DOI: 10.22092/vj.2020.341931.1692
شماره ۱۳۱ تابستان ۱۴۰۰
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

ارتباط بین پروتئین‌های شوک حرارتی و از دست رفتن آبستنی در گاوهای شیری هلشتاین

• **عیسی دیرنده (نویسنده مسئول)**
گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران، ایران

• **زربخت انصاری پیرسرائی**
گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸-۱۱-۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹-۰۱-۱۱
Email: e.dirandeh@sanru.ac.ir

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط بین بیان نسبی ژن‌های پروتئین‌های شوک حرارتی(HSPs) و مرگ ومیر رویانی و از دست رفتن آبستنی در گاوهای شیری هلشتاین طی فصل تابستان بود. برای انجام این پژوهش ۳۲ رأس گاو هلشتاین(با تولید بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز و نوبت زایش ۱/۷±۳/۳) انتخاب شدند. تمام گاوها با استفاده از پروتکل همزمانی فحلی G۷G تلقیح شدند. در روز ۱۶ پس از تلقیح از تمام گاوها خونگیری و بیان ژن ISG۱۵ اندازه‌گیری شد. بر مبنای نتایج ISG۱۵ گاوهایی که مرگ و میر رویانی در آن‌ها اتفاق افتاده شناسایی شدند(۱۴ راس). سپس با استفاده از دستگاه Real-Time PCR بیان نسبی ژن‌های مرتبط با پروتئین‌های شوک حرارتی(HSP۲۷، HSP۴۰، HSP۶۰، HSP۷۰ و HSP۹۰) بین گاوهای سالم و گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی مورد بررسی قرار گرفتند. از ژن بتا اکتین به عنوان ژن استاندارد در این پژوهش استفاده شد. مقایسه بین دو گروه با استفاده از آزمون t انجام شد. نتایج نشان داد بیان نسبی ژن ISG۱۵ در گاوهای آبستن به‌طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی بود(۶/۶ برابر). در بین پروتئین‌های شوک حرارتی بیان نسبی ژن‌های HSP۲۷ و HSP۶۰ تفاوتی بین گاوهای آبستن و گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی نداشت(P>۰/۰۵). بیان نسبی ژن‌های HSP۴۰، HSP۷۰ و HSP۹۰ در گاوهای آبستن به‌طور معنی‌داری کمتر از گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی بود(به ترتیب۴/۷، ۳/۶ و ۵/۲ برابر). به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد در بین اعضای خانواده HSP، تنها HSP۴۰، HSP۷۰ و HSP۹۰ با مرگ و اولیه رویانی در گاوهای شیری در ارتباط بودند.

کلمات کلیدی: بیان ژن، پروتئین شوک حرارتی، گاو شیری، مرگ و میر اولیه رویانی

● Veterinary Researches & Biological Products No 131 pp: 104-109

The relationship between heat shock proteins and pregnancy loss in Holstein dairy cows

By:Dirandeh, E., (Corresponding Author) Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran. and Ansari-pirsaraei, Z., Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran.

Received: 2020-02-10 **Accepted: 2020-03-30**

Email: e.dirandeh@sanru.ac.ir

The objective of this was to consider relationship between heat shock proteins (HSP) with early embryo loss and pregnancy loss in Holstein dairy cows during summer season. Thirsty-two Holstein cows (with milk production> 30 Kg/d and 3.3±1.7 in parity) were selected. All cows were synchronized by G7G heat synchronization protocol. Blood samples were collected from all cows at d 16 after timed artificial insemination (TAI) to measure ISG15 gene expression. According to ISG15 results, 16 cows showed early embryo loss, then HSP gene family (HSP27, HSP40, HSP60, HSP70 and HSP 90) were compared between healthy cows and those with early embryo loss using t-test. Beta-actin gene was used as a housekeeping gene to compare results. Results showed ISG15 gene expression were greater in pregnant cows compared to early embryo loss (6.6 fold). Among HSP family gene considered in present study, HSP27 and HSP60 gene expression were similar between groups (P<0.05). HSP40, HSP70 and HSP 90 genes expression were lower in pregnant cows compared to early embryo loss (4.7, 3.6 and 5.2 fold, respectively). In conclusion present study results showed among HSP family, there was an association among HSP40, HSP70 and HSP 90 genes expression and early embryo loss.

