

ผลของการเสริม Arsenic Trioxide ต่อระดับและการแสดงออกของ
Heat Shock Protein 70 ในอวัยวะภายในของไก่เพศผู้
(Effect of Arsenic Trioxide on Heat Shock Protein 70 Expression in Internal Organs of
Male Chickens)

ไชยวัฒน์ เจ็กมะดัน

Chaiwat Jekmadan

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

สัมนานฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริม Arsenic trioxide (As_2O_3) ในอาหารต่อระดับการแสดงออกของ Heat shock protein 70 (Hsp70) ในอวัยวะภายในของไก่เพศผู้ ประกอบด้วย ตับ ม้าม และกึ๋น ได้รวบรวมเอกสารและบทความทางวิชาการจำนวน 5 ฉบับ ตั้งแต่ปี พ.ศ 2551-2560 ทำการเสริม As_2O_3 ในอาหารที่ระดับ 0–30 mg/kg^{-1} ของอาหาร และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่ออวัยวะภายในเป็นเวลา 30 , 60 และ 90 วัน หลังเริ่มการทดลองพบว่าระดับ mRNA ของ Hsp70 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ or $p<0.01$) ตามระดับการเสริม As_2O_3 (7.5, 15 และ 30 mg/kg^{-1}) ในทุกช่วงเวลาที่ได้รับเสริม As_2O_3 (30 , 60 และ 90 วัน) เทียบกับกลุ่มควบคุม การเสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 30 และ 60 วัน ส่งผลให้ระดับโปรตีน Hsp70 สูงขึ้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามการเสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 90 วัน ไม่มีผลต่อระดับโปรตีน Hsp70 จากการศึกษาชิ้นนี้ไปสู่อธิบายว่าการเสริม As_2O_3 กระตุ้นการแสดงออกของยีน และการสร้างโปรตีน Hsp70 เพิ่มมากขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จากการเกิด oxidative stress อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงและกลไกการทำงานของ Hsp70 ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

คำสำคัญ: heat shock protein 70, Arsenic trioxide, Liver, Spleen, Gizzard

บทนำ

สารหนู (As) มีองค์ประกอบหลักที่แบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบคือ อินทรีย์ และอนินทรีย์ ความเป็นพิษขึ้นอยู่กับสถานะการเกิดออกซิเดชัน โดยสารหนูอินทรีย์เป็นสารประกอบโดยทั่วไปที่ปลอดภัย (Gochfeld, 1995 อ้างโดย Zhao et al., 2015) สารหนูอนินทรีย์ พบว่ามีหมู่ออกไซด์ หรือ ซัลเฟอร์ เป็นองค์ประกอบ การได้รับ As_2O_3 เรื้อรังทำให้เกิดผลเป็นพิษได้หลากหลาย และหนึ่งในนั้นคือ metalloids จัดเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ ทำให้เกิดโรคมะเร็งปอดไตผิวหนัง และกระเพาะปัสสาวะเป็นต้น (Del Razo et al., 2001 ; Enterline et al., 1995) อ้างโดย (Guo et al., 2015) สารหนูอนินทรีย์ถูกใช้อย่างกว้างขวางในด้านการแพทย์ และภาคเกษตรกรรม (Duker et al., 2005) อ้างโดย (Zhao et al., 2015) สารหนูนั้นเกี่ยวข้องกับการทำปฏิกิริยาสัตว์ปีกเนื่องจากสัตว์อาจได้รับน้ำบาดาลที่ปนเปื้อนสารหนู ซึ่งมีความเป็นพิษต่อร่างกายสัตว์ และในขณะเดียวกันก็ยังเป็นการกระตุ้นกลไกที่ทำให้เกิดการซ่อมแซมพันธุเซลล์ที่บาดเจ็บในร่างกายสัตว์หรือสิ่งกระตุ้นที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อปกป้องสิ่งมีชีวิต (Cervantes et al., 1994) อ้างโดย (Guo et al., 2015) ความเครียดจากการเกิดออกซิเดชันในเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารถูกเหนี่ยวนำโดย As_2O_3 ความเป็นพิษของสารหนูสามารถเพิ่มความหนาแน่นของตับ และความดันโลหิตสูงที่ไม่ทราบสาเหตุ (Dick et al., 1990 ; Guo et al., 2015) อ้างโดย (Zhang et al., 2015) การศึกษาระบุว่า As_2O_3 สามารถส่งผลกระทบต่ออวัยวะที่หลากหลายรวมถึงตับไต และผิวหนัง (Squibb et al., 1983) อ้างโดย (Zhao et al., 2015) นอกจากความเป็นพิษของสารหนูและยังพบว่าสารหนูมีประโยชน์ในการรักษาโรคตามตำรายาจีนแบบดั้งเดิมนับพันปีโดยใช้หลักการพิษต้านพิษและในช่วงปลายศตวรรษที่ 19 สารหนูเป็นยามาตรฐานในการรักษาโรค chronic myeloid leukaemia ที่ไม่มีการรักษาที่มีประสิทธิภาพกว่านี้ในยุคนั้น (Shen et al., 2003 ; Kwong et al., 1997) อ้างโดย (Au et al., 2008) อย่างไรก็ตามยังมีรายงานด้านความปลอดภัยในการใช้และวิธีการให้ As_2O_3 ในสัตว์ซึ่งมีอยู่ 2 รูปแบบคือ Oral- As_2O_3 และ iv- As_2O_3 พบว่าวิธีการให้ As_2O_3 ผ่านทางปาก (Oral- As_2O_3) มีความสามารถในการดูดซึมซึ่งบ่งบอกถึงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและมีระดับสารหนูในน้ำเลือดที่ต่ำกว่า ทั้งยังสามารถขับออกมาผ่านทางไตได้ส่วนใหญ่จึงมีความปลอดภัยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการให้ As_2O_3 แบบฉีดเข้าเส้นเลือด (iv- As_2O_3) (Kumana et al., 2002) อ้างโดย (Au et al., 2008)

