بررسی ارتباط میان هورمون های تیروئیدی،برخی آنزیم های آنتی اکسیدان و عناصر کمیاب سرم خون گوسفند های نژاد مهربان

نظیفی، س.[۱*]، پیله وریان، ع.ا.[۲]، جلائی، ج.[۳]

دریافت: ۱۳۸۸/۵/۲۷ پذیرش: ۱۳۸۸/۸/۲۴

خلاصه:

عناصـر کمیاب به میزان کم در بدن یافت می شـوند، اما برای فعالیت سیسـتم های آنزیمـی موثر در فرآیندهای متابولیکی ضروری می باشـند. هورمون های تیروئیدی به عنوان تنظیم کننده های مهم متابولیسـم می توانند تحت تاثیر تغییرات عناصر کمیاب و فعالیت آنزیم های آنتی اکسـیدان قرار گیرند. بدین منظور ارتباط احتمالی میان آنزیم های آنتی اکسـیدان سـوپر اکسید دیسموتازSOD و گلوتاتیون پراکسـیداز GPX، هورمون های تیروئیدی و عناصر کمیاب در ۱۰۰ راس گوسـفند خشـک یک شکم زایش غیر آبستن از نژاد مهربان بررسی گردید. پس از خونگیری از ورید وداج و جدا سـازی سـرم، هورمون های تیروئیدی شامل تیروکسین(T_4)، تری یدوتیرونین(T_3)، عناصر کمیاب شامل سلنیم، مس، روی، منگنز و آهن و فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز اندازه گیری شـدند. آزمون همبسـتگی پیرسون نشان داد که بین غلظت سرمی منگنز و هورمون T_4 ($p \geq ۰/۰۱$; $r = ۰/۲۶۰$) و میزان مس وآهن سـرم($p \leq ۰/۰۱$; $r = ۰/۲۲۴$) همبسـتگی مثبت معنی دار وجود دارد. بدین معنی که با افزایش غلظت هورمون T_4 غلظت منگنز سرم نیز افزایش می یابد. همچنین با افزایش میزان مس سطح سرمی آهن افزایش می یابد. همبسـتگی منفی معنی داری میان آنزیم GPX و هورمون T_3($p > ۰/۰۵$; $r = -۰/۲۰۱$) مشـاهده شد. به این معنی که با افزایش هورمون T_3، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز(GPX)کاهش می یابد. همبستگی های

۱- گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲ - دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران
۳ - دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران
*نویسنده مسئول:nazifi@shirazu.ac.ir

معنی دار مشاهده شده میان میزان برخی عناصر کمیاب و هورمون های تیروئیدی می تواند به دلیل نقش کلیدی عناصر کمیاب در فعالیت آنزیم های متابولیکی باشد. افزون بر این، افزایش هورمون T_3 همراه با کاهش فعالیت آنزیم GPX می تواند عاملی برای افزایش پراکسیداسیون چربی ها باشد.

واژه هـای کلیـدی: هورمون های تیروئیدی، سـوپر اکسـید دیسـموتاز، گلوتاتیـون پراکسـیداز، عناصر کمیاب ،سرم،گوسفند نژاد مهربان

مقدمه

هورمون های تیروئیدی نقش مهمی در رشـد، تقسیم سلولی و تنظیم متابولیسم پایه بدن دارند. تاکنون نقش هورمون های تیروئیدی و ارتباط آن با متابولیسم برخی ترکیبات شناخته شده اسـت. به عنوان مثال ارتباط هورمون های تیروئیدی با چربی های خون؛ به طوری که در کم کاری غدهٔ تیروئید غلظت چربی های خون به ویژه کلسترول، افزایش می‌یابد.

عناصر کمیاب، عناصری هسـتند کـه میزان آنها در بدن کم بوده و برای سیستم های آنزیمی فعال در بسیاری از فرایندهای متابولیکـی ضروری هسـتند. از جمله این عناصـر می‌توان به سـلنیم، مس، روی، آهن، منگنز و ... اشاره نمود. کمبود، فقدان و افزایش عناصر کمیاب می‌تواند سـبب بروز خسـارات جبران ناپذیر گردد (Josef ۱۹۹۹).

آنتی اکسـیدان ها اثـرات تخریبی رادیکال هـای آزاد را به حداقل رسـانده و از سلول های بدن در برابر آسیب های ناشی از ایـن رادیکال ها محافظت می کنند. از جمله این رادیکالهای آزاد، یون پراکسـید ناپایدار و فعال اسـت کـه در خلال احیای مونووالات اکسیژن پدید می آید و منجر به آسیب های غشای سـلولی در سـلول های مصرف کننده اکسیژن می شود. برای از بین بردن سـمیت اکسیژن فعال، طیف وسـیعی از مکانیزم های دفاعی بدن از جمله آنزیم سوپراکسـید دیسموتاز (SOD) بر علیه اکسـیدانت هـا فعال می شـوند (Nielsen و Milne ۱۹۹۳). جایگاه SOD در سـیتوزول بیشتر بافت های بدن می باشـد. نقش آنزیم سوپراکسید دیسـموتاز در متابولیسم برخی عناصر کمیاب شناخته شـده است، هر چند این شناخت نسبی بوده و همچنان نیازمند تحقیقات بیشـتری می‌باشد. گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) تبدیل پراکسـید هیدروژن به آب را کاتالیز مـی کند. همچنین بر روی پراکسـیدهای آلـی اثر می گذارد. این توانایی گلوتاتیون پراکسـیداز نشـان دهندهٔ نقش مهم این آنزیم در حفاظت ساختارهای حیاتی سلول، مانند غشای سلولی و ماکرومولکول های دیگر از آسـیب اکسـیداتیو است.سلنیوم کوفاکتور ضروری برای گلوتاتیون پراکسـیداز موجود در گلبول های قرمز است و به شکل ترکیب شده با این آنزیم وجود دارد. بنابراین کمبود سـلنیوم مـی تواند به کمبود ایـن آنزیم منجر شـود که این سبب می شود حساسیت گلبولهای قرمز به آسیب ناشی از عوامل اکسیدان افزایش یابد. در نتیجه گلبولهای قرمز سـریعتر به مرحله پیری رسیده و میزان شکنندگی آنها افزایش می یابد.

Ferrnandes و همکاران در سال ۱۹۸۸ اظهار داشتند که در مبتلایان به هیپرتیروئیدیسم افزایش استرس اکسیداتیو کبدی با کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی سلول همراه است.

Sosenko و همکاران در سـال ۱۹۸۹ اظهار داشتند که پس از تجویز هورمون های تیروئیدی به موش های آبستن، فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان ریه جنین کاهش می یابد.

Pereira و همـکاران در سـال ۱۹۹۴ اثـرات هیپـو و هیپرتیروئیدیسـم را بر روی فعالیت‌های سوپراکسـید دیسموتاز (SOD)، کاتـالاز (CAT) و گلوتاتیـون پراکسـیداز (GPX) در اعضـای لنفاوی موش بررسـی کردند و اظهار داشـتند که هیپرتیروئیدیسم میزان پراکسیداسیون چربی ها را در تمام بافت ها افزایش می دهد و هورمون های تیروئیدی می توانند فعالیت های آنزیم های سوپراکسـید دیسـموتاز، کاتـالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در بافتهای لنفاوی و عضلانی بدن تنظیم نمایند.

بررسی منابع موجود نشان می دهد که تاکنون در زمینه ارتباط

آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز ،گلوتاتیون پراکسیداز ، هورمون های تیروئیدی و عناصر کمیاب سرم خون گوسفند های ایرانی تحقیقی انجام نشده است.

هـدف از پژوهش حاضر بررسـی ارتباط میـان آنزیم های SOD، GPX، هورمون های تیروئیدی و عناصر کمیاب سـرم خون گوسفند نژاد مهربان است.

مواد و روش کار:

برای انجام این تحقیق و اخذ نمونه تعداد ۱۰۰ رأس گوسـفند خشـک یک شـکم زایش غیر آبسـتن از نژاد مهربان متعلق به واحد دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز علامت گذاری گردیدنـد. بعـد از انجام معاینـات بالینی و اطمینان از سـلامت حیوانات با رعایت تمامی شرایط سترونی از ورید و وداج آنها یکبار خونگیری بعمل آمد. نمونه های اخذ شـده بلافاصله در دو سری لوله، یکی لوله آزمایش بدون ماده ضد انعقاد برای سنجش برخی عناصـر کمیاب و هورمون های تیروئیدی سـرم و دیگری لوله هـای حاوی ماده ضد انعقاد EDTA برای اندازه گیری فعالیت SOD و GPX جمع آوری شـدند. پس از لخته شـدن خون در لوله‌های آزمایش بدون ماده ضد انعقاد، نمونه ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفتند. پس از آن سرم نمونه‌ها جدا گردید و به لوله‌های تمیز منتقل و در برودت ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

اندازه گیری عناصر کمیاب:

سـلنیم، مس، روی و منگنز و آهن بـه روش جذب اتمی، با اسـتفاده از دسـتگاه Shimadzu مدل AA-۶۷۰ ساخت کشور ژاپن در آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شـیراز اندازه‌گیری شدند.پس از خارج کردن نمونه های سرمی از انجماد، مقدار ۰/۵ میلی لیتر سرم با ۰/۵ میلی لیتر از مخلوط اسـید نیتریک و اسید پرکلریدریک (به نسبت ۷:۳) در لوله‌های مـدرج ۱۰ میلی لیتری مخلوط شـدند. بمنظور هضم سـرم و آزادسـازