قياس مستوى بروتين الصدمة الحرارية Heat Shock (HSP70) Protein70 وعلاقته بالبلوغ في إناث الجرذان المعرضة للإجهاد الحراري

هيام نذير متي أشواق احمد حسن
كلية الطب البيطري / جامعة الموصل
email: hemyatem@yahoo.com
(الاستلام 18 نيسان 2016 ، القبول 21 حزيران 2016)

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى قياس مستوى بروتين الصدمة الحرارية 70 (Heat Shock Protein 70) (HSP70) وعلاقته بالبلوغ الجنسي في إناث الجرذان المعرضة للإجهاد الحراري بنوعيه الحاد والمزمن ، حيث تم إستخدام إناث الجرذان (عدد45) المولودة حديثا وتربيتها حتى عمر الفطام ، وتم تقسيمها عشوائيا الى ثلاثة مجاميع (15 أنثى لكل مجموعة) وكالاتي: المجموعة الاولى كانت تمثل مجموعة السيطرة (غير المعرضة للأجهاد) ، المجموعة الثانية والتي عرضت للاجهاد الحراري المزمن بدرجة 38 م لمدة ساعة واحدة يوميا (من عمر الفطام وحتى البلوغ) ، اما الثالثة فعرضت للاجهاد الحراري الحاد بدرجة 38م ولمدة 4 ساعات يوميا ولخمسة أيام متتالية إبتداءا من عمر 35 يوم من عمر الجرذان ، حيث كانت كل من المجاميع أعلاه مقسمة ثانويا الى 3 فئات عمرية وهي الفئة العمرية الاولى (ماقبل البلوغ) ، والثانية (عند البلوغ) والثالثة(بعد البلوغ) وبواقع 5 حيوانات لكل فئة ، وتم جمع الدم من هذه الحيوانات بعمر 30 يوم (ماقبل البلوغ) ، وعند البلوغ (تباين وقت جمع الدم حسب تأثير العامل المجهد على وقت البلوغ) وفي اليوم 70 (مابعد البلوغ) للحصول على المصل وذلك للتحري عن بروتين الصدمة الحرارية 70 وهرمون الاستراديول بإستخدام تقنية Sandwich ELISA . أظهرت نتائج فحص (HSP70) عدم وجود أي إختلافات معنوية بين المجموعات الثلاثة وللفئات العمرية الثلاثة ، في حين لوحظ حدوث إرتفاع معنوي في مستوى الاستراديول في المجموعة الثالثة مقارنة بالمجموعتين الأخريين (ضمن الفئة العمرية الثانية) ، كما وكان هناك إرتفاع معنوي للهرمون في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الأولى والثالثة ضمن الفئة العمرية الثالثة ، أما أول إنفتاح للمهبل فقد ظهر في المجموعة الثانية ومن بعدها المجموعة الثالثة ثم المجموعة الأولى ، كما ان الارتباط بين ال(HSP70) والاستراديول كان متذبذب ومتباين ، ونستنتج من ذلك عدم تأثر ال (HSP70) بالاجهاد الحراري المحدث في الإناث.

الكلمات المفتاحية: بروتين الصدمة الحرارية 70 ، هرمون الاستراديول ، الاجهاد الحراري ، البلوغ ، إناث الجرذان.

Detection the level of Heat Shock Protein70 (HSP70) and its relationship with puberty in female rats exposed to heat stress

Hiyam N. Matty Ashwaq A. Hassan
Coll. of Vet. Med. / Univ. of Mosul

Abstract

The study aimed to estimate the level of heat shock protein 70 (HSP70) and their relationship to puberty in female rats exposed to acute and chronic heat stress. Forty five (45) pups female rats divided randomly at weaning to 3 groups (15 females in each group). Group (1) (non-treated control group), group (2) (exposed to chronic heat stress) (38C°for 1 hour) daily from weaning to puberty, group (3) (exposed to acute heat stress (38C° for 4 hours at 35 days age for 5 successive days). Each of these groups are subdivided to 3 stages (pre, at, post puberty) (5 females for each stage). Serum samples from each stage (30days pre-puberty, and the age was differs at pubertal stage according to effect stress factor on time of puberty, 70 days post puberty) were used for detection of (HSP70) and estradiol (E2) by sandwich ELISA. Results showed no significant differences in (HSP70) level between the stages of all groups, while the estradiol significantly increase in group (3) in comparison with other two groups (2nd stage) and the estradiol showed significant increase in group (2), in group (1) and (3) (3rd stage). The first vaginal opening appeared in group (2) then group (3) and finally in

group (1). The correlation between (HSP70) and estradiol was variant and swaying. Thus (HSP70) not affected by induced heat stress in female rats.