Heat shock proteins (Hsps) เป็นโปรตีนที่ถูกชักนำให้เกิดขึ้น และจะแสดงออกภายใต้สภาวะไม่ปกติหรือได้รับความเครียดจะสังเคราะห์ออกมาอย่างรวดเร็ว เช่น เมื่อสิ่งมีชีวิตได้รับความเครียดจาก As_2O_3 และจะทำให้ Hsps ถูกสร้างและแสดงออกมากขึ้น เพื่อเป็นตัวกลางการเกิดกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ เช่นการพับของโปรตีน การซ่อมแซมโปรตีน การขนส่งโปรตีนที่เสียหาย และการสังเคราะห์โปรตีนใหม่ (Al-Aqil et al., 2009 ; Young et al., 1990 ; Iwama et al., 1998) อ้างโดย (Zhao et al., 2015)

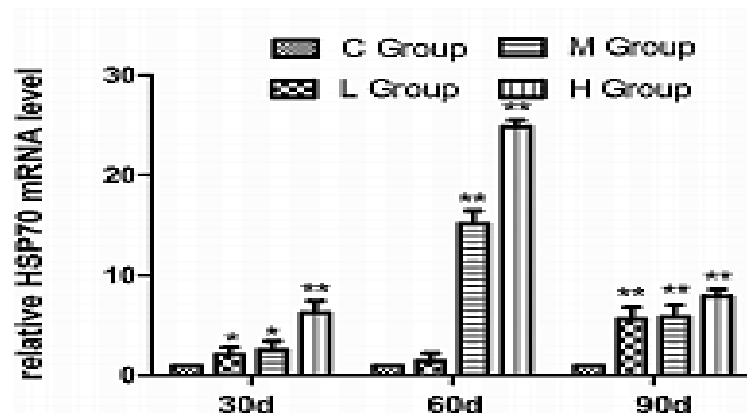
Hsps ถูกจำแนกชนิดและแบ่งออกตามขนาดของโมเลกุล เช่น Hsp27 Hsp40 Hsp70 และ Hsp90 เป็นต้น นอกจากนี้ยังแบ่งตามลักษณะการทำงาน เช่น Hsp40 ทำงานร่วมกับ Hsp70 กระตุ้นกิจกรรมการพับโปรตีนส่วน Hsp70 ป้องกันการพับโปรตีนที่ไม่ถูกต้องและการย้ายโปรตีนโดยตัวรับที่เจริญมาจากพันธะเปปไทด์และบำรุงรักษาสถานะการพับโปรตีนอย่างหลวมๆ จนกระบวนการสังเคราะห์เสร็จสิ้น (Rijk et al., 2000)

; Li et al., 2009 ; Razo et al., 2001) อ้างโดย (Zhao et al., 2015) มีรายงานที่อธิบายผลจาก Hsp70 ซ่อมแซมรักษาหรือฟื้นฟูโปรตีนของเซลล์จากการได้รับความเสียหาย Hsp70 ในปอดและตับของหนูมีหน้าที่ ป้องกันต่อต้าน endotoxin (Flohe et al., 1999 ; Schutte et al., 2001) อ้างโดย (Zhang et al., 2015) ซึ่ง Hsp70 เป็นแชพอโรนโปรตีนที่ช่วยควบคุมการจัดรูปร่างของโปรตีนอื่น ป้องกันการเกาะกลุ่มของโปรตีน การสังเคราะห์โปรตีนใหม่ การหลั่งโปรตีน และควบคุมการทำงานของโปรตีน Hsp70 จะมีหน้าที่พิเศษในการ ควบคุมการจัดรูปร่างของโปรตีนโพลีเปปไทด์ใหม่ (de novo folding) และโปรตีนที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signaling transduction proteins) (Hartl and Hayer-Hartl, 2002 ; Bukau et al., 2000) อ้างโดย (วิชากรณ, 2017) ทั้งนี้ Hsp70 ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคและป้องกันโรคในปศุสัตว์ บางชนิดในอนาคตได้อีกด้วย จากรายงานที่พบว่าการให้ Hsp70 จากภายนอกแก่สัตว์ทดลองเพื่อพัฒนาการ รักษาและป้องกันโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็งในมนุษย์การให้ Hsp70 ในระยะยาวสามารถเพิ่มอายุขัย ความสามารถในการเรียนรู้และความจำในหนูทดลองที่อายุมากได้ (Yurinskaya et al., 2015 ; Bobkova et al., 2015) อ้างโดย (วิชากรณ, 2017)

ดังนั้นสัมมนาเล่มนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริม Arsenic trioxide ต่อระดับและการ แสดงออกของ Hsp70 ในอวัยวะภายในของไก่เพศผู้ประกอบด้วย ตับ ม้าม และก้นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ เป็นประโยชน์ในการนำไปศึกษาต่อการแพทย์และการรักษาระดับเซลล์

