

## تأثير الإجهاد الحراري على مستوى هرمون اللبتين وعلاقته بالبلوغ الجنسي في ذكور الجرذان

هيام نذير متي أشواق احمد حسن

كلية الطب البيطري / جامعة الموصل

email: [hemyatem@yahoo.com](mailto:hemyatem@yahoo.com)

(الاستلام 18 نيسان 2016 ، القبول 18 تموز 2016)

### الخلاصة

كان هدف الدراسة هو التعرف على تأثير الإجهاد الحراري المستحدث بنوعيه الحاد والمزمن على مستوى هرمون اللبتين وعلاقته بالبلوغ الجنسي في ذكور الجرذان ، حيث تم استخدام ذكور الجرذان (عدد45) المولودة حديثا وتربيتها حتى عمر الفطام ، وتم تقسيمها عشوائيا الى ثلاثة مجاميع (15 ذكر لكل مجموعة) وكالاتي: المجموعة الاولى كانت تمثل مجموعة السيطرة (غير المعرضة للأجهاد) ، المجموعة الثانية والتي عرضت للإجهاد الحراري المزمن بدرجة 38 م° لمدة ساعة واحدة يوميا (من عمر الفطام وحتى البلوغ) ، اما الثالثة فعرضت للإجهاد الحراري الحاد بدرجة 38 م° ولمدة 4 ساعات يوميا ولخمس أيام متتالية ابتداء من عمر 35 يوم من عمر الجرذان ، حيث كانت كل من المجاميع أعلاه مقسمة ثانويا الى 3 فئات عمرية وهي الفئة العمرية الاولى (ما قبل البلوغ/ بعمر 30 يوم) ، والثانية (عند البلوغ) (ظهور النطف في الذكور وإنتاج المهبل في الإناث) والثالثة (بعد البلوغ/ بعمر 70 يوم) وبواقع 5 حيوانات لكل فئة ، وتم جمع الدم من هذه الحيوانات في الفئات العمرية أعلاه للحصول على المصل وذلك للتحري عن هرمون اللبتين وبروتين الصدمة الحرارية 70 (HSP70) باستخدام تقنية Sandwich ELISA ، أظهرت نتائج فحص هرمون اللبتين حدوث إرتفاع معنوي في مستوى هذا الهرمون في كل من المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة بالمجموعة الاولى وذلك في الفئتين العمريتين الاولى والثانية ، أما في الفئة العمرية الثالثة فقد لوحظ حصول إنخفاض معنوي في مستوى الهرمون في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الثالثة ، وبينت النتائج فحص (HSP70) عدم ظهور إختلاف معنوي بين المجاميع الثلاثة في الفئتين العمريتين الاولى والثانية ، في حين حدث إنخفاض معنوي حاد لل (HSP70) في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعتين الاولى والثالثة ، وأظهرت النتائج بأن أول ظهور للنطف كان في المجموعة الثالثة عند عمر 50 يوم ، أعقبها في ذلك المجموعة الاولى بعمر 51 يوم ، أما في المجموعة الثانية فقد تأخر ظهورها الى اليوم 65 . ومن هنا نستنتج بأن تأثير الحرارة كان إيجابيا في المجموعة الثالثة وأدى الى إرتفاع ال(HSP70) ومن ثم اللبتين وبالتالي ظهور البلوغ في هذه المجموعة الثالثة أولا ، بينما كان للحرارة تأثير سلبي على المجموعة الثانية وتأخر بلوغها.

الكلمات المفتاحية: هرمون اللبتين ، بروتين الصدمة الحرارية 70 ، الإجهاد الحراري ، البلوغ ، ذكور الجرذان.