Key words: Heat Shock Protein 70, estradiol, heat stress, puberty, female rats.

المقدمة

لقد تم اكتشاف ما يدعى ببروتين الإجهاد Stress Protein أو ما يسمى ببروتين الصدمة الحرارية Heat Shock Protein (HSP) عام 1962 وهو أحد البروتينات التي تتأثر بالإجهاد ، حيث يوجد هذا البروتين داخل الخلية ويحافظ عليها وعلى بروتيناتها من التحطم أثناء تعرضها لأصناف الأوكسجين الفعالة (1). يتميز البلوغ في الجرذان بفترة قصيرة جدا تتراوح بين 33-65 يوم من عمر الجرذ وتختلف هذه المدة من جنس الى آخر فضلا عن الاختلافات الفردية ضمن الجنس الواحد ، وقد ذكر (2) بأن البلوغ في إناث الجرذان يبدأ من فترة ما بعد الفطام وذلك من خلال المشاهدة العيانية لظهور فتحة المهبل Vaginal opening وذلك بعد تمزق الاغشية المحيطة بها، ويعرف الإجهاد بأنه التفاعل الذي يحدث داخل الكائن الحي كاستجابة للحوادث المحدثة له Stressogenic Stimuliالمولدة للإجهاد والتي تؤدي بدورها الى الإضطراب في الإتزان البدني ، إن أحد اهم الأسباب المحدثة للإجهاد الموجودة في الطبيعة وأكثرها خطورة هو التعرض لبيئة حرارية عالية ، فالتعرض للحرارة يؤدي الى تغيرات فسلجية ونفسية في كل من الحيوان والإنسان (3)، ويعمل هرمون الإستراديول على إطلاق شرارة البلوغ في الإناث عن طريق تاثيره على سلسلة التغيرات في الصفات الجنسية الثانوية ، أو قد يعمل على تحفيز الببتيدات العصبية المحفزة للشهية وبالتالي الوصول الى البلوغ (4) ، وقد هدفت هذه الدراسة لقياس مستوى أحد بروتينات الإجهاد الحراري والمسمى ببروتين الصدمة الحرارية 70 (Heat Shock Protein 70) (HSP70) وعلاقته مع هرمون الإستراديول Estradiol (E2) ودورهما بالبلوغ الجنسي في إناث الجرذان المجهدة حراريا.

المواد وطرائق العمل

1- العلف :- تمت تغذية حيوانات التجربة على علف جاهز ومتوفر في بيت الحيوانات / كلية الطب / جامعة هولير الطبية ، حيث عُدلت الخلطة العلفية بإضافة الطحين والملح وذلك لضمان تجانس المادة العلفية وتسهيل تشكيل القطع الغذائية بهيئة مكعبات بطول 2-3 سم لسهولة تناولها ، وأُعطي العلف بصورة يومية ومستمرة طيلة فترة التجربة.

2- حيوانات التجربة :- تم إستخدام 20 انثى و9 ذكور من الجرذان البيضاء البالغة White Albino Rats والتي تراوحت أوزانها مابين 175-225 غم وذلك بإخضاعها لعملية التكاثر وإستخدام المواليد الصغار الناتجة منها في هذه الدراسة ، حيث تضمنت الدراسة إستخدام 45 أنثى وذلك بعد أن تم تربيتها وإستخدام هذه الحيوانات الصغيرة والمولودة حديثاً في تجارب البحث لكونها نقية وغير معاملة ، وتمت تربية صغار الجرذان الخاصة بالتجارب الى عمر الفطام (بعمر 21 يوم) (5) . حيث وضعت الحيوانات في أقفاص ذات أبعاد (20x25x20) سم وظروف مختبرية خاصة تمثلت بدورة ضوئية طبيعية 14 ساعة إضاءة و10 ساعات ظلام ، وكانت درجة حرارة الغرفة (22±2) م° مع رطوبة نسبية تراوحت بين (20%-30) ، في حين أُعطي لهذه الجرذان الماء والعليقة بصورة حرة (*ad libitum*) ، وتم إجراء التجربة خلال الفترة الواقعة بين شباط 2014-تموز2014 ، كما وجرت عملية تربية وتكاثر هذه الحيوانات وكذلك التجارب البحثية في بيت الحيوانات التابع لكلية الطب / جامعة هولير الطبية (أربيل).

