بهبود زخم نتیجه هماهنگی چهار مرحله هموستازی، التهاب، تکثیر و بازسازی سلول است. بعد از یک آسیب مزمن، سلول‌های پارانشیم بازسازی شده و جایگزین سلول‌های آپوپتوزی شده[1] یا نکروزی[2] می‌شوند (Caley *et al*., 2015). این فرآیند با یک پاسخ التهابی و جذب محدودی ECM مرتبط است. اگر آسیب هم چنان ادامه داشته باشد نهایتاً بازسازی کلیوی متوقف شده و هپاتوسیت‌ها با ECM فراوان شامل کلاژن جایگزین می‌شوند.

اتصالات سلولی، که با ریخت‌زایی[3] بافت‌ها بسیار مرتبط است، متشکل از پروتئین‌هایی است که در ساختارهایی مانند اتصالات سخت[4]، اتصالات چسبی[5]، چسبندگی کانونی[6] و اتصالات شکاف دار[7] با عملکردهای متفاوتی انباشته شده‌اند (جباری، ۱۳۹۸). چسبندگی سلول‌ها به ماتریکس نقش مهمی در فرآیندهای مهم زیستی از جمله تحرک سلولی، تکثیر سلولی، تمایز سلولی، تنظیم بیان ژن، بقا و مرگ خود خواسته سلول دارد (Petit and Thiery, 2000). نقاط تماس با ماتریکس خارج سلولی، ساختارهای تخصصی شکل گرفته هستند که چسبندگی کانونی نام‌گذاری شده‌اند که در آن، دسته‌هایی از رشته‌های اکتین از راه یک مجموعه چند مولکولی از پروتئین‌های اتصالی به گیرنده‌های تراغشایی از خانواده اینتگرین متصل می‌شوند. برخی از اجزای چسبندگی کانونی در پیوند ساختاری بین گیرنده‌های غشایی و اسکلت سلولی اکتین شرکت می‌کنند، در حالی که بقیه آنها، مولکول‌های پیام‌دهی شامل پروتئین کینازهای مختلف، فسفاتازها و زیر مجموعه‌های آن‌ها هستند. مسیرهای چسبندگی کانونی و تعامل گیرنده-ماتریکس خارج سلولی، مسیرهای پیام‌دهی داخل سلولی را به ماتریکس خارج سلولی وصل می‌کنند. بنابراین، این مسیرها با توجه به نقشی که در ایجاد فیبروز دارند می‌توانند در توسعه آسیت در پرنده نر نقش مهمی داشته باشند.

در مسیر متابولیکی چسبندگی کانونی سلولی و تعامل گیرنده با ECM، ژن‌های ITGA8 و ITGAV دخالت دارند. در داخل چسبندگی کانونی گیرنده‌های سطح سلولی ضروری و اصلی برای اتصال به ECM، اینتگرین‌ها قرار دارند. اینتگرین‌ها پروتئین‌های هترودایمریک تراغشایی هستند که نقش مهمی در طول فرآیندهای تکاملی و بیماری‌زایی شامل تکثیر، تفرق سلول، اتصال سلول-سلول، چسبندگی و هدایت سیگنال بین سلولی و ECM ایفا می‌کنند. طبیعت چسبندگی این پروتئین‌ها به آن‌ها اجازه می‌دهد به

1. Apoptotic
2. Necrotic

3. Morphogenesis
4. Tight junction
5. Adherent junction
6. Focal adhesion
7. Gap junction

جدول ۳- بررسی مسیرهای معنی‌دار در پایگاه داده‌های KEGG برای ژن‌های متفاوت بیان شده بین پرندگان نر و ماده آسیتی
Table 3. Significant terms in KEGG pathways for differentially expressed genes between mal and female ascetic chickens

Term	Count	*P*-value	Genes
gga01130:Biosynthesis of antibiotics	9	0.019	RGN, GOT1,BCAT1, ALDOC,PGAM1, OGDHL
gga01230:Biosynthesis of amino acids	5	0.021	GOT1, BCAT1,ALDOC,PGAM1, ARG2
gga01200:Carbon metabolism	6	0.033	RGN, GOT1,BCAT1, ALDOC,PGAM1, OGDHL,MTHFR
gga04512:ECM-receptor interaction	5	0.046	ITGA1,VTN, ITGB3, SPP1,FN1
gga04510:Focal adhesion	8	0.055	ITGA1,VTN, ITGB3, SPP1,PGF,ACTN2,MYLK,FN1