## Effect of heat stress on Leptin hormone level and their relationship with sexual puberty in male rats

Hiyam Nather Matty

Ashwaq Ahmad Hassan

Coll. of Vet. Med. / Univ. of Mosul

### Abstract

This study aimed to show the effect of induced acute and chronic heat stress on leptin level and their relationship to puberty in male rats. Forty five (45) pups male rats divided randomly at weaning to 3 groups (15 males in each group). G1 (non-treated-control group), G2 (exposed to chronic heat stress) (38C°for 1 hour) daily from weaning to puberty, and G3 (exposed to acute heat stress (38C° for 4 hours at 35 day age for 5 successive days). Each of these groups are subdivided to 3 stages (pre, at , post puberty) (5 males for each stage). Serum samples from each stage of puberty were used for detection leptin and heat shock protein 70 by sandwich ELISA. The results showed significant increase of liptin in G2 and 3 in comparison with G1 (in pre and pubertal stages), while in the post pubertal stage this hormone decreased in G2 in comparison with G3. No significant differences between the 3 groups in pre and pubertal stages, while there is significant decrease in HSP70 occur in G2 in comparison with G1 and 2. First sperm occur in G3 at day 50 of age then G1 at 51 days, but the appearance of sperm delayed till 65 day age in G2. Thus the heat effect was positive in G3 and cause increasing HSP70 then leptin which lead to occurrence of puberty in this group firstly, while

the puberty delayed in G2 as a result of negative effect of continuous exposure to heat in male rats.

**Key words: Leptin, heat shock protein70, heat stress, puberty, male rats.**

## المقدمة

هذه الدراسة ، حيث تضمنت الدراسة استخدام 45 ذكر وذلك بعد أن تم تربيتها واستخدام هذه الحيوانات الصغيرة والمولودة حديثاً في تجارب البحث لكونها نقية وغير معاملة ، وتمت تربية صغار الجرذان الخاصة بالتجارب الى عمر الفطام (بعمر 21 يوم) (6). 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 والعليفة بصورة حرة (*ad libitum*) ، وتم إجراء التجربة خلال الفترة الواقعة بين شباط 2014- تموز 2014 ، علماً عملية تربية وتكاثر هذه الحيوانات وكذلك التجارب البحثية في بيت الحيوانات التابع لكلية الطب / جامعة هوليير الطبية (أربيل).

**3- تصميم التجربة:-** تم تقسيم حيوانات التجربة (ذكور الجرذان) بشكل عشوائي عند عمر الفطام (21 يوم) الى ثلاثة مجاميع (15 ذكر لكل مجموعة) وكالاتي:

ا- المجموعة الأولى: تم اعتبارها 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 يومياً (9-10 صباحاً) ابتداءً من عمر الفطام حتى عمر البلوغ (7).

ج- المجموعة الثالثة: عرضت حيوانات هذه المجموعة للإجهاد الحراري الحاد بدرجة 38 م° أيضاً ولمدة 4 ساعات متتالية يومياً (9 صباحاً-1 ظهراً) ابتداءً من عمر 35 يوم ولمدة خمسة أيام متتالية (8). علماً بأنه تم تعريض الحيوانات للإجهاد الحراري باستخدام حاضنة خاصة تم تصنيعها محلياً لهذا الغرض ، حيث تم تقسيم الذكور في المجاميع الثلاثة أعلاه الى ثلاثة فئات عمرية لكل مجموعة وبواقع 5 ذكور لكل فئة عمرية ( ضمن المجموعة الواحدة ) وكالاتي :

1- الفئة العمرية الأولى (مرحلة ما قبل البلوغ) pre-puberty stage :- والتي جمع منها الدم بهدف الحصول على المصل عند اليوم 30 من عمرها (9).

2- الفئة العمرية الثانية (مرحلة البلوغ) at puberty :- وجمع منها الدم بهدف الحصول على المصل في الوقت الذي تم من خلاله مشاهدة النطف عند قتل الحيوانات.

3- الفئة العمرية الثالثة (مرحلة ما بعد البلوغ) post puberty stage :- وجمع الدم منها بهدف الحصول على المصل عند اليوم 70 من عمر الذكور (9). ووزع المصل الى أنابيب إندروف وحفظ بدرجة -20 م° لحين إستخدامه في إختبار الاليزا.