3- تصميم التجربة:- تم تقسيم حيوانات التجربة (إناث الجرذان) بشكل عشوائي عند عمر الفطام (21 يوم) الى ثلاثة مجاميع (15 أنثى في كل مجموعة) وكالاتي:

ا- المجموعة الأولى : تم إعتبارها مجموعة السيطرة والتي لم يتم تعريضها للإجهاد الحراري ، حيث وضعت الحيوانات بدرجة حرارة الغرفة والتي كانت (22±2) .

ب- المجموعة الثانية : تم تعريض حيوانات هذه المجموعة للإجهاد الحراري المزمن بدرجة 38 م° لمدة ساعة واحدة يوميا (9-10 صباحا) ابتداءاً من عمر الفطام حتى عمر البلوغ (6) .

ج- المجموعة الثالثة : عرضت حيوانات هذه المجموعة للإجهاد الحراري الحاد بدرجة 38 م° أيضا ولمدة 4 ساعات متتالية يوميا (9 صباحا-1ظهرا) ابتداءاً من عمر 35 يوم ولمدة خمسة أيام متتالية (7) ، علماً بانه تم تعريض الحيوانات للإجهاد الحراري بإستخدام حاضنة خاصة تم تصنيعها محلياً لهذا الغرض. وتم تقسيم هذه الإناث في المجاميع الثلاثة أعلاه الى ثلاثة فئات عمرية لكل مجموعة وبواقع 5 إناث لكل فئة عمرية (ضمن المجموعة الواحدة) وكالاتي :

1- الفئة العمرية الأولى (مرحلة ماقبل البلوغ) pre-puberty stage :- والتي منها جمع الدم بهدف الحصول على المصل عند اليوم 30 من عمرها (8).

2- الفئة العمرية الثانية (مرحلة البلوغ) at puberty :- والمتمثلة بإنفتاح المهبل Vaginal opening (VO) من خلال الإنفصال الكامل للأغلفة الغشائية membranous sheath التي تغطي هذه الفتحة ، حيث يختلف وقت إنفتاح المهبل بإختلاف جنس الجرذ (7).

3- الفئة العمرية الثالثة (مرحلة مابعد البلوغ) post puberty stage :- وجمع الدم من هذه الإناث بهدف الحصول على المصل عند اليوم 70 من عمرها (7) ، ووزع المصل الى أنابيب إبندروف وحفظ بدرجة -20 م° لحين إستخدامه في إختبار الاليزا للتحري عن مستوى الهرمونات قيد الدراسة .

4- طريقة عمل تقنية الإليزا (Sandwich ELISA) :- تم إستخدام هذه التقنية لقياس تركيز ال(HSP70) وهرمون Estradiol في أمصال إناث الجرذان وذلك حسب تعليمات الشركة المنتجة للعدة التشخيصية والمرفقة معها (Shanghai Crystal Day BioTech CO., LTD-China) ، حيث كانت طريقة العمل مشابهة لكلا الهرمونين قيد الدراسة وكما يأتي :

1- تخفيف المحلول القياسي: حيث إحتوت العدة التشخيصية على المحلول القياسي الأصلي والذي تم تخفيفه بإستخدام أنابيب إبندروف حجم 2 مل كما في الجداول أدناه كل حسب الهرمون الخاص به جدول (1). أما تركيز المحلول القياسي الأصلي والمرفق مع العدة التشخيصية لكل هرمون يساوي ضعف تركيز ذلك الهرمون في المحلول القياسي رقم 5 (جدول 2).

الجدول (1): تخافيف المحاليل القياسية المستخدمة في إختبار الإليزا للهرمونات قيد الدراسة.

طريقة التخفيف	HSP70	هرمون Estradiol	رقم المحلول
غير مخفف	16ng/ml	960ng/L	المحلول القياسي الاصلي
120 مايكروليتر من المحلول القياسي الاصلي + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي	8ng/ml	480ng/L	المحلول القياسي رقم 5
120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 5 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي	4ng/ml	240ng/L	المحلول القياسي رقم 4
120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 4 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي	2ng/ml	120ng/L	المحلول القياسي رقم 3
120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 3 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي	1ng/ml	60ng/L	المحلول القياسي رقم 2
120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 2 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي	0.5ng/ml	30ng/L	المحلول القياسي رقم 1

2- حفرة التصفير(Blank well):- ووضع فيها فقط كل من محلول الكروموجين (Chromogen A) ومن ثم الكروموجين B وبعدهما محلول إيقاف التفاعل (Stop Solution).