پروتئین‌های ECM دیگر مانند ویترونکتین، فیبرونکتین، لامینان و کلاژن متصل شوند. اینتگرین‌های بیان شده به حالت غیرفعال باقی می‌مانند و تنها زمانی که به لیگاندهای خود متصل می‌شوند فعال می‌شوند. آنها در پیام‌دهی دوطرفه اطراف غشای پلاسما نقش دارند. اینتگرین‌ها نقش حیاتی در مهاجرت سلول بازی کرده و هم‌چنین به سلول‌ها اجازه می‌دهند تا با ECM زخم ارتباط برقرار کنند. اینتگرین ITGAV سبب تنظیم رگ‌زایی می‌شود و نقش مهمی در مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، تشکیل و تکثیر رگ‌های خونی بازی می‌کند (Boettiger, 2012). زیر واحد آلفا ۸ اینتگرین (ITGA8) جذب سلول‌های مزانشیمال را تنظیم کرده و همچنین تعاملات سلول-سلول را تنظیم می‌کند. در این پژوهش، ژن‌های ITGA8 و ITGAV در پرندگان نر آسیتی دارای بیان بیشتری بودند. بنابراین، آنها می‌توانند از راه ایجاد فیبروز کلیوی، به سبب ادامه آسیب به سلول‌های کلیوی، در توسعه آسیت پرندگان نر نقش داشته باشند.

ژن ITGB2 پروتئین اینتگرین بتا ۲ را کد می‌کند. اینتگرین بتا ۲ در پاسخ‌های ایمنی و در عملکردهای زیستی مانند تحرک و تهاجم سلول نقش دارد، به‌طوری که اینتگرین بتا ۲ چسبندگی لوکوسیت‌ها به اندوتلیوم و مهاجرت به جایگاه-های التهاب را تنظیم می‌کند و در تشخیص باکتری و تنظیم سیگنال خارج به داخل در نوتروفیل‌ها درگیر است (Harris *et al.*, 2000). در این بررسی، بیان این ژن در پرنده‌های نر آسیتی کمتر از پرنده‌های ماده بود. بنابراین، کاهش بیان این ژن در پرنده‌های آسیتی سبب مهاجرت کمتر لوکوسیت‌ها به محل التهاب شده و میزان لوکوسیت‌ها در خون این پرندگان افزایش می‌یابد، به‌طوری که گزارش شده است که تعداد لوکوسیت‌ها و به ویژه لنفوسیت‌ها در خون پرندگان آسیتی بیشتر از پرندگان سالم است (Maxwell *et al.*, 1990).

نتیجه‌گیری کلی

بررسی داده‌های RNA-seq نشان داد تعداد ۲۴۰ ژن در مقایسه بین پرندگان نر و ماده آسیتی به‌طور معنی‌داری تفاوت بیان داشتند. ریشه‌شناسی ژن‌های مذکور نشان داد که مسیرهای متابولیکی بیوسنتز آنتی بیوتیک و اسیدهای آمینه، سوخت و ساز کربن، چسبندگی سلولی و تعامل گیرنده ماتریکس خارج سلولی، کاهش فعالیت مسیرهای گلیکولیز و افزایش گلوکونئوژنز جهت کاهش مصرف انرژی و اکسیژن در این مسیرها و همچنین مسیر پیام‌دهی STAT - JAK2 از جمله مسیرهای درگیر بودند. این مسیرهای پیام-دهی باعث تحریک رشد سلولی، رگ‌زایی، تمایز، مهاجرت و آپوپتوز می‌شوند.

فهرست منابع

جباری عوری ر. ۱۳۹۸. آنالیز پروفایل ترنسکریپتومی و فاکتورهای متابولیکی سندرم آسیت القا شده در یک لاین مرغ گوشتی. رساله دکتری علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

صحرایی س.، نصیری م.، جوادمنش ع.، توحیدی ر.، و ابراهیمی ا. ۱۳۹۸. بررسی بیان ژن و شبکه های ژنی مرتبط با آپوپتوزیس در مرغان حساس و مقاوم به آسیت والدین جوجه گوشتی آرین با استفاده از RNA-seq. تحقیقات تولیدات دامی، ۸(۱): ۵۳-۶۶.

Caley M. P., Martins V. L. and O'Toole E. A. 2015. Metalloproteinases and wound healing. Advances in Wound Care, 4(4): 225-234.

Canto E., Isobe N., Didonna A., Hauser S. L., Oksenberg J. R. and MS-EPIC Study Group. 2018. Aberrant STAT phosphorylation signaling in peripheral blood mononuclear cells from multiple sclerosis patients. Journal of Neuroinflammation, 15(1): 72.

Cisar C. R., Balog J. M. and Anthony N. B. 2005. Differential expression of cardiac muscle mitochondrial matrix proteins in broilers from ascites resistant and susceptible lines. Poultry Science, 84: 704-708.

Daneshyar M., Kermanshahi H. and Golian A. 2009. Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. Poultry Science, 88(1): 106-110.

Demeule M., Bertrand Y., Michaud-Levesque J., Jodoin J., Rolland Y., Gabathuler R. and Béliveau R. 2003. Regulation of plasminogen activation: a role for melanotransferrin (p97) in cell migration. Blood, 102(5): 1723-1731.

Dewil E., Buys N., Albers G. A. and Decuypere E. 1996. Different characteristics in chick embryos of two broiler lines differing in susceptibility to ascites. British Poultry Science, 37(5): 1003-1013.

Dreesen O. and A. H. Brivanlou. 2007. Signaling pathways in cancer and embryonic stem cells. Stem Cell Reviews, 3(1): 7-17.

Elbein S. C. 2002. Perspective: the search for genes for type 2 diabetes in the post-genome era. Endocrinology, 143(6): 2012-2018.

Gonçalves J., Friães A. and Moura L. 2007. Congenital adrenal hyperplasia: focus on the molecular basis of 21-hydroxylase deficiency. Expert Rewiews in Molecular Medicine, 9(11): 1-23.

Goralska M., Nagar S., Fleisher L. N. and McGahan M. C. 2005. Differential degradation of ferritin H-and L-chains: accumulation of L-chain-rich ferritin in lens epithelial cells. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 46(10): 3521-3529.

Haigney M. C., Zareba W., Gentlesk P. J., Goldstein R. E., Illovsky M., McNitt S., Andrews M. L., Moss A. J. and MADIT II Investigators. 2004. QT interval variability and spontaneous ventricular tachycardia or fibrillation in the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial (MADIT) II patients. Journal of the American College of Cardiology, 44(7): 1481-1487.

Haque I., Ghosh A., Acup S., Banerjee S., Dhar K., Ray A., Sarkar S., Kambhampati S. and Banerjee S. K . 2018. Leptin-induced ER-α-positive breast cancer cell viability and migration is mediated by suppressing CCN5-signaling via activating JAK/AKT/STAT-pathway. BMC Cancer,18(1): 99.

Hasanpur K., Nassiri M., Salekdeh G. H., Torshizi R. V., Pakdel A. and Kermanshahi H. 2015. Association between early growth-related traits and ascites induced in broiler sire lines by saline drinking water or cool temperatures. European Poultry Science, 79: 1-10.

Hasanpur K., Nassiri M. and Salekdeh G. H. 2019. The comparative analysis of phenotypic and whole transcriptome gene expression data of ascites susceptible versus ascites resistant chickens. Molecular Biology Reports, 46(1): 793-804.

Hassanpour H., Momtaz H., Shahgholian L., Bagheri R., Sarfaraz S. and Heydaripoor B. 2011. Gene expression of endothelin-1 and its receptors in the heart of broiler chickens with T3-induced pulmonary hypertension. Research in Veterinary Science, 91(3): 370-375.

Jabbari Ori R., Shoja J., Esmailizadeh A., Rafat S. A. and Hasanpur K. 2019. Changes in biochemical parameters of a broiler chicken line with cold-induced ascites. Journal of Livestock Science and Technologies, 7(2):47-55.

Kumar M. and P. Ratwan. 2018. Genetic variability and significance of STAT gene in dairy animals. Research & Reviews: Journal of Dairy Science and Technology, 5(3): 1-6.

Mahabeleshwar G. H., Feng W., Phillips D. R. and Byzova T. V. 2006. Integrin signaling is critical for pathological angiogenesis. The Journal of Experimental Medicine, (11): 2495-2507.

Masterson T., Klein K., Karouzakis E., Distler O., Ospelt C. and Bertoncelj M. F. 2018. OP0165 Joint-specific differences in the activation of the jak-stat pathway in rheumatoid arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases, 77: 133.

Maxwell M. H., Spence S., Robertson G. W. and Mitchell M. A. 1990. Haematological and morphological responses of broiler chicks to hypoxia. Avian Pathology, 19(1): 23-40.

Olander H. J., Burton R. R. and Adler H. E. 1967. The pathophysiology of chronic hypoxia in chickens. Avian Diseases, 11(4): 609-620.

Petit V. and Thiery J. P. 2000. Focal adhesions: structure and dynamics. Biology of the Cell, 92(7): 477-494.