**4- طريقة عمل تقنية الإليزا (Sandwich ELISA):-** تم إستخدام هذه التقنية لقياس تركيز هرمون اللبتين (LEP) وبروتين الصدمة الحرارية 70 (HSP70) في أمصال

يعد هرمون اللبتين من الهرمونات الببتيدية التي تفرز من النسيج الدهني ، حيث يعمل هذا الهرمون على تنظيم تناول الغذاء والتكاثر ، كما إن نسب هذا الهرمون في الدم لها علاقة مع مؤشر كتلة الجسم Body mass index (نسبة الدهون في الجسم) في ذكور وإناث كل من الإنسان والقوارض (1). وكان أول اكتشاف لهذا الهرمون عام 1950 في فئران نوع ob/ob mice حيث أن هذه الفئران مطفرة وراثياً ولا تمتلك الجين المسؤول عن تنظيم وزن الجسم ، ويوجد هذا الهرمون في الدم إما بصورة حرة أو مرتبط مع البروتين حيث إن تواجد في جهاز الدوران يعتمد على الحالة الفسلجية للحيوان (2). إن بروتين الصدمة الحرارية 70 (Heat Shock Protein70) من هرمونات الإجهاد التي أكتشفت في الماضي القريب وسمي بهذا الاسم بسبب اكتشافه عند استخدام الصدمة الحرارية كعامل محدث للإجهاد ويتواجد في جميع خلايا الكائنات الحية ولكن بنسب تختلف من كائن لآخر ومن خلية لأخرى وعادة ما يكون تركيز هذا البروتين ضئيل جداً في الخلايا غير المعرضة للإجهاد ويزداد عند التعرض للحرارة العالية Hyperthermia (3). يتأثر البلوغ الجنسي في اللبائن بالهرمونات التي تفرزها غدة تحت المهاد وهي من الغدد المهمة في الجسم لأن لهرموناتها دور في السيطرة على اليات الاتزان البدني وهي تتأثر أيضاً وبشكل ملحوظ باضطرابات الجسم المختلفة ، وتقوم هذه الغدة في اللبائن بإفراز العديد من الهرمونات ومنها الهرمون المحرر للهرمونات الجنسية Gonadotropin Releasing hormone GnRH ، وهناك فرضيات تشير الى أن هرمون اللبتين يؤدي دور مهم في تنظيم إفراز ال GnRH وبالتالي دوره المهم في التكاثر (4). إن عملية النضج الجنسي وعلاقتها بالحالة التغذوية لها أهمية كبيرة تحديد كيفية تأثير هرمون اللبتين على العلاقة بين المحاور التي تربط غدة تحت المهاد بالغدة النخامية في المجترات (5). وبناءً عن ما تقدم إستهدفت الدراسة الحالية التعرف على تأثير الإجهاد الحراري المستحدث بنوعيه الحاد والمزمن على مستوى هرمون اللبتين وعلاقته بالبلوغ الجنسي في ذكور الجرذان.

## المواد وطرائق العمل

**1- العلف:-** تمت تغذية حيوانات التجربة على علف جاهز ومتوفر في بيت الحيوانات / كلية الطب / جامعة هوليير الطبية ، حيث عُدت 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 استخدام 20 أنثى و9 ذكور من الجرذان البيضاء البالغة White Albino Rats والتي تراوحت أوزانها ما بين 175-225 غم وذلك بإخضاعها لعملية التكاثر وإستخدام المواليد الصغار الناتجة منها في