Keyword: Gene expression, heat shock protein, dairy cow, early embryo loss

مقدمه

اولین دوره مرگ و میر رویانی طی هفته اول پس از تلقیح اتفاق می‌افتد که بیشتر به دلیل شرایط محیطی و هورمونی می‌باشد. به‌طور معمول ۲۰ تا ۵۰ درصد گاوهای شیری پرتولید طی هفته اول پس از تلقیح این امر را تجربه می‌کنند. استفاده از راهکارهایی که سبب بهبود کیفیت رویان شود مانند بهبود تهویه در شرایط تنش گرمایی، کاهش درصد وقوع التهاب، کاهش از دست رفتن نمره وضعیت بدنی و افزایش غلظت پروژسترون طی دوره رشد فولیکولی می‌تواند در کاهش درصد وقوع این مشکل کمک کند (۲۲). دومین دوره حیاتی در روزهای ۷ تا ۲۸ پس از تلقیح است که همراه با طویل شدن رویان و تشخیص آبستنی توسط مادر می‌باشد. میانگین مرگ و میر رویانی طی این دوره ۳۰ درصد بوده ولی در بین گله‌ها در دامنه ۲۵ تا ۴۱ درصد گزارش شده است. حفظ جسم زرد به پیامی که از طرف رویان تولید می‌شود(تولید اینترفرون تاو) و تغییر در الگوی تراوشی پروستاگلندین E۱ ،F۲αو E۲ در رحم وابسته است. اختلال یا تاخیر در طویل شدن تروفوبلاست و یا رشد و تکامل رویانی منجر به از دست رفتن رویان در این دوره می‌شود (۲۲). اندازه‌گیری کنش اینترفرون طی اوایل آبستنی به دلیل اینکه مقدار کمی از اینترفرون رویانی از رحم خارج می‌شود از طریق اندازه‌گیری ژن‌های تحریکی توسط اینترفرون (ISG) در سلول‌های تک هسته‌ای خون امکان‌پذیر است. بعضی از پژوهش‌ها از اندازه‌گیری ISG برای تشخیص آبستنی استفاده کرده‌اند (۲۲). ژن ISG۱۵ پروتئینی تراوشی با وزن ۱۷ کیلودالتون است که در پاسخ به نوع یک اینترفرون تراوش می‌شود (۲۲).

الگوی تراوشی نامطلوب پروژسترون طی اوایل گامه لوتیال می‌تواند سبب تغییر بیان ژن در سلول‌های اندومتریومی رحم، رشد نامطلوب رویان و کاهش موفقیت آبستنی شود (۴). برای مثال افزایش غلظت پروژسترون قبل از روز هفت تلقیح اندازه رویان در روز ۱۴ را تغییر داد (۷). مرگ و میر رویانی در این گامه از طریق کاهش غلظت پروژسترون طی پس‌روی جسم زرد قابل اندازه‌گیری است (۲۱). در گاو شیری بیشتر نتایج بر این نکته توافق دارند که اینترفرون تاو سیگنالی است که سبب تغییر در سلول‌های اندومتریال و در نهایت جسم زرد شده و سبب افزایش غلظت پروژسترون می‌شود و از این طریق در حفظ آبستنی نقش دارد. همچنین بیشتر پژوهش‌ها بر این نکته تاکید دارند دوره حیاتی برای تشخیص آبستنی توسط مادر روز ۱۶ پس از تلقیح می‌باشد (۲۲). برای مثال انتقال رویان در روز ۱۶ چرخه فحلی سبب حفظ آبستنی شد ولی انتقال رویان به گاوهای گیرنده که در روز ۱۷ و یا روزهای بعد بودند سبب اتمام آبستنی شد (۴). همچنین حذف رویان از رحم از طریق شستشوی رحمی قبل از روز ۱۶ چرخه فحلی سبب ادامه چرخه فحلی به صورت طبیعی می‌شود در حالی‌که خروج رویان از طریق شستشو بعد از روز ۱۶ سبب