Richardson D. 2000. The role of the membrane-bound tumour antigen, melanotransferrin (p97), in iron uptake by the human malignant melanoma cell. European Journal of Biochemistry, 267(5): 1290-1298.

Sanders E. and Diehl S. 2015. Analysis and interpretation of transcriptomic data obtained from extended Warburg effect genes in patients with clear cell renal cell carcinoma. Oncoscience, 2(2): 151.

Sekyere E. O., Dunn L. L., Rahmanto Y. S. and Richardson D. R. 2006. Role of melanotransferrin in iron metabolism: studies using targeted gene disruption in vivo. Blood, 107(7): 2599-2601.

Sheppard A. M. 1994. ligands in development. Cell Adhesion and Communication, 2(1): 27-43.

Shi S., Shen Y., Zhao Z., Hou Z., Yang Y., Zhou H., Zou J. and Guo Y. 2014. Integrative analysis of transcriptomic and metabolomic profiling of ascites syndrome in broiler chickens induced by low temperature. Molecular Biosystems, 10(11): 2984-2993.

Tan F. K., Tercero G. M., Arnett F. C., Wang N. and Chakraborty R. 2003. Examination of the possible role of biologically relevant genes around FBN1 in systemic sclerosis in the Choctaw population. Arthritis and Rheumatism, 48(11): 3295-3296.

Wang Y., Guo Y., Ning D., Peng Y., Yang Y. and Liu D. 2012. Analysis of liver transcriptome in broilers with ascites and regulation by L-carnitine. The Journal of Poultry Science, 50(2): 126-137.

Wideman R. F. 2000. Cardio-pulmonary hemodynamics and ascites in broiler chickens. Poultry and Avian Biology Reviews, 11(1): 21-44.

Wideman R. F. and Bottje W. G. 1993. Current understanding of the ascites syndrome and future research directions. Nutrition and Technical Symposium Proceedings .Novus International, Inc., St. Louis, MO. pp. 1-20.

Wideman R. F., Rhoads D. D., Erf G. F. and Anthony N. B. 2013. Pulmonary arterial hypertension (ascites syndrome) in broilers: (a review). Poultry Science, 92(1): 64-83.

Yang F., Cao H., Xiao Q., Guo X., Zhuang Y., Zhang C., Wang T., Lin H., Song Y., Hu G. and Liu P. 2016. Transcriptome analysis and gene identification in the pulmonary artery of broilers with ascites syndrome. PloS One, 11(6): e0156045.

Animal Production Research

Vol. 10, No. 3, 2021 (33-44)

University of Guilan

Research paper

Investigation of gender differences in the incidence of ascites and profile of gene expression in kidney tissue of broiler chickens

S. Malekshahdehi[1*], S. H. Hafezian[2], Gh. Rahimi-Mianji[3], K. Hasanpur[4]

1. Ph.D Student, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
3. Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received: 27-09-2020 – Accepted: 02-01-2021)

Abstract

Ascites syndrome is one of the most important causes of death in the poultry industry, in which various tissues of the body, including the kidneys, are involved. This syndrome occurs with different frequencies in males and females, and different mechanisms of ascites in the two sexes have not been studied to date. In this study, the gene expression profile of kidney tissue of male and female chickens with ascites syndrome from the paternal line (B) of the Arian commercial line was compared using RNA-Seq data. Due to severe cold stress applied, the mortality rate was high and about 59%, which was higher in males (63.4%) than females (54.1%). The results of transcriptome analysis showed that 240 genes were significantly different in comparison between ascites male and female birds. The annotation analysis of these genes showed that the metabolic pathways of antibiotic biosynthesis and amino acids, carbon metabolism, cell adhesion, receptor-extracellular matrix interaction (ECM) were involved in this process. The body's response to ascites-induced damage to kidney tissue is the development of renal fibrosis (to repair the damage) and reduced activity of the glycolysis pathways and increased gluconeogenesis to reduce energy and oxygen consumption in these pathways. Furthermore, an increase of the STAT-JAK2 signaling pathway activity (due to the high expression of JAK2 and STAT3 genes) was observed. This signal stimulates cell growth, angiogenesis, differentiation, migration, and apoptosis. It is expected that the results of the present study to provide new insights into understanding the molecular mechanism of ascites incidence and also differences in its occurrence in males compared to female broiler chickens.

Keywords: Ascites, Broiler chicken, Kidney, Geneontology, RNA-Seq

[*]Corresponding author: s.malekshahdehi@gmail.com

doi: 10.22124/AR.2021.17794.1563