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

رقم المحلول	HSP70	هرمون اللبتين	طريقة التخفيف
المحلول القياسي الاصيلي	16ng/ml	24ng/ml	غير مخفف
المحلول القياسي رقم 5	8ng/ml	12ng/ml	120 مايكروليتر من المحلول القياسي الاصيلي + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي
المحلول القياسي رقم 4	4ng/ml	6ng/ml	120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 5 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي
المحلول القياسي رقم 3	2ng/ml	3ng/ml	120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 4 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي
المحلول القياسي رقم 2	1ng/ml	1.5ng/ml	120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 3 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي
المحلول القياسي رقم 1	0.5ng/ml	0.75ng/ml	120 مايكروليتر من المحلول القياسي رقم 2 + 120 مايكروليتر من محلول التخفيف القياسي

6- ظهور اللون :- وتم ذلك بعد إضافة 50 مايكروليتر من محلول (Chromogen A) أولاً الى جميع الحفر ومن ثم إضافة 50 مايكروليتر من محلول (Chromogen B) أيضاً الى جميع الحفر ، وتم رج الطبق بشكل خفيف لغرض مزج مكونات الحفر وحضن بعدها في الحاضنة بدرجة 37° م لمدة 10 دقائق بعيداً 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 ، وإستناداً الى التراكيز القياسية وقراءات الكثافة العيانية (OD) ، تم حساب معادلة الإنحدار الخطي للمنحنى القياسي ، ومن ثم حساب تراكيز الهرمونات في العينات قيد الدراسة إعتقاداً 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 (جدول2).

الجدول (2): معدل الفحص (assay range) والحساسية للهرمونات قيد الدراسة والمشار إليها في العدد التشخيصية لكل هرمون.

اسم الهرمون	معدل الفحص (assay range)	الحساسية
Rat Leptin	0.1ng/ml - 20ng/ml	0.05ng/ml
Rat HSP70	0.05ng/ml - 10ng/ml	0.01ng/ml

5-الكشف عن ظهور النطف في الخصية :- وهي الطريقة التي يتم التأكد من خلالها على اكتمال عملية البلوغ عند الذكور ، حيث تظهر فيها أول نطفة في الانبيبات المنوية ، وتم ذلك بعد قتل الحيوان واستخراج الخصية وإحداث شق في متنها ومن ثم عمل مسحة على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر الضوئي عند تكبير (40X) لمشاهدة النطف إن وجدت.

6- التحليل الاحصائي :- تم تحليل النتائج احصائياً باستخدام اختبار تحليل التباين One Way Analysis of

ذكور 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 احتوت العدة التشخيصية على المحلول القياسي الاصيلي والذي تم تخفيفه بإستخدام أنابيب إبنديروف حجم 2 مل كما في الجداول أدناه كل حسب الهرمون الخاص به ، أما تركيز المحلول القياسي الاصيلي والمرفق مع العدة التشخيصية لكل هرمون يساوي ضعف تركيز ذلك الهرمون في المحلول القياسي رقم 5 (جدول 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 (الاصيلي 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 إليها 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 بإستخدام 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 بإستخدام الماصة المتغيرة ، وبعدها جرى التخلص من محلول الغسل المضاف بعد مرور 30 ثانية حيث تم تكرار عملية الغسل لخمس مرات متتالية.

المدرسة (SPSS, Version19)، كما تم استخدام معامل ارتباط بيرسون (Pearson Correlation) وذلك لإيجاد قيمة معامل الارتباط بين اللبتين وال HSP70.