طولانی شدن گامه لوتیال می‌شود. بنابراین هر چند پس‌روی جسم زرد تا روز ۱۸ یا ۱۹ در گاو آغاز نمی‌شود ولی سیگنال باید قبل از روز ۱۶ از طریق رویان به مادر فرستاده شود تا بتواند سبب تداوم آبستنی شود (۱۵).

پروتئین‌های شوک حرارتی(HSP) در همه ارگانیسم‌ها از باکتری تا انسان یافت می‌شوند (۲). این حقیقت که HSP برای تاشده، ثبات پروتئین‌های تازه ساخته شده ضروری هستند نشان می‌دهد این پروتئین‌ها نقش کلیدی در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، نمایز سلول و تنظیم چرخه سلولی رویان دارند (۱۰). شواهد محکم که نشان‌دهنده بیان HSP طی اسپرماتوژنسیز، اووژنسیز و جنین‌زایی است پیشنهاد می‌کند این پروتئین‌ها کنش‌های مهمی در باروری و طی دوره پیش از جایگزینی دارند (۱۴). افزودن آنتی بادی برای تحریک بیان HSP۷۰ نرخ بلاسیتوسیست رویان‌های گاو را کاهش داده که نشان‌دهنده نقش مهم HSP۷۰ (HSPA1A) در تکامل رویان است (۱). باروری بر مبنای تعداد اسپرماتوزوآ متصل شده به زوناپلوسیدا و تکامل رویان در گاو تحت تاثیر آنتی بادی‌های ضد HSP۷۰ قرار گرفت (۱۱). با توجه به موارد گفته شده هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط بین بیان ژن‌های پروتئین‌های شوک حرارتی و مرگ ومیر رویانی و از دست رفتن آبستنی در گاوهای شیری هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فاصله ماه‌های تیر تا مهر ۹۷ در شرکت شیر و گوشت مهدشت واقع در استان مازندران، شهرستان ساری انجام شد. شاخص درجه حرارت-رطوبت (THI) در زمان انجام آزمایش در محدوده ۷۲-۷۹ بود. برای انجام این پژوهش ۳۲ رأس گاو هلشتاین(با تولید بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز، نوبت زایش ۱/۷±۳/۳) انتخاب شدند. گاوها در جایگاه مسقف و به صورت فری استال نگهداری شدند. گاوها روزانه سه بار به فاصله هشت ساعت دوشیده شده و مقدار شیر تولیدی هر گاو به صورت خودکار ثبت شد. لیست معاینات گاوهای آزمایشی، لیست تزریقات و زمان انجام تست‌ها و تشخیص آبستنی به صورت روزانه توسط نرم‌افزار مدیران استخراج شد. همچنین از این نرم‌افزار جهت پیگری و ثبت تیمارها، شاخص‌های تولیدمثلی، میزان تولید شیر و وضعیت سلامتی حیوانات استفاده شد. حیوانات دوبار در روز با جیره کاملاً مخلوط دارای یونجه خرد شده، سیلوی ذرت، سویا برشته، کنجاله سویا و مخلوط مواد معدنی و ویتامینی تغذیه شدند. جیره‌ها دارای غلظت‌های مساوی از ماده خشک، انرژی قابل متابولیسم، پروتئین خام، چربی و NDF بوده و بر اساس جدول NRC برای گاوهای شیری با میانگین وزنی ۶۵۰ کیلوگرم و میانگین تولید شیر ۲۵ تا ۳۵ کیلوگرم تنظیم شد.

خون‌گیری و بیان ژن

برای بررسی بیان ژن تحریک شده بوسیله اینترفرون ۱۵ ISG۱۵ خونگیری از تمام گاوها در روز ۱۶ پس از تلقیح انجام شد. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری در تانک ازت قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل و سپس تا زمان استخراج RNA کل در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

استخراج RNA کل با استفاده از کیت شرکت Jena Bioscience (آلمان) و برمبنای دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. به منظور رفع آلودگی ناشی از وجود DNA، ابتدا یک واحد DNase به RNA اضافه و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای پنج دقیقه انکوبه شد سپس به مدت سه دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. RNA سپس در حضور الیگو dT(mmol/L) ۱، آمینوسکریپتاز (۴ واحد، کیاژن)، dNTP (mmol/L) ۰/۲۵، مهارکننده RNase (۱۹/۳۳ واحد) در حجم ۲۰ µl در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت و سپس برای ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای تهیه cDNA از کیت Quantifast Revears-Transcriptase شرکت کیاژن استفاده شد. بر اساس پروتکل مربوطه، پس از افزودن محلول gDNA به محلول RNA استخراج شده، نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. لازم به ذکر است که حجم کل در این مرحله ۱۴ µL بود. مستر میکس RT که شامل ۱ µL آنزیم نسخه بردار معکوس، پیش مخلوطی با ۴ µL بافر QRT و ۱ µL آغازگر RT بود، تهیه شد. به ۶ µL از مستر میکس حاصل، ۱۴ µL از محلول RNA اضافه شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از ترموسایکلر (peQLab primus۲۵) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و پس از آن به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. cDNA حاصل پس از اتمام کارها و حل نمودن آن در آب بدون یون و استریل، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام مراحل بعدی آزمایش نگهداری شد. آغازگرهای مورد استفاده برای اطمینان از تکثیر با استفاده از یک cDNA و Real-time PCR (Applied Biosystems, ABI Prism ۷۳۰۰) آزمایش شدند. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و کیت QuantiFast SYBR Green PCR شرکت (کیاژن) واکنش‌های Real Time PCR انجام شدند. پس از تایید توالی و صحت طول قطعه تولیدی با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژن NCBI، آغازگرهای مورد نظر ساخته شدند (جدول ۱). برای استفاده بهینه از کیت، واکنش‌ها برای حجم ۲۵ µl تنظیم شدند(مسترمیکس سایبرگرین ۱۲/۵ µl ؛ جفت آغازگر اختصاصی ۱+۱ µl؛ cDNA، ۱ µl، آب دوبار تقطیر شده ۹/۵ µl).

سطوح mRNA ژن‌ها بر اساس بازدهی PCR و انحراف CT یک نمونه ناشناخته نسبت به کنترل با روش ΔΔCT-۲ برآورد شد. mRNA بتااکتین به‌عنوان ژن مرجع مورد استفاده قرار گرفت (راهنمای شرکت ABI، لیواک، ۲۰۰۳). کلیه نمونه‌ها با دو تکرار استفاده شدند. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون t تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج و بحث

بیان نسبی ژن ISG۱۵ در گاوهای آبستن به‌طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی بود(۶/۶ برابر، شکل ۱). این نتایج پیشنهاد می‌کند بیان ژن کمتر به احتمال به دلیل نبود رویان زنده یا عدم توانایی رویان در تراوش اینتروفرون تاو بود. گزارش شده تغییرات ISG۱۵ در جریان خون در پاسخ به مولکول‌های تراوش شده طی آبستنی با باروری ارتباط دارد (۱۹). ناهنجاری‌های مرتبط با سلامت دام پس از زایش سبب کاهش بیان ژن ISG۱۵ و افزایش درصد مرگ و میر اولیه رویانی شد (۱۲).

در بین پروتئین‌های شوک حرارتی بیان نسبی ژن‌های HSP۲۷ و HSP۶۰ تفاوتی بین گاوهای آبستن و گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی نداشت (P>۰/۰۵، شکل ۱) ولی بیان نسبی ژن‌های HSP۴۰، HSP۷۰ و

HSP۹۰ در گاوهای آبستن به‌طور معنی‌داری کمتر از گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی بود (به ترتیب۴/۷، ۳/۶ و ۵/۲ برابر، نگاره ۱). دمای محیطی بالا تاثیر منفی بر تولیدمثل دارد و شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد محل تاثیر آن اووسیت و رویان است (۱۲). گرما می‌تواند سبب آسیب سلولی در سیتوپلاسم و هسته اووسیت شود (۱۷). تفاوت در بیان ژن یا سازوکارهایی که تنش سلولی را کنترل می‌کند به توانمندی اووسیت و رویان برای کنترل گرما کمک می‌کند. سلول‌های پستانداران، شامل اووسیت سازوکارهایی دارند که از آن‌ها در برابر تنش‌ها حفاظت می‌کند. پروتئین‌های شوک حرارتی که در مواجهه با تنش و برای کاهش آثار آن تولید می‌شود، یکی از سازوکارها است (۱۲، ۱۷).

پژوهش‌های زیادی نشان داده‌اند بین تنش‌های سلولی (شوک حرارتی) و مرگ و میر رویان ارتباط است (۱۰، ۱۴، ، ۱۶). شواهد زیادی وجود دارد که نشان‌دهنده نقش پروتئین‌های شوک حرارتی در توسعه و تکامل اولیه رویانی است، بسیاری از این پژوهش‌ها در موش انجام شده و تنها پژوهش‌های اندکی در گاو انجام شده است. این پژوهش‌ها نشان می‌دهد پروتئین‌های شوک حرارتی جزء اولین پروتئین‌هایی هستند که طی توسعه و تکامل رویانی تولید می‌شوند (۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۸). HSP۲۷ یکی از اعضای خانواده HSPهای کوچک بوده و پروتئینی فراگیر است که در زمان تنش بیان شده و کنش‌های مهمی مانند فعالیت چاپرونی مستقل از ATP در پاسخ به تنش‌های محیطی و کنترل مرگ برنامه‌ریزی شده سلول دارد(۵). نقش HSP۴۰ در گاو هنوز به خوبی مشخص نشده است ولی پژوهش‌های انجام شده در گونه‌های دیگر نشان می‌دهد این ژن نقش مهم در حفاظت از سلول‌ها در شرایط تنش دارد (۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۸). به خوبی مشخص شده است که هیدرولیز ATP برای فعالیت فولدینگ پروتئینی HSP۷۰ ضروری است و HSP۴۰ سبب تحریک فعالیت ATPase و تثبیت تعامل HSP۷۰ با سوبستراهای خود می‌شود (۱۳، ۱۶، ۱۸). HSP۴۰ در ترکیب با HSP۷۰ به عنوان چاپرون عمل کرده و سبب حفاظت از سلول در برابر مرگ برنامه ریزی شده سلول می‌شود (۱۶، ۱۸).

در گاوهای هلشتاین تفاوت در بیان ژن HSP۴۰ با بهبود در تکامل رویانی در شرایط برون تنی در ارتباط بود که نشان‌دهنده نقش مهم‌تر این ژن در بازده تولیدمثلی حتی در حیواناتی که با تنش مواجه نیستند یا در محیط‌های گرم قرار ندارند می‌باشد (۲۳). پژوهش‌ها نشان داده‌اند

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده در Real-Time PCR.