3- حفر المحاليل القياسية :- وعددها 6 حفر ، حيث تم وضع 50 مايكروليتر من المحاليل القياسية (الأصلي والمخفف منها) كل في الحفرة المخصصة له.

4- حفر العينات المصلية:- تم وضع 40 مايكروليتر من كل عينة من عينات المصل في كل حفرة من حفر الطبق والبالغ مجموعها 89 حفرة ثم أضيف اليها 10 مايكروليتر من الأضداد المضادة للهرمون قيد الإختبار ، بعدها تمت إضافة 50 مايكروليتر من حلول Streptavidin-HRP الى جميع حفر العينات وكذلك حفر المحاليل القياسية ليصبح حجم المحاليل مجتمعة في جميع هذه الحفر 100 مايكروليتر ، ثم تم وضع غطاء شفاف خاص على طبق الإختبار مرفق مع العدة التشخيصية ، حيث تم رج الطبق بصورة خفيفة لمزج المحتويات ووضع بعد ذلك في الحاضنة بدرجة 37°م لمدة ساعة واحدة.

5- تحضير محلول الغسل:- حيث كان تركيزه (30X) وتم تخفيفه باستخدام الماء المقطر والمعقم ، وذلك بمزج 10 مل من هذا المحلول مع 290 مل من الماء المقطر والمعقم ، وتمت عملية الغسل بعد إزالة غطاء الطبق بحذر ودقة بعدها تم التخلص من السائل الموجود بحفر الطبق بطريقة التفريغ (shake off) ومن ثم تم ملئ الحفر جميعها بمحلول الغسل وبكمية 250 مايكروليتر لكل حفرة باستخدام الماصة المتغيرة ، وبعدها جرى التخلص من محلول الغسل المضاف بعد مرور 30 ثانية حيث تم تكرار عملية الغسل لخمس مرات متتالية.

6- ظهور اللون:- وتم ذلك بعد إضافة 50 مايكروليتر من محلول (Chromogen A) اولاً الى جميع الحفر ومن ثم إضافة 50 مايكروليتر من محلول(Chromogen B) أيضا الى جميع الحفر ، وتم رج الطبق بشكل خفيف لغرض مزج مكونات الحفر وحضن بعدها في الحاضنة بدرجة 37° م لمدة 10 دقائق بعيدا عن الضوء لحين ظهور اللون.

7- إيقاف التفاعل:- حيث تم ذلك بإضافة المحلول الخاص بوقف التفاعل الى جميع الحفر والتي تغير عندها اللون من الأزرق الى الأصفر في الحال.

8- النتيجة:- تم الأخذ بنظر الإعتبار بأن حفرة Blank تساوي صفر ، ومن ثم قراءة نتيجة الإمتصاص (الكثافة العيانية) (Optical Density) (OD) لجميع الحفر عند الطول الموجي 450 نانوميتر ، حيث يتوجب قراءة النتائج خلال 10 دقائق من إضافة محلول وقف التفاعل ، وإستنادا الى التراكيز القياسية وقراءات الكثافة العيانية (OD) ، تم حساب معادلة الإنحدار الخطي للمنحى القياسي ، ومن ثم حساب تراكيز الهرمونات في العينات قيد الدراسة إعتمادا على قراءات (الكثافة العيانية) لها بإستخدام software خاصة لهذا الغرض ، وإحتوت العدة التشخيصية لكل هرمون على معدل الفحص (assay range) مع درجة حساسية القراءات لكل من هذه الهرمونات (جدول 2).

الجدول (2): معدل الفحص (assay range) والحساسية للهرمونات قيد الدراسة.

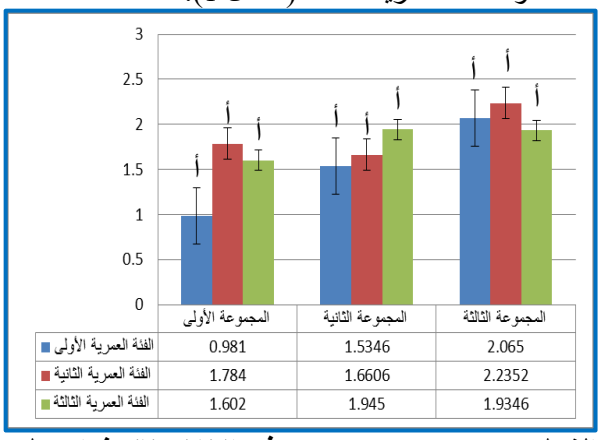
اسم الهرمون	معدل الفحص (assay range)	الحساسية
Rat HSP70	0.05ng/ml – 10ng/ml	0.01ng/ml
Rat Estradiol (E2)	3ng/L - 900ng/L	1.51ng/L

5- وقت انفتاح المهبل:- كانت علامة البلوغ في الإناث هي ظهور فتحة المهبل Vaginal opening (VO) حيث تم إجراء عملية الفحص العياني يومياً للإناث منذ اليوم 30 من العمر وحتى مرحلة ظهور فتحة المهبل وتعرف بأنها الإنفصال الكامل الذي يحدث للأغلفة الغشائية membranous sheath التي تغطي فتحة المهبل (7).

6- التحليل الاحصائي:- تم تحليل النتائج احصائياً بإستخدام إختبار تحليل التباين One Way Analysis of Variance وتم تحديد الفروقات والإختلافات الخاصة بين المجاميع بإستخدام إختبار Duncan عند مستوى إحتمالية $P\leq0.05$ وذلك حسب ما ذكره (9) لإختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات الحسابية لقيم المتغيرات المدروسة (SPSS Version.19) ، كما تم إستخدام معامل إرتباط بيرسون (Pearson Correlation) وذلك لإيجاد قيمة معامل الإرتباط بين ال HSP70 وهرمون الإستراديول في إناث الجرذان.

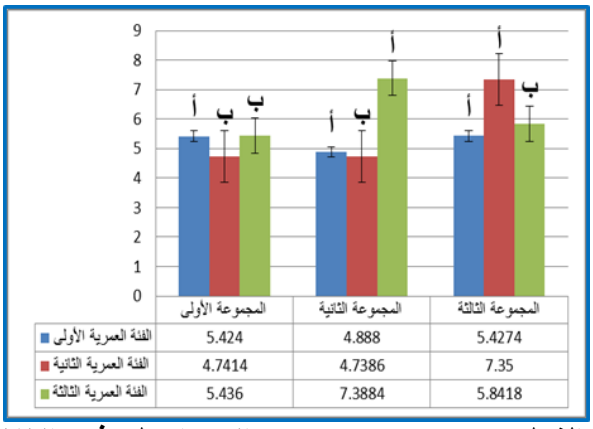
النتائج

1- بروتين الصدمة الحرارية 70:- لم يتبين من نتائج فحص ال (HSP70) أي اختلافات معنوية بين المجموعات الثلاثة وللفئات العمرية الثلاثة (الشكل 1).



الشكل (1): تركيز (HSP70) في الإناث (نانوغرام/ مل) في المجاميع والفئات العمرية الثلاثة.

2- هرمون الاستراديول في الإناث:- بينت النتائج عدم وجود اختلافات معنوية في مستوى هذا الهرمون بين المجاميع الثلاثة خلال الفئة العمرية الأولى ، في حين تمثلت

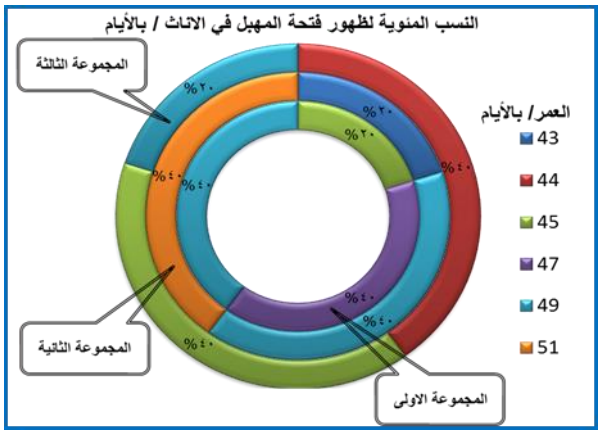


الشكل (2): تركيز هرمون الإستراديول في الإناث (نانوغرام/ لتر) في المجاميع والفئات العمرية الثلاثة.

عدد الحيوانات (5) في كل مجموعة ، القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي ، الحروف المختلفة فوق كل عمود تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية أقل من (P≤0.05).

نتائج الفئة العمرية الثانية بحدوث إرتفاع معنوي في مستواه في المجموعة الثالثة مقارنة بالمجموعتين الأخريين ، بينما لوحظ حدوث إرتفاع معنوي للهرمون في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الأولى والثالثة ضمن الفئة العمرية الثالثة (الشكل 2).

3- إنفتاح المهبل :- بينت النتائج بأن أول إنفتاح للمهبل ظهر في المجموعة الثانية بنسبة 20% من الجرذان بعمر 43 يوم ومن ثم بنسبة 40% في كل من الأعمار 49 و51 يوم من عمر الجرذ ، أما في المجموعة الثالثة فلوحظ أنفتاح المهبل بنسبة 40% في كل من الأعمار 44 و 45 يوم من عمر الجرذ على التوالي وبنسبة 20% فقط عند عمر 49 يوم ، وأخيرا لوحظ إنفتاح المهبل في المجموعة الأولى بشكل منتظم ومتسلسل وبالنسب 20% و 40% و40% وبالأعمار 45 و47 و49 يوم على التوالي من عمر الجرذان (الشكل 3).



الشكل (3): النسب المئوية لإنفتاح المهبل في المجاميع الثلاثة.

الهرمون	المجاميع	الفئات العمرية	HSP70 (إناث)								
			المجموعة الأولى			المجموعة الثانية			المجموعة الثالثة		
			الفئة العمرية الأولى	الفئة العمرية الثانية	الفئة العمرية الثالثة	الفئة العمرية الأولى	الفئة العمرية الثانية	الفئة العمرية الثالثة	الفئة العمرية الأولى	الفئة العمرية الثانية	الفئة العمرية الثالثة
هرمون الإستراديول (إناث)	المجموعة الأولى	الفئة العمرية الأولى	0.082								
		الفئة العمرية الثانية		0.87*							
		الفئة العمرية الثالثة			0.49						
	المجموعة الثانية	الفئة العمرية الأولى				0.004					
		الفئة العمرية الثانية					0.259				
		الفئة العمرية الثالثة						0.56			
	المجموعة الثالثة	الفئة العمرية الأولى							-0.95*		
		الفئة العمرية الثانية								0.58	
		الفئة العمرية الثالثة									-0.31

الشكل (4) معامل الارتباط بين HSP70 وهرمون الإستراديول في الإناث. (المربعات الحمراء تشير الى وجود ارتباط طردي إيجابي أو سلبي بين المجاميع عند مستوى احتمالية P≤0.05)

4- العلاقة الهرمونية بين ال HSP70 والإستراديول :-
أوضحت النتائج وجود ارتباط معنوي طردي بين الHSP70 وهرمون الإستراديول في إناث الجرذان في المجموعة الأولى (الفئة العمرية الثانية)، كما ولوحظ وجود ارتباط غير معنوي وطردي بين باقي المجاميع وفئاتها باستثناء المجموعة الثالثة (الفئة العمرية الأولى) والتي كان الارتباط فيها معنويا وعكسيا ، في حين كان الارتباط غير معنوي وعكسي ضمن نفس المجموعة وللفئة العمرية الثالثة (الشكل 4).

المناقشة

يعمل بروتين الصدمة الحرارية 70 على تنظيم انطواء (organized folding) البروتينات بالشكل المناسب والصحيح وسمي بهذا الاسم لأنه يزداد مع ارتفاع حرارة الجسم فضلا عن تأثره بعوامل الإجهاد الأخرى وبالتالي يزداد التعبير الجيني لهذا البروتين مع زيادة الإجهاد الخلوي (10) ، تكون فترة البلوغ في الجرذان قصيرة جدا وتختلف هذه الفترة من جنس الى آخر فضلا عن الاختلافات الفردية ضمن الجنس الواحد ، ولقد عرف الباحثان (11) مفهوم الإجهاد بأنه انعكاسات في فسلجة الكائن الحي وتصرفاته حيث تنشأ على الوجه توقعات تنبه بالخطر أما الإستجابة فتكون بشكل منعكس الكر أو الفر Fight or Flight reflex ويحتاج هذا إلى تحرر الطاقة لمقاومة العوامل المجهدة لفترة قصيرة Acute Stress. إن عدم ظهور فروق معنوية في مستوى ال (HSP70) بين المجاميع الثلاثة ربما يعود الى كون درجة الحرارة التي تعرضت لها الحيوانات (38) م° هي غير كافية لحصول ارتفاع معنوي في مستوى ال (HSP70) (12) حيث لوحظ بأن أرتفاع هذا البروتين معنويا في الجرذان يحتاج الى رفع درجة حرارة الجسم 5 م° اعلى من حرارة الجسم الطبيعية لكي يتم تحفيز الجين المسوؤل عن تكوين هذا البروتين ، كما ان الارتفاع المعنوي لهذا البروتين في الابقار يحدث عندما تصل حرارة جسمها الى 40 م فما فوق (13). في حين إنخفض مستوى (HSP70) وبشكل غير معنوي في المجموعة المعرضة للاجهاد المزمن (المجموعة الثانية) وهو مطابق لما ذكره (14). إن الارتفاع غير المعنوي لل (HSP70) له تاثير ايجابي في حماية الخلايا المتاثرة بالاجهاد من الموت (15) حيث قد يكون السبب هو عدم تأثر إناث الجرذان بالإجهاد الحراري نتيجة لإختلاف في فسلجة أنسجة وخلايا الجسم بين الذكور والإناث وخاصة في مرحلة البلوغ التي تتصف بتغييرات فيزيائية وهرمونية كبيرة (16). اما نتائج الاسترادايول فلم تتأثر معنويا في مرحلة ماقبل البلوغ حيث ترتفع مستويات هذا الهرمون بعد البلوغ نتيجة لزيادة في مستويات ال GnRH (17) ، ومن المدهش في هذه الدراسة هو حصول ارتفاع في هرمون الاستراديول في المجموعتين المعرضتين للاجهاد الحراري عكس ما اشارت اليه عدة دراسات كون الاجهاد الحراري يؤثر سلبا على عملية البلوغ والنضوج والتكاثر ويظهر ذلك من خلال الاضطرابات الحاصلة في مستويات ال GnRH على مستوى تحت المهاد والنخامية وبالتالي ضعف غدد القند في تكوين الهرمونات الستيرويدية وخاصة الاستراديول والبروجسترون (18) ، كما ان الحرارة العالية تؤدي الى قلة في اعداد مستقبلات الاستراديول او فقدان حساسيتها مما يؤدي الى تأخر نمو الجريب المبيضي وبالتالي انخفاض تركيز هذا الهرمون وهو عكس ما لوحظ في هذه الدراسة (19) ، وقد يعزى سبب الارتفاع المعنوي الحاصل في مستوى الاستراديول الى ان الاستروجين يعزز من الاستجابة للإجهاد حيث يعمل الاخير على زيادة الانطباع الجيني لل Cortico-Tropic Releasing hormone (CRH) (20) ، او قد يعود السبب في ارتفاع هذا الهرمون هو تعرض الحيوانات للاجهاد الحراري ومن ثم البرودة بعد ازالة المصدر الحراري حيث لوحظ بان الحيوانات التي تتعرض لمثل هذه الظروف يحدث لها زيادة في هرمون الاستراديول (21) ، وفيما يخص نتائج الارتباط الموجب والمعنوي بين الاستراديول وال (HSP70) في أناث مجموعة السيطرة في الفئة العمرية الثانية فيعود سببه الى ان الاستراديول يعمل على تنشيط اصناف البروتين الذي يوفر الحماية للخلايا ومنها ال (HSP70) (22) ، كما ان ارتفاع الاستراديول وتزامنه مع ارتفاع ال (HSP70) يدل على ان الاناث اكثر مقاومة للاجهاد وذلك لما يوفره هذا الهرمون من حماية للخلايا ضد الأذى الناتج من العوامل المجهدة (23). اما الارتباط السلبي والمعنوي بين الاستراديول وال (HSP70) في أناث مجموعة الثالثة فيعود الى الاجهاد الحراري الذي يودي الى قلة تناول الطعام وتاثيره سلبا على مستوى ال GnRH وبالتالي قلة في هرمون الاستراديول (24) ، ونستنتج من هذه الدراسة عدم تأثر مستويات (HSP70) بصورة معنوية بالإجهاد الحراري المحدث في الإناث.

المصادر

1-Wang SH, Diller DR, Aggrawal SJ (2003) Kinetics studies of endogenous heat shock protein 70 expression .J.Biomech. Eng. 125:794-797.

2-Tatiane DF, Ramos CDF, Sampaio FJB (2004) Puberty onset in the female offspring of rats submitted to protein or energy restricted diet J. Nutritional. Biochem.15:123-127.