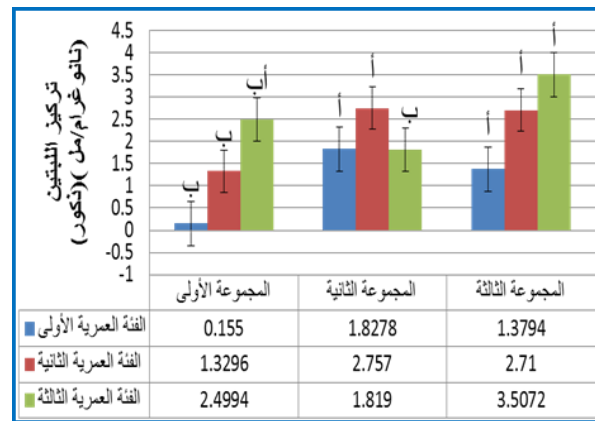
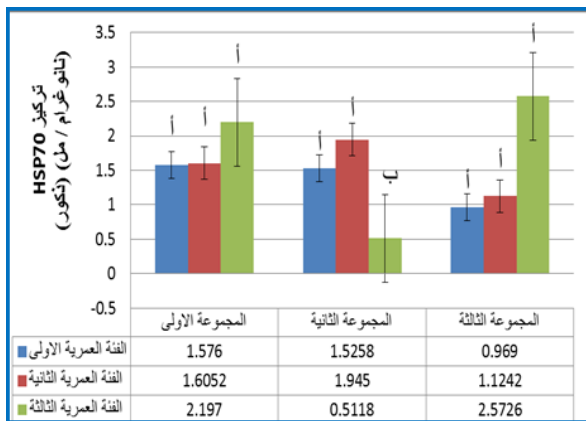
Variance وتم تحديد الفروقات والاختلافات الخاصة بين المجموع باستخدام اختبار Duncan عند مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  وذلك حسب ما ذكره (10) لاختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات الحسابية لقيم المتغيرات

## النتائج

### 1- الفحوصات الهرمونية بتقنية الاليزا

**1-1 هرمون اللبتين :-** أظهرت نتائج فحص هرمون اللبتين بحدوث ارتفاع معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في مستوى هذا الهرمون في كل من المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة بالمجموعة الأولى خلال الفئتين العمريتين الأولى والثانية، أما في الفئة العمرية الثالثة فقد لوحظ حصول انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في مستوى الهرمون في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الثالثة، في حين لم يلاحظ حدوث

اختلاف معنوي يذكر بين المجموعة الأولى من جهة والمجموعتين الثانية والثالثة من جهة أخرى (الشكل 1).  
**1-2 Heat Shock Protein 70 (HSP 70) :-** بينت النتائج فحص (HSP 70) عدم ظهور اختلاف معنوي بين المجموع الثلاث في الفئتين العمريتين الأولى والثانية، في حين حدث إنخفاض معنوي حاد ( $P \leq 0.05$ ) لل (HSP 70) في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعتين الأولى والثالثة (الشكل 2).



الشكل (2): تركيز HSP 70 في الذكور (نانوغرام/ مل) في المجموع والفئات العمرية الثلاثة.

الشكل (1): تركيز هرمون اللبتين في الذكور (نانوغرام/ مل) في المجموع والفئات العمرية الثلاثة.

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

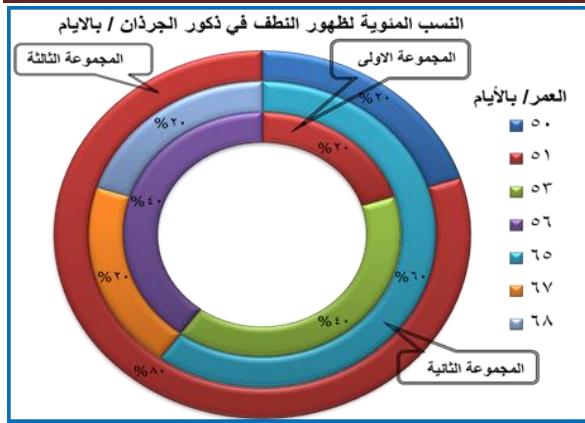
HSP70 (ذكور)									المجموع	الفئات العمرية	المجموع	الهرمون اللبتين (ذكور)
المجموعة الثالثة			المجموعة الثانية			المجموعة الأولى						
الفئة العمرية الثالثة	الفئة العمرية الثانية	الفئة العمرية الأولى	الفئة العمرية الثالثة	الفئة العمرية الثانية	الفئة العمرية الأولى	الفئة العمرية الثالثة	الفئة العمرية الثانية	الفئة العمرية الأولى				
									-0.71	الفئة العمرية الأولى	المجموعة الأولى	
									-0.13	الفئة العمرية الثانية		
								0.96**		الفئة العمرية الثالثة		
								-0.17		الفئة العمرية الأولى	المجموعة الثانية	
								-0.27		الفئة العمرية الثانية		
								-0.47		الفئة العمرية الثالثة		
								0.74		الفئة العمرية الأولى	المجموعة الثالثة	
								-0.5		الفئة العمرية الثانية		
								0.37		الفئة العمرية الثالثة		