ผลของการเสริม As_2O_3 ในอาหารต่อระดับ mRNA ของ Hsp70 ในอวัยวะภายในไก่เพศผู้

Zhang et al., (2015) รายงานว่าระดับ mRNA ของ Hsp70 ในเนื้อเยื่อตับ มีความสัมพันธ์กับการ เสริม As_2O_3 ที่ระดับต่างๆ ได้แก่ กลุ่มที่เสริมในระดับต่ำ 7.5 mg/kg^{-1} กลุ่มที่เสริมในระดับกลาง 15 mg/kg^{-1} และกลุ่มที่เสริมในระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 30 , 60 และ 90 วันทำการเก็บตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p < 0.05$ or $p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยมีระดับของ mRNA เพิ่มขึ้นตามระดับการเสริม As_2O_3 ในช่วงเวลาเดียวกันที่เก็บตัวอย่าง ยกเว้น กลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับ 7.5 mg/kg^{-1} และกลุ่มควบคุม เป็นเวลา 60 วัน มีการเพิ่มขึ้น ระดับ mRNA ของ Hsp70 ไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1. Effects of As_2O_3 on the Hsp70 mRNA level in Liver. The asterisk or double asterisk indicates that there are significant differences ($p < 0.05$ or $p < 0.01$)

C = control group Level of As₂O₃ in supplemented diet 0 mg/kg⁻¹

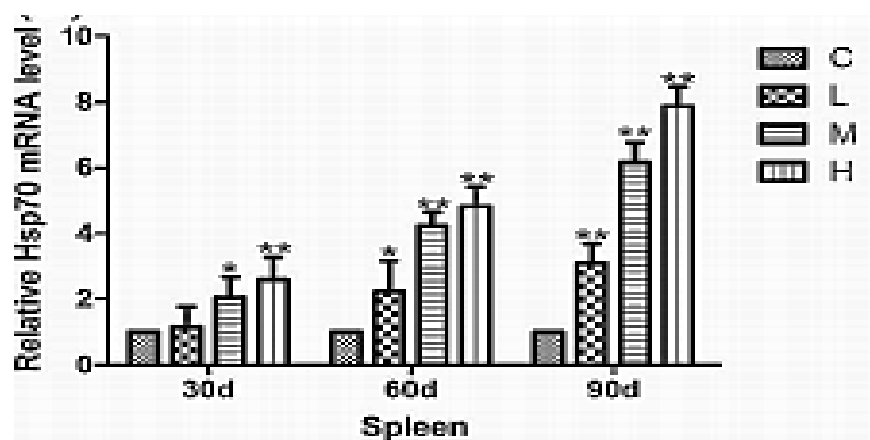
L = low-As group Level of As₂O₃ in supplemented diet 7.5 mg/kg⁻¹

M = Median-As group Level of As₂O₃ in supplemented diet 15 mg/kg⁻¹

H = High-As group Level of As₂O₃ in supplemented diet 30 mg/kg⁻¹

ที่มา: (Zhang et al., 2015)

นอกจากนี้ Guo et al., (2015) แสดงให้เห็นว่าระดับ mRNA ของ Hsp70 ในเนื้อเยื่อม้ามเพิ่มขึ้นในกลุ่มทดลองที่เสริม AS₂O₃ ระดับต่างๆ (7.5, 15 และ 30 mg/kg⁻¹) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ or $p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทุกช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง (30, 60 และ 90 วัน) นอกจากนี้ กลุ่มที่เสริม AS₂O₃ ระดับต่างๆ (7.5, 15 และ 30 mg/kg⁻¹) มีระดับ mRNA ของ Hsp70 ที่เพิ่มขึ้นตามระดับการเสริม AS₂O₃ ในแต่ละช่วงระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง (30, 60 และ 90 วัน) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกันที่เก็บตัวอย่าง ยกเว้น กลุ่มที่เสริม AS₂O₃ ในระดับต่ำ 7.5 mg/kg⁻¹ เป็นเวลา 30 วัน มีระดับ mRNA ของ Hsp70 และกลุ่มควบคุม ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม กลุ่มที่เสริม AS₂O₃ ทุกระดับ (7.5, 15 และ 30 mg/kg⁻¹) เป็นเวลา 90 วัน ส่งผลให้ระดับ mRNA ของ Hsp70 ที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกัน แต่เพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2. Effects of As₂O₃ on the Hsp70 mRNA level in Spleen. The asterisk or double asterisk indicates that there are significant differences ($p < 0.05$ or $p < 0.01$)

C = control group Level of As₂O₃ in supplemented diet 0 mg/kg⁻¹

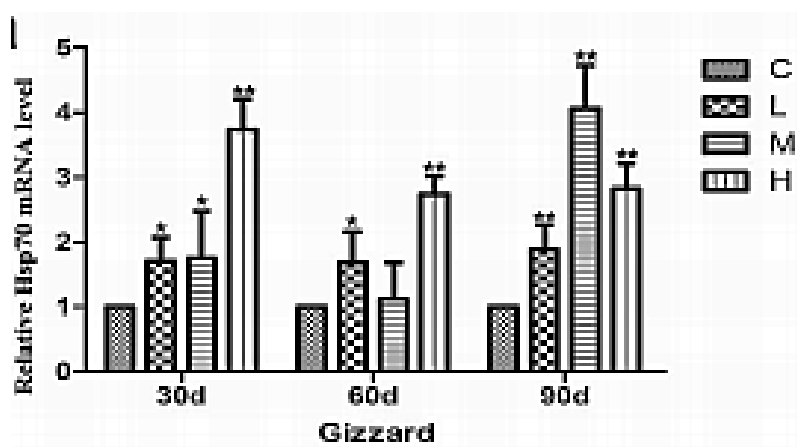
L = low-As group Level of As₂O₃ in supplemented diet 7.5 mg/kg⁻¹

M = Median-As group Level of As₂O₃ in supplemented diet 15 mg/kg⁻¹

H = High-As group Level of As₂O₃ in supplemented diet 30 mg/kg⁻¹

ที่มา: (Guo et al., 2015)

อย่างไรก็ตาม Zhao et al., (2015) รายงานว่าระดับการแสดงออกของ mRNA ของ Hsp70 ในเนื้อเยื่ออื่นเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ทุกระดับ (7.5, 15, และ 30 mg/kg^{-1}) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ or $p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทุกช่วงวันที่เก็บตัวอย่าง ยกเว้น กลุ่มที่เสริม As_2O_3 ที่ระดับ 15 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 60 วัน นั้นมีระดับการแสดงออกของ mRNA ของ Hsp70 ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และพบความสัมพันธ์ในทิศทางบวกของปริมาณการเสริม As_2O_3 กับระดับ mRNA ของ Hsp70 ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเสริม As_2O_3 เป็นเวลา 30 วัน เท่านั้น แต่เมื่อเสริม As_2O_3 เป็นเวลา 60 และ 90 วัน ไม่มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกระหว่างปริมาณการเสริม As_2O_3 และระดับ mRNA ของ Hsp70 อย่างไรก็ตามเมื่อเสริม As_2O_3 เป็นเวลา 90 วัน พบว่ากลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับ (7.5, 15 และ 30 mg/kg^{-1}) มีระดับการแสดงออก mRNA ของ Hsp70 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3. Effects of As_2O_3 on the Hsp70 mRNA level in Gizzard. The asterisk or double asterisk indicates that there are significant differences ($p < 0.05$ or $p < 0.01$)

C = control group Level of As_2O_3 in supplemented diet 0 mg/kg^{-1}

L = low-As group Level of As_2O_3 in supplemented diet 7.5 mg/kg^{-1}

M = Median-As group Level of As_2O_3 in supplemented diet 15 mg/kg^{-1}

H = High-As group Level of As_2O_3 in supplemented diet 30 mg/kg^{-1}

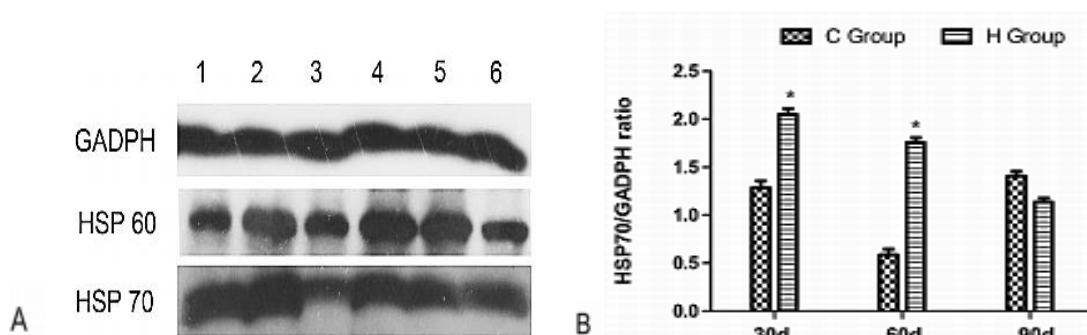
ที่มา: (Zhao et al., 2015)

จากรายงานของ Zhang et al., (2015) และ Guo et al., (2015) พบว่าระดับ mRNA ของ Hsp70 ในเนื้อเยื่อตับ และม้ามไก่ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามระดับที่เสริม As_2O_3 และช่วงเวลาเดียวกันที่เก็บตัวอย่าง (30, 60 และ 90 วัน) ทั้งนี้เป็นเพราะ As_2O_3 เป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา oxidative stress เป็นปฏิกิริยาในระดับเซลล์ที่ทำให้เกิดความผิดปกติจากภายในเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย ตลอดจน

ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ และกระบวนการชีวภาพในร่างกายสัตว์และทำให้เกิดโรคได้ ดังนั้น การที่สัตว์ได้รับ As_2O_3 เป็นระยะเวลานานๆ จะส่งผลกระทบต่อระดับ mRNA ของ Hsp70 ที่สูงขึ้นด้วย (Li et al., 2009 อ้างโดย Zhao et al., 2015) อย่างไรก็ตาม ตามที่มีรายงานการศึกษาในส่วนของการเนื้อเยื่ออื่น แสดงให้เห็นว่าระดับการแสดงออกของ mRNA ของ Hsp70 เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ทุกระดับ (7.5, 15 และ 30 mg/kg^{-1}) เป็นเวลา 30, 60 และ 90 วัน ที่เก็บตัวอย่าง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่พบว่า Hsp70 เป็นโปรตีนที่บ่งชี้ความเครียดของยีนเป็นโมเลกุลโปรตีนตัวสำคัญในขั้นตอนการสังเคราะห์โปรตีนที่ระดับ mRNA ของ Hsp70 ยังสูงอยู่หมายถึงเซลล์ยังคงอยู่ในสภาวะที่ไม่ปกติหรือได้รับความเสียหายเพราะสัตว์ได้รับ As_2O_3 เข้าไปเป็นระยะเวลานานจึงทำให้ระดับการแสดงออก mRNA ของ Hsp70 เพิ่มขึ้นและคงอยู่เป็นระยะเวลานานเช่นกันเพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์ถูกทำลายหรือได้รับความเสียหายจาก As_2O_3 (Razo et al., 2001 ; Tsan et al., 2009 อ้างโดย Zhao et al., 2015) อย่างไรก็ตาม กลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับ 15 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 60 วัน มีระดับการแสดงออก mRNA ของ Hsp70 ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งพบรายงานการได้รับ Oral- As_2O_3 ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้เล็กน้อย และอาการอาหารไม่ย่อยเป็นประจำซึ่งชี้ให้เห็นว่า As_2O_3 มาพร้อมกับอาหารที่สัตว์กินผ่านมายังระบบทางเดินอาหารจึงสามารถสะสมตามอวัยวะที่มีหน้าที่ย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร หนึ่งในนั้นคือตับ อย่างไรก็ตาม ระดับการแสดงออก mRNA ของ Hsp70 ในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับ 15 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 60 วัน ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั้นยังเป็นตัวบ่งชี้ความอยู่รอดของเซลล์ในเนื้อเยื่ออื่นเมื่อเป็นบริเวณที่ได้รับ As_2O_3 โดยตรงซึ่งพบว่ากิ้งมีประสิทธิภาพในการตอบสนองเพื่อต่อต้านสภาวะความเครียดจาก As_2O_3 ที่ลดลง (Au et al., 2003 ; Lu et al., 2002 อ้างโดย Au et al., 2008) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่ากิ้งเป็นอวัยวะในระบบทางเดินอาหารที่ไม่มีหน้าที่หลั่งสารมาทำลายสารพิษจาก As_2O_3 ซึ่งหมายถึงการต้านทานพิษจาก As_2O_3 ของกิ้งมีแนวโน้มลดลง และได้รับความเสียหายในระดับเซลล์มากขึ้น (Zhao et al., 2015)

ผลของการเสริม As_2O_3 ในอาหารต่อระดับโปรตีนชนิด Hsp70 ในอวัยวะภายในไก่เพศผู้

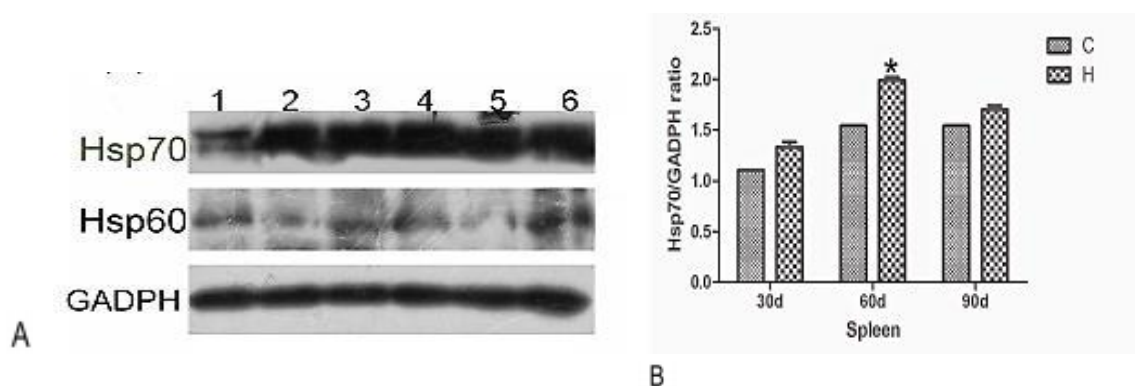
Zhang et al., (2015) รายงานว่าระดับการแสดงออกของโปรตีนชนิด Hsp70 ในเนื้อเยื่อตับเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 30 และ 60 วัน ของการเก็บตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทางกลับกัน กลุ่มที่เสริม As_2O_3 เป็นเวลา 90 วัน มีระดับการแสดงออกของโปรตีนชนิด Hsp70 ที่ลดลงในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4. Effects of As_2O_3 on the protein expression levels of GAPDH and Hsp70 in Liver of male chickens. A: Numbers 1, 3 and 5 represents Control groups at 30 , 60 and 90 days, respectively. Numbers 2, 4 and 6 represents As_2O_3 high groups level of 30 mg/kg^{-1} at 30 , 60 and 90 days, respectively.) B: Hsp70 GAPDH ratio. The asterisk indicates that there were significant differences ($p<0.05$) between the C group and the H group at the same time point Each value represents the mean $\pm$ SD of six individuals.

ที่มา: Zhang et al., (2015)

Guo et al., (2015) แสดงให้เห็นว่าระดับการแสดงออกของโปรตีนชนิด Hsp70 ในเนื้อเยื่อ้ามเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 60 วัน ของการเก็บตัวอย่างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม ระดับการแสดงออกของโปรตีนชนิด Hsp70 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 30 และ 90 วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 5)