نام ژن Gene name	شماره‌ی ثبت در بانک ژن Accession no.	توالی آغازگر (۳'-۵') Sequence (۳-۵)	جهت	اندازه‌ی باند (bp) Amplicon size
ISG۱۵	۱۷۴۳۶۶_NM	GGTATCCGAGCTGAAGCAGTT	رفت	۹۵
		ACCTCCCTGCTGTCAAGGT	برگشت	
B-Actin	AY۱۴۱۹۷۰	CTGGACTTCGAGCAGGAGAT	رفت	۱۱۰
		GGATGTCGACGTCACACTTC	برگشت	
HSP ۲۷	AB۶۰۵۲۶۲,۱	TACATTTCCCGTTGCTTCAC	رفت	۷۸
		GGACAGAGAGGAGGAGAC	برگشت	
HSP ۴۰	۰۰۱۰۳۳۷۶۳,۱_NM	AACACAACGGGTATGGT	رفت	۸۴
		□□□□□□□□□□□□□□□□□	برگشت	
HSP ۶۰	۰۰۱۱۶۶۶۱۰,۱_NM	CGACAACTTCTGCTGTTGTTA	رفت	۱۰۹
		ATGATGCTATGCTTGGAGAT	برگشت	
HSP ۷۰	JN۶۰۴۴۳۲,۱	AACATGAAGAGCGCCGTGGAGG	رفت	۱۷۱
		GTTACACACCTGCTCCAGCTCC	برگشت	
HSP ۹۰	AB۰۷۲۳۶۸,۱	CTGTCATCAGCAGTGGG	رفت	۷۴
		ACATGCCAACAGGATCTAC	برگشت	

HSPها برابر جلوگیری از مرگ برنامه‌ریزی شده سلول که توسط عوامل مختلف تحریک می‌شود افزایش می‌یابد تا در تعامل با فاکتورهای کلیدی در مسیر سیگنالینگ مرگ برنامه‌ریزی شده سلول قرار گرفته و آن را مهار کند (۱۰). به همین دلیل بیان افزایشی HSP۴۰ در رویان‌های دژنره شده مشاهده شد (۲۳). تنش حرارتی مشابه با تنش اکسیداتیو عمل می‌کند دلیل آن بیان ژن‌های مشابهی است که بعد از مواجهه با گرما بیان می‌شود مانند HSPA۱۴ که نشان می‌دهد تنش گرمایی سبب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه آنیون سوپراکسید می‌شود. تنش گرمایی همچنین ساخت پروتئین را مختل و سبب افزایش بیان HSP می‌شود. بنابراین تنش گرمایی سبب افزایش سطوح HSP۷۰ و HSP۹۰ شده که به احتمال به دلیل سازوکار دفاعی سلول است (۳). در بین اعضای خانواده HSP فراوان‌ترین و درعین حال حساس‌ترین عضو به تنش HSP۷۰ است که همراه با HSP۹۰ در سلول‌های پستاندارن نقش مهارکنندگی در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را بر عهده دارد (۸). HSP۷۰ آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری را مهار کرده و سبب غیرفعال شدن procaspase-۳ می‌شود (۱۳). شوک حرارتی سبب افزایش بیان HSPB۱۱، HSP۹۰A۱، HSPA۱A و HSPB۱ شد. پلی مورفیسم در HSP۷۰ با درصد گوساله‌زایی در گاوهای براهمن در ارتباط بود (۲۰). در گاومیش‌های که در مواجهه با تنش گرمایی قرار گرفتند دو ساعت پس از تنش فراوانی بیان ژن HSPها به ترتیب زیر بود HSP۹۰<HSP۴۰<HSP۶۰<HSP۷۰. فزون بر HSP۷۰، سایر ژن‌های HSP که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند (HSP۴۰، HSP۶۰ و HSP۹۰) در مقاومت به گرما کمک می‌کنند (۶). بایستی در نظر داشت که HSP۴۰ و HSP۹۰ به‌طور کلی به عنوان کوچاپرون یا کوفاکتور برای HSP۷۰ عمل کرده و این کمپلکس در بازسازی پروتئین پس از شوک گرمایی درگیر است (۱۸). به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد در بین اعضای خانواده HSP، تنها HSP۴۰، HSP۷۰ و HSP۹۰ با مرگ و اولیه رویانی در ارتباط بودند.

تشکر و قدردانی

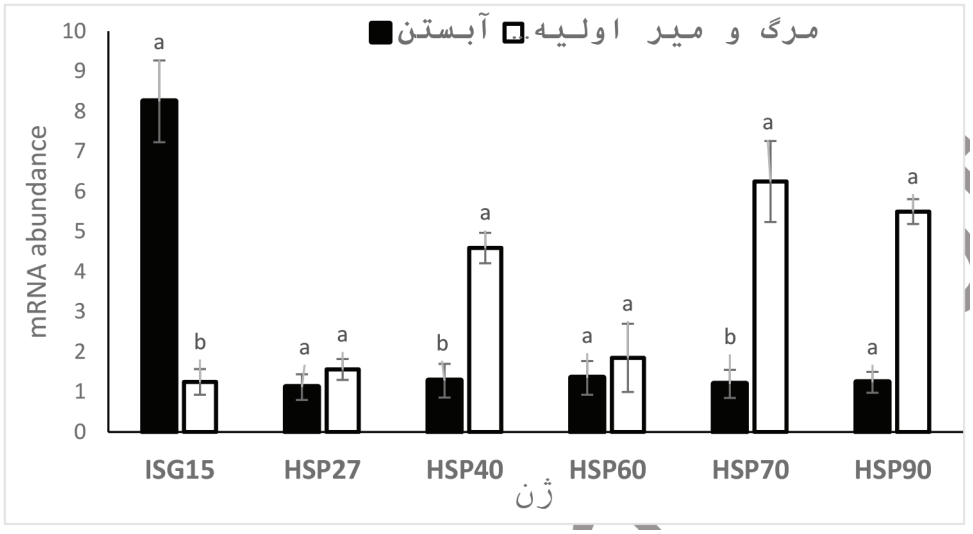
این طرح با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و بر اساس طرح پژوهشی شماره ۰۳-۱۳۹۸-۰۳ در شرکت شیر و گوشت مهدشت ساری انجام شد. نویسندگان از همکاری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و شرکت مهدشت برای انجام این پژوهش کمال تشکر را دارند.

منابع مورد استفاده

1.Al-Katanani, Y.M., and P.J. Hansen. 2002. Induced thermotolerance in bovine two-cell embryos and the role of heat shock protein 70 in embryonic development. *Molecular Reproduction and Development.* 62:174–180.

2.Becker, J., and E.A. Craig. 1994. Heat-shock proteins as molecular chaperones. *European Journal of Biochemistry*. 219:11–23.

3.Belhadj, I., T. Najar, A. Ghram, and M. Abdrrabba. 2015. Heat stress effects on livestock: molecular, cellular and metabolic aspects, a review. *Journal of Animal Physiolohy and Animal Nutrition.*100(3):401–412.



شکل ۱- بیان نسبی ژن‌های پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) و ISG۱۵ در گاوهای آبستن و گاوهای دارای مرگ و میر اولیه رویانی.

4.Bridges, G., M. Day, T. Geary, and L. Cruppe. 2013. Triennial Reproduction Symposium: deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. *Journal of Animal Science.* 91:3002-3013.

5.Bryantsev, A.L., S. Kurchashova, S.A. Golyshev, V. Polyakov, H.F. Wunderink, B. Kanon et al. 2007. Regulation of stress-induced intracellular sorting and chaperone function of Hsp27 (HspB1) in mammalian cells. *Biochemical Journal.* 407:407–417.

6.Duncan, R. 2005. Inhibition of Hsp90 function delays and impairs recovery from heat shock. *FEBS Journal*. 272:5244–5256.