الشكل (3): معامل الارتباط بين HSP70 وهرمون اللبتين في الذكور. (المربعات الحمراء تشير الى وجود ارتباط طردي إيجابي أو سلبي بين المجموع عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.05$ )).

كما وكان هذا الارتباط غير معنوي وطردي في المجموعة الثالثة (الفئتين العمريتين الأولى والثالثة)، بينما أوضحت النتائج وجود ارتباط غير معنوي عكسي في باقي المجموع وفئاتها.

**2- العلاقة الهرمونية بين ال HSP70 واللبتين :-** يبين الشكل (3) نتائج معامل الارتباط ( $r$ ) بين اللبتين وال HSP70 قيد الدراسة. حيث أظهرت النتائج وجود ارتباط معنوي طردي بين ال HSP70 وهرمون اللبتين في ذكور الجرذان وذلك في المجموعة الأولى (الفئة العمرية الثالثة)،





**3- وقت ظهور النطف في ذكور الجرذان :-** أظهرت النتائج بأن أول ظهور للنطف كان في المجموعة الثالثة عند عمر 50 و 51 يوم وبنسبة 20% و 80% على التوالي ، أعقبها في ذلك المجموعة الأولى بالأعمار 51 و 53 و 56 وبالنسب 20% و 40% و 40% على التوالي أيضا ، أما في المجموعة الثانية فقد تأخر ظهورها الى اليوم 65 و 67 و 68 وبالنسب 60% و 20% و 20% على التوالي (الشكل 4).

**الشكل (4): النسب المئوية لظهور النطف في ذكور الجرذان للمجاميع الثلاثة**

### المناقشة

تعرف فرط الحرارة بأنها إرتفاع لدرجة حرارة الجسم الداخلية نتيجة لإرتفاع درجة حرارة المحيط أو نتيجة للإصابة بالميكروبات المرضية أو زيادة في هرمونات الدرقية Hyperthyroidism حيث تسبب جميعها أختلال في اليات التنظيم الحراري لدرجة حرارة الجسم وبالتالي تدمير لأعضاء وأنسجة الجسم المختلفة (11) ، ويلعب اللبتين دورا مهما في الإستجابة لعوامل الإجهاد والوظائف المناعية وتكوين العظام وكذلك تأثيراته في تنظيم الوظائف العصبية - الصمية والتكاثيرية في الإنسان والفئران ودوره في تنظيم التوازن الحراري وكتلة الجسم والطاقة وذلك بتأثيره على زيادة حرق الدهون بالإضافة الى قلة استهلاك الطعام (12) ، وبشكل عام فإن هنالك حقيقة مؤكدة وهي أن كل الكائنات الحية والتي تعيش في بيئة طبيعية تصل إليها إشارات البلوغ عند وصولها الى العمر المحدد لبلوغها ، ولكن البلوغ من الناحية النظرية هو الفترة الزمنية التي يمتلك عندها الكائن الحي القدرة على التكاثر وليس فقط عند وصول الجسم الى حجم معين حيث تتداخل عوامل الإضاءة والتغذية وعوامل اخرى كثيرة مع عملية البلوغ (13) ، ومن نتائج هرمون اللبتين والتي أظهرت إرتفاعه في المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة بالمجموعة الأولى ضمن الفئة العمرية الأولى والثانية وأنخفاضه في المجموعة الثانية عند الفئة العمرية الثالثة حيث أن السبب في إرتفاع هذا الهرمون هو أن التعرض للإجهاد لفترات قصيرة يؤدي الى تغيرات في إتران الطاقة البدني Energy Homeostasis وإختلاف في تحرير الطاقة الضرورية لحياة الكائن الحي وبالتالي زيادة الإنطباع الجيني لهرمون اللبتين من النسيج الدهني عند تعرضه للإجهاد (14) ، أما التعرض للإجهاد لفترة طويلة ومستمرة فيؤدي الى عدم انتظام إتران الطاقة البدني وخروجه عن سيطرة الجسم وبالتالي حصول إضطرابات أيضية تكون نهايتها الإصابة بالأمراض وبذلك يكون لارتفاع هذا الهرمون تأثير سلبي على صحة الحيوان (15). أما نتائج ال HSP70 والتي لم يظهر فيها أية فروقات معنوية بين المجاميع الثلاثة وللثنتين العمريتين الأولى والثانية ويعود السبب في ذلك الى كون ال HSP70 يزداد مع إرتفاع درجة حرارة الجسم بفارق 5 درجات مئوية عن حرارة الجسم الطبيعية حيث يؤدي الإرتفاع بدرجة حرارة الجسم الى التحفيز على استنساخ