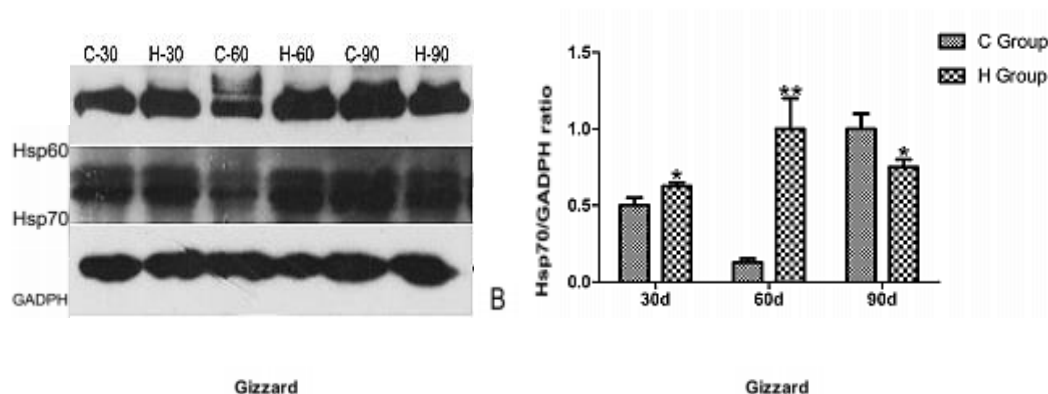


ภาพที่ 5. Effects of As_2O_3 on the protein expression levels of GAPDH and Hsp70 in Spleen of male chickens. A: Numbers 1, 3 and 5 represents Control groups at 30, 60 and 90 days, respectively. Numbers 2, 4 and 6 represents As_2O_3 high groups level of 30 mg/kg^{-1} at 30 , 60 and 90 days, respectively.) B: Hsp70 GAPDH ratio. The asterisk indicates that there were significant differences ($p<0.05$) between the C group and the H group at the same time point Each value represents the mean $\pm$ SD of six individuals.

ที่มา: Guo et al., (2015)

สอดคล้องกับ Zhao et al., (2015) รายงานว่า ระดับการแสดงออกของโปรตีนชนิด Hsp70 ในเนื้อเยื่ออื่นเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ในระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 30 และ 60 วัน ของการเก็บตัวอย่างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทางกลับกัน

กลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับ 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 90 วัน มีระดับการแสดงออกของโปรตีนชนิด Hsp70 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6. Effects of As_2O_3 on the protein expression levels of GADPH, Hsp60 and Hsp70 in Gizzard of male chickens. A: Numbers 1, 3 and 5 represents Control groups at 30, 60 and 90 days, respectively. Numbers 2, 4 and 6 represents As_2O_3 high groups level of 30 mg/kg^{-1} at 30, 60 and 90 days, respectively.) B: Hsp70 GADPH ratio. The asterisk indicates that there were significant differences ($p<0.05$) between the C group and the H group at the same time point Each value represents the mean $\pm$ SD of six individuals.

ที่มา : (Zhao et al., 2015)

จากรายงานของ Guo et al., (2015) และ Zhao et al., (2015) ที่ศึกษาระดับโปรตีนชนิด Hsp70 ในเนื้อเยื่อ้าม และเนื้อเยื่ออื่น พบว่าในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 60 วัน มีระดับโปรตีนชนิด Hsp70 สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ระดับการแสดงออกของโปรตีนชนิด Hsp70 สูงสุดเป็นเพราะว่า Hsp70 เป็นโปรตีนชนิดที่ป้องกันและตอบสนองต่อผลกระทบจาก As_2O_3 (Guo et al., 2015) ซึ่งนอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ระดับ Hsp70 ที่เพิ่มขึ้นในเซลล์ไตของตัวอ่อนมนุษย์ที่ได้รับ $NaAsO_2$ ทำให้ระดับ Hsp70 เพิ่มขึ้น (Zhu et al., 2014 อ้างโดย Guo et al., 2015) อย่างไรก็ตาม ยังมีรายงานการศึกษาระดับโปรตีนชนิด Hsp70 ในเนื้อเยื่อตับ ที่พบว่าการเสริม As_2O_3 ที่ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 30 วัน มีระดับโปรตีนชนิด Hsp70 สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม เป็นเพราะว่า Hsp70 ทำหน้าที่รักษาเสถียรภาพและช่วยเพิ่มการปรับตัวของร่างกายเมื่อเผชิญหน้ากับความเครียดภายใต้สภาวะที่ได้รับความเป็นพิษเฉียบพลันและเรื้อรังจาก As_2O_3 (Dix et al., 1997; Novoselova et al., 2006 ; Edwards et al., 1992 อ้างโดย Zhang et al., 2015) อย่างไรก็ตามการเสริม As_2O_3 ที่ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 90 วัน ทำให้ระดับ Hsp70 ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเนื้อเยื่ออื่น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติในเนื้อเยื่อตับ (Zhang et al., 2015 ; Zhao et al., 2015) ทั้งนี้ยังเป็นหนึ่งในอวัยวะที่สำคัญที่สุดทำหน้าที่ในการสร้างเอ็นไซม์ สลายเซลล์เม็ดเลือดแดง และกำจัดสารพิษในร่างกายสัตว์จึงมีผลต่อการลดลงของ ระดับ Hsp70 ที่ไม่มากนัก แตกต่างจากกิ่นที่มีอวัยวะที่สามารถหลั่ง

สารหรือสร้างผลผลิตออกมาเพื่อป้องกันสารพิษ ดังนั้น ระดับ Hsp70 จึงลดลงมากกว่า (Chen et al., 2014; Tsuda et al., 1987 อ้างโดย Zhang et al., 2015) และเพราะระดับ Hsp70 เป็นตัวบ่งชี้ว่าตับและกึ๋นได้รับความเสียหายโดยสารพิษจาก As_2O_3 ซึ่งเป็นสัญญาณของการเสื่อมสภาพของ Hsp70 ภายในเซลล์ (Zhang et al., 2015) อย่างไรก็ตามยังมีรายงานการศึกษาระดับ Hsp70 ในเนื้อเยื่อม้ามพบว่าในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ที่ระดับ 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 90 วัน มีแนวโน้มของ ระดับโปรตีนชนิด Hsp70 ที่เพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มควบคุม (Guo et al., 2015) เป็นเพราะม้ามเป็นอวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันซึ่งมีหน้าที่สร้าง antibody ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมในร่างกายสัตว์ นอกจากนี้ Hsp70 เป็นหนึ่งในแซพเพอโลนโปรตีนประเภทที่มีหน้าที่ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidative stress ซึ่งเป็นปฏิกิริยาสำคัญของการเกิดโรคจากสารหนู ผลกระทบต่อเมแทบอลิซึมและกระบวนการทางชีวภาพต่างๆในร่างกายสัตว์ (Tsan et al., 2009; Ng et al., 2005 อ้างโดย Guo et al., 2015)