3-Dey PK (2000) Involvement of endogenous opiates in heat stresses. Biomedicine. 20:143-148.

4-Ruggiero RJ, Likis FE (2002). Estrogen: physiology and pharmacology and formulations for replacement therapy. J. of Midwifery and Women Health.47(3): 130-8

5-Nigel CN, Howdeshell KL, Furr J, Lambright CR, Wilson VS, Gray LE (2009) Pubertal administration of DEHP delays puberty, suppresses testosterone production and inhibit reproductive tract development in male Sprague dawley and long evans rats. Toxicological Sciences. 111(1): 163-178.

6-Parbhat KU, Sinha RK, Karan BM (2010) Detection and analysis of the effects of heat stress on EEG

using wavelet transform. J. Biomedical Science and Engineering. 3:405-414.

7-Agrawal S, Gupta D (2013) Assessment of liver damage in male albino rats after repetitive heat stress of moderate level. Nat. J. Physiol. Pharm. Pharmacol . 3:139-44.

8-Mayssa N(2010)The distribution of GnRH and ER beta in pre and post pubertal male rats. master thesis. Loyola University. Chicago. USA.

9- Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA (1997) Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach (3rd ed.). McGraw-Hill Book Co., New York.

10-Kiang JG Tsokos GC (1998) Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry and physiology. Pharmacol. Ther.80:183-201.

11-Zachary RP, Alfonso A (2013) Stress induces obesity: Lessons from rodent model of stress. Neuroendocrine (7):130.

12-Otaka M, Okuyama A, Otani S, Jin M, Itoh S, Itoh H, Iwabuchi A, Sasahara H, Odashima M (1997) Deferential induction of HSP60 and HSP72 by different stress situations in rats (correlation with cerulein-induced pancreatitis). Digestive Diseases and Sciences. 42(7):1473-1479.

13-Ruth H (2000) Leptin--much more than a satiety signal. Annu. Rev. Nutr.20:45-75.

14-Yang P, Tu YH, Perdue MH, Oluwole C, Struiksma S (2009) Regulatory effect of heat shock protein 70 in stress-induced rat intestinal epithelial barrier dysfunction. N. Am. J. Med. Sci.1(1):9-15.

15-Beere HM, Wolf BB, Cain K, Mosser DD, Mahboubi A, Kuwana T, Tailor P, Morimoto RI, Cohen GM, Green DR (2000) Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. Nat. Cell Biol . 2: 469 -475.

16-Astrid GC, Mohammad AP, Ahmad RH Arlan R (1999) Expression of heat shock protein 70 decreases with age in hepatocytes and splenocytes from female rats. Mechanisms of Ageing and Development Journal.107(3):255-270.

17-Ojeda SR, Urbanski HF (1994) Puberty in the rat. In: Knobil E, Neill JD (eds.), The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press: 363–409.

18-Aggrawal A, Upadhyay R (2012) Heat stress and hormones. Animal prod.27-51.

19-Shimizu T, Ohshima I, Ozawa M, Takahashi S, Tajima A, Shiota M, Miyazaki H, Kanai Y (2005) Heat stress diminishes gonadotropin receptor expression and enhances susceptibility to apoptosis of rat granuloma cells. Reproduction.129:463-472.

20-Vamvakopoulos NC, Chrousos GP (1993) Evidence of direct estrogen regulation of human corticotrophin releasing hormone gene expression: Potential implications for the sexual dimorphism of the stress response and immune/ Inflammatory Reaction. J. Clin. Invest. 92: 1896-1902.

21-Wilson SJ, Marion RS, Spain JN, Spiers DE, Keisler DH, Lucy MC (1998) Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. J. Dairy. Sci.81:2124-2131.

22-Stice J, Knowlton A (2008) Estrogen, NFkB, and the heat shock response. Mol.Med.14(7-8):517-527.

23-Wei J, Yeun EY, Liu w, Li X, Zhong P, Karastoreos IN, McEwen BS, Yan Z (2014) Estrogen protects against the detrimental effects of repeated stress on glutamatergic transmission and cognition. Mol. Psychiatry.19: 588-598.

24-Mantzoris C, Flier JS, Lesem MD, Brewerton ED, Jimerson DC (1997) Cerebrospinal fluid leptin in anorexia nervosa: correlation with nutritional status and potential role in resistance to weight gain .J. Clin. Endocrinol.Metab.82:1845-1851.