7.Forde, N., M.E. Beltman, G.B. Duffy, P. Duffy, J.P. Mehta, P. O'Gaora, et al. 2011. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biology of Reproduction.* 84:266–278.

8.Garrido, C., S. Gurbuxani, L. Ravagnan L, and G. Kroemer. 2001. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 286(3):433–442.

9.Hansen, P. J., and M. Sakatani. 2012. Consequences of heat shock on the development of pre-implantation bovine embryos: Role of free radicals, antioxidants, apoptosis, and heat shock proteins. *J. Anim. Sci*. 90(Suppl. 3):424. (Abstr.)

10.Lanneau, D., A. de Thonel, S. Maurel, C. Didelot, and C. Garrido. 2007. Apoptosis versus cell differentiation: Role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and HSP27. Prion 1:53–60.

11.Matwee, C., M. Kamaruddin, D.H. Betts, P.K. Basrur, and W. A. King. 2001. The effects of antibodies to heat shock protein 70 in fertilization and embryo development. *Molecular Human Reproduction.* 7:829–837.

12.Mohtashamipour, F., E. Dirandeh, Z. Ansari-Pirsaraei, and M.G. Colazo. 2020. Postpartum health disorders in lactating dairy cows and its associations with reproductive responses and pregnancy status after first timed-AI. *Theriogenology*. 141:98-104

13.Mosser, D.D., A.W. Caron, L. Bourget, C. Denis-Larose, and B. Massie. 1997. Role of human heat shock protein hsp70 in protection against heat-induced apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*. 17:5317–5327.

14.Neuer, A., S.D. Spandorfer, P. Giraldo, J. Jeremias, S. Dieterle, et al. 1999. Heat shock protein expression during gametogenesis and embryogenesis. *Infection Diseases in Obstetrics and Gynecology.* 7:10–16.

15.Northey, D.L., and L.R. French. 1980. Effect of embryo removal and intrauterine infusion of embryonic homogenates on the lifespan of the bovine corpus luteum. *Journal of Animal Science*. 50:298–302.

16.Paula-Lopes, F.F., and P.J. Hansen. 2002. Heat Shock-Induced Apoptosis in Preimplantation Bovine Embryos Is a Developmentally Regulated Phenomenon. *Biology of reproduction.* 66:1169–1177.

17.Paula-Lopes, F. F., R. S. Lima, R. A. Satrapa, and C. M. Barros. 2013. Influence of cattle genotype (Bos indicus vs. Bos taurus) on oocyte and preimplantation embryo resistance to increased temperature. *Journal of Animal Science*. 91:1143–1153

18.Pratt, W.B., and D.O. Toft. 2003. Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70 based chaperone machinery. *Experimental Biology and Medicine.* 228:111–133.

19.Ribeiro, E.S., G. Gomes., L.F. Greco, R.L.A. Cerri, A. Vieira-Neto, Monteiro Jr PLJ, et al. 2016. Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 99:2201–2220.

20.Rosenkrans, C., Jr., A. Banks, S. Reiter, and M. Looper. 2010. Calving traits of crossbred Brahman cows are associated with Heat Shock Protein 70 genetic polymorphisms. *Animal Reproduction Science*. 119:178–182.

21.Scully, S., T. Butler, A.K. Kelly, A.C.O. Evans, P. Lonergan, and M.A. Crowe. 2014. Crowe. Early pregnancy diagnosis on days 18 to 21 postinsemination using high-resolution imaging in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 97:3542–3557

22.Wiltbank, M.C., G.M. Baez, A. Garcia-Guerra, M.Z. Toledo, P.L. Monteiro, L.F. Melo, et al. 2016. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 86:239–253.

23.Zhang, B., F. Peoagaricano, A. Driver, H. Chen, and H. Khatib. 2011. Differential expression of heat shock protein genes and their splice variants in bovine preimplantation embryos. *Journal of Dairy Science*. 94:4174–4182.