สรุป

การแสดงออกของ Hsp70 ในเนื้อเยื่อตับ ม้าม และกึ๋นของไก่เพศผู้เพิ่มขึ้นตามระดับการเสริม As_2O_3 ในอาหาร และระยะเวลาที่ได้รับ โดยระดับ mRNA ของ Hsp70 เพิ่มขึ้น ทุกระดับการเสริม As_2O_3 (7.5 , 15 และ 30 mg/kg^{-1}) กับในทุกช่วงเวลาที่ได้รับเสริม As_2O_3 เป็นเวลา 30, 60 และ 90 วัน อีกทั้งยังพบว่าระดับโปรตีน Hsp70 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 ระดับสูง 30 mg/kg^{-1} เป็นเวลา 30 และ 60 วัน แต่ไม่มีผลในกลุ่มที่เสริม As_2O_3 เป็นเวลา 90 วัน การเพิ่มขึ้นของ Hsp70 เป็นการปรับตัวในระดับเซลล์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จากปฏิกิริยา oxidative stress ซึ่งเป็นผลจากปัจจัยต่างๆ ทั้งภายนอกและภายใน ควรมีการศึกษาบทบาทของ Hsp70 ในวงการปศุสัตว์ให้มากขึ้น เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิต พัฒนาการป้องกันโรค การรักษาโรค และการปรับปรุงพันธุ์ปศุสัตว์ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- วิชาภรณ์ เลิศวีรพล .2017. “บทบาทของฮีทช็อกโปรตีน 70 ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของปศุสัตว์”.
- เชียงใหม่สัตวแพทยสาร.15 (1):1-14.
- Al-Aqil,A. and Zulkifli,I .2009. “Changes in heat shock protein 70 expression and blood characteristics in transported broiler chickens as affected by housing and early age feed restriction” .**Poult Sci.** 88 (7):1358–1364.
- AU,W.Y. and Kwong,Y.L .2008. “Arsenic trioxide: safety issues and their management”
- ActaPharmacol Sin.** 29 (3):296-30 4.
- Au, W.Y., Kumana, C.R., Kou, M., Mak, R., Chan, G.C. and Lam, C.W.2003.
- “Oral arsenic trioxide in the treatment of relapsed acute promyelocytic leukemia”
- .Blood.** 102 : 407–8.

- Bobkova,N.V., Evgen'ev,M., Garbuz,D.G., Kulikov,A.M., Morozov,A., Samokhin,A., Velmeshev,D., Medvinskaya,N., Nesterova,I., Pollock,A. and Nudler,E .2015. “Exogenous Hsp70 delays senescence and improves cognitive function in aging mice” .**ProcNatlAcadSci USA**. 112 :160 06-160 11.
- Bukau,B., Deuerling,E., Pfund,C. and Craig,E.A .2000. “Getting newly synthesized proteins into shape” .**Cell**. 101 :119-122.
- Cervantes,C., Ji,G. and Ramirez,J.L .1994. “Resistance to arsenic compounds in microorganisms” .**FEMS Microbiol Rev**. 15 :355–367.
- Chen, C.J .2014. “Health hazards and mitigation of chronic poisoning from arsenic in drinking water: Taiwan experiences” .**Rev Environ Health**. 29 :13–19.
- Dick,L., Parker., L.A. and Mauro, M.A .1990. “Chronic arsenic poisoning as a cause of increased hepatic density with CT” .**J Comput Assist Tomogr**. 14:828–829.
- Dix, D.J .1997. “Hsp70 expression and function during gametogenesis” .**Cell Stress Chaperones**. 2 :73–77.
- Del Razo,L.M., Quintanilla-Vega,B. and Brambila-Colombres,E. .2001. “Stress proteins Induced by arsenic” .**ToxicolApplPharmacol**. 177 (2):132–148.
- Duker ,A.A. ,Carranza ,E,J,M. andHale ,M .2005. “Arsenic geochemistry and health” .**Environ Int**. 31 :631–641.
- Edwards, D.P., Estes, P.A., Fadok, V.A., Bona, B.J., Onate, S., Nordeen, S.K. and Welch WJ .1992. “Heat shock alters the composition of heteromeric steroid receptor complexes and enhances receptor activity in vivo” .**BIOCHEMISTRY-US**. 31:2482–2491.
- Enterline,P.E., Day,R. and Marsh,G.M .1995. “Cancer related to exposure to arsenic at a copper smelter” .**Occup Environ Med**. 52 :28–32.
- Flohe,S., Dominguez,F.E., Ackermann,M., Hirsch,T. ,Borgermann,J. and Schade,F.U .1999. “Endotoxin tolerance in rats: expression of TNFalpha, IL-6, IL-10, VCAM-1 and HSP 70 in lung and liver during endotoxin shock” .**Cytokine**. 11 :796–804.
- Gochfeld,M .1995. “Chemical agents. In: Environmental medicine” .**St. Louis: Mosby**. ,pp :592–614.
- Guo,Y., Zhao,P., Guo,G., HU,Z., Tian,L., Zhang,K., Sun,Y., Zhang,X., Zhang,W. and Xing,M .2015. “Effects of Arsenic Trioxide Exposure on Heat Shock Protein Response in the Immune Organs of Chickens” .**Biol Trace Elem Res**.

- Hartl,F.U. and Hayer-Hartl,M .2002.“Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein” .**Science**. 295 :1852-1858.
- Iwama,G.K., Thomas,P.T., Forsyth,R.J.B. and Vijayan,M.M .1998. “Heat shock protein expression in fish” .**Rev Fish Biol Fish**. 8 :35–56.
- Kumar, S.,Stokes, J., Singh, U.P., Scisum Gunn,K., Acharya, A., Manne, U. and Mishra, M., .2016. “Targeting Hsp70: A possible therapy for cancer” .**Cancer Lett**. 374 :156-166.
- Kumana,C.R., Au,W.Y., Lee,N.S., Kou,M., Mak,R.W. and Lam,C.W .2002.“Systemic availability of arsenic from oral arsenic-trioxide used totreat patients with hematological malignancies” .**Eur J Clin Pharmacol**. 58 : 521–6.
- Kwong,Y.L. and Todd,D .1997.“Delicious poison: arsenic trioxide for the treatment of leukemia” .**Blood**. 89 : 3487–8.
- Li,J.,Qian,X. and Sha,B .2009.“Heat shock protein 40: structural studies and their functional implications” .**Protein PeptLett**. 16 (6):60 6–612.
- Lu, D.P., Qiu, J.Y., Jiang B., Wang, Q., Liu, K.Y., Liu, Y.R.2002.“Tetra-arsenic tetra-sulfde for the treatment of acute promyelocytic leukemia: a pilot report” .**Blood**. 99 : 3136–43.
- Ng, J.C., Wang, J.P. and Zheng, B .2005.“Urinary porphyrins as biomarkers for arsenic exposure among susceptible populations in Guizhou province, China” .**Toxicol Appl Pharmacol**. 206 :176–184.
- Novoselova, E.G., Glushkova, O.V., Cherenkov, D.A., Parfenyuk,S.B., Novoselova, T.V, Lunin S.M., Khrenov, M.O., Guzhova, I.V., Margulis, B.A. and Fesenko, E.E .2006. “Production Of heat shock proteins, cytokines, and nitric oxide in toxic stress” .**Biochemistry (Mosc)**. 71 :376–383.
- Razo,L.M.D.,Vega,B.Q.,Colombres,E.B. and Aranda, E.S.C .2001.“Stress proteins induced by arsenic” .**Toxicol Appl Pharmacol**. 177:132–148.
- Rijk,A.F.V. and Bloemendal ,H .2000.“Alpha-B-crystallin in neuropathology” .**Ophthalmology**. 214 :7–12.
- Schutte,A., Topp,S.A., Knoefel,W.T., Brilloff,S., Mueller,L., Rogiers,X. and Gundlach, M .2001. “Influence of Ginkgo Biloba extract (EGB 761) on expression of EGR-1 mRNA and HSP-70 mRNA after warm ischemia in the rat liver” .**Transplant Proc**. 33 :3724– 3725.
- Shen,Z.X., Shi ,Z.Z., Fang,J., Gu,B.W., Li,J.M. and Zhu,Y.M .2004.“All-*trans* retinoic in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia” .**Proc NatlAcad Sci USA**. 101 :5328–35.

- Squibb, K.S. and Fowler, B.A. .1983. "Biological and environmental effects of arsenic ,
Chap 7. In: Fowler BA (ed) The toxicity of arsenic and its compounds"
.Elsevier Science. , pp :233–269.
- Tsan, M.F. and Gao, B. .2009. "Heat shock proteins and immune system"
.J Leukoc Biol. 85 :90 5–910.
- Tsuda, T., Kume, Y., Yamamoto, M., Nagira, T. and Aoyama, H. .1987. "A case of lung cancer
associated with chronic arsenic poisoning caused by neighborhood exposure of
As₂O₃ from Toroku mine" .Sangyo Igaku. 29 :222–223.
- Young, R.A. .1990. "Stress proteins and immunology" .Annu Rev Immunol. 8 :401–420
- Yurinskaya, M., Zatsepina, O.G., Vinokurov, M.G., Bobkova, N.V., Garbuz, D.G., Morozov, A.V.,
Kulikova, D.A., Mitkevich, V.A., Makarov, A.A., Funikov, S.Y. and Evgen'ev, M.B. .2015.
"The Fate of Exogenous Human HSP70 Introduced into Animal Cells by Different
Means" .Curr Drug Deliv. 12 :524–532.
- Zhang, K., Zhao, P., Guo, G., Guo, Y., Li, S., He, Y., Sun, X., Chai, H., Zhang, W.
And Xing, M. .2015. "Arsenic Trioxide Exposure Induces Heat Shock Protein Responses
in Cock Livers" .Biol Trace Elem Res.
- Zhao, P., Zhang, K., Guo, G., Sun, X., Chai, H., Zhang, W. and Xing, M. .2015. "Heat Shock
Protein Alteration in the Gastrointestinal Tract Tissues of Chickens Exposed to
Arsenic Trioxide" .Biol Trace Elem Res.
- Zhu, X.N., Chen, L.P. and Bai, Q. .2014. "PP2A-AMPL alpha-HSF1 axis regulates the metal
Inducible od on expression HSPs and ROS clearance" .Cell Signal. 26 (4):825–832.