هذا البروتين في داخل الخلايا والذي يعمل بدوره على تحفيز اليات التحمل الحراري في الجسم (Thermo-tolerance) ، أو ربما إرتفاع حرارة الجسم أدى الى زيادة غير معنوية في استنساخ هذا الهرمون داخل الخلايا والذي يعمل بدوره على توفير الحماية للخلايا من الإجهاد ، أما إنخفاض هذا البروتين في المجموعة الثانية (الفئة العمرية الثالثة) فسببه التثبيط في تكوين هذا البروتين عند التعرض للإجهاد المزمن (16) ، أو قد يعود السبب في ذلك بان الاستجابة للإجهاد الحراري وتكوين ال HSP70 تقل مع تقدم الجرذان بالعمر ، كما ويعتبر هذا البروتين من أحد وسائل حماية الخلايا ومنها خلايا الخصية من الموت التتخري او الموت الطبيعي حيث يكون تأثيره ايجابيا عن إرتفاعه لفترة قصيرة وسلبا عند إرتفاعه لفترة طويلة من الزمن (17). أما نتائج العلاقة بين هرمون اللبتين وال HSP70 فقد لوحظ وجود علاقة طردية احيانا وعكسية احيانا اخرى بينهما وقد فسر (18) بان هرمون اللبتين يعمل down regulates لبروتين الصدمة الحرارية 70 (HSP70) ، كما أن هنالك بعض الدراسات تشير الى وجود ازدواجية في مستوى ال HSP70 مع اللبتين سواء في الحالات الطبيعية او المرضية ، واخيرا فان التباين في عملية البلوغ وظهور النطف للمجاميع الثلاثة هو ان التعرض لدرجة حرارة 38 م° في المجموعة الثالثة ولخمسة ايام متتالية فقط ادى الى زيادة معنوية في مستوى هرمون اللبتين وبالتالي زيادة في تحرر الطاقة الابضية اللازمة لبدء البلوغ والتي تحتاجها الحيوانات بكميات كبيرة لبدء البلوغ والتي ترافقها تغيرات فيزيائية وهرمونية في الجسم (19) ، كما وقد لوحظ بان اعطاء هرمون اللبتين في الذكور الذين يعانون من تأخر البلوغ أدى الى زيادة معنوية في الهرمون الذكري وبالتالي الاسراع في عملية البلوغ ، أما تأخر البلوغ في المجموعة الثالثة فربما يعود سببه الى الاجهاد الحراري المستمر والمزمن ولفترة طويلة وتأثيراته السلبية على الوظائف الفسلجية للجسم (20) ، وبذلك نستنتج بأن تأثير الحرارة كان إيجابيا في المجموعة الثالثة وأدى الى إرتفاع ال(HSP70) ومن ثم اللبتين وبالتالي ظهور البلوغ في هذه المجموعة الثالثة أولا ، بينما كان للحرارة تأثير سلبي على المجموعة الثانية وتأخر بلوغها.

## المصادر

- 10-Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA (1997) Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach (3rd ed.). McGraw-Hill Book Co., New York.
- 11-Sessler DI (2009) Thermoregulatory defense mechanisms. *Crit Care Med.* 37 (Suppl 7): S203-10.
- 12-Patani PV, Ghaisas MM, Molvi KI, Seth AK (2012) The physiological role of leptin: A review. *JPSBR.* 2(4):162-168.
- 13-Foster DL, Nagatani S (1999) Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biol. Reprod.* 60: 205–215.
- 14-Mostyn A, Keisler DH, Webb R, Stephenson T, Symonds ME (2001) The role of leptin in the transition from fetus to neonate. *Proc. Nutr. Soc.* 60, 187-194.
- 15-Zakrzewska KE, Sainsbury A, Cusin I, Jeanrenaud B, Rohner F (1999) Selective dependence of intracerebroventricular neuropeptide Y-elicited effects on central glucocorticoids. *Endocrinol.* 140: 3183-3187.
- 16-Yang P, Tu YH, Perdue MH, Oluwole C, Struiksmas S (2009) Regulatory effect of heat shock protein 70 in stress-induced rat intestinal epithelial barrier dysfunction. *1(1):9-15.*
- 17-Manar ES, Rashed EA, Aleisa NA, Daghestani MH (2012) The protection role of HSP70 in the testis of Cadmium exposed rats. *Bioinformation.* 8 (1):58-64.
- 18-Denise F, Gertler A, Cabello G, Eddy D, Buyse J, Dridi S (2007) Leptin down regulates HSP70 gene expression in chicken liver and hypothalamus. *Cell tissue research,* 329(1):91-101.
- 19-Mia JET, Weissenbruch MM, Snijders CP, Lips P, Wall HAD (2001) Body mass index, body composition, and leptin at onset of puberty in male and female rats after intrauterine growth retardation and after early postnatal food restriction. *Pediatric research.* 50(4):474-478.
- 20-Fantuzzi G, Faggioni (2000) Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J. Leukoc. Biol.* 68:437–446.
- 1-Maffei MJ, Halaas E, Ravussin RE, Pratley GH, Lee Y, Zhang H, Fei S, Kim R, Lallone S, Ranganathan PA, Friedman JM (1995) Leptin levels in human and rodent: measurements of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* 1:1155-1161.
- 2-Garcia MR, Amstalden M, Williams SW, Stanko RL, Morrison CD, Keisler DH, Nizielski SE, Williams GL (2002) Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. *Journal of Animal Science.* 80(8): 2158-2167.
- 3-Morano KA (2007) New tricks for an old dog: the evolving world HSP70. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1113:1-4.
- 4-Barash I, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Clifton DK, Steiner RA (1996) Leptin is metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology.* 137: 3144 -3147.
- 5-Amstalden MDA, Zieba JF, Edwards PG, Harms TH, Welsh JR, Stanko RL, Williams, GL (2003) Leptin acts at the bovine adenohypophysis to enhance basal and gonadotropin-releasing hormone-mediated release of luteinizing hormone: differential effects are dependent upon nutritional history. *Biol. Reprod.* 69:1539-1544.
- 6-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.
- 7-Sinha RK, Ray AK (2006) Sleep-wake study in an animal model of acute and chronic heat stress. *Physiol. Behav.* 89: 364-72.
- 8-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.
- 9-Mayssa N (2010) The distribution of GnRH and ER beta in pre and post pubertal male rats. Master thesis. Loyola University. Chicago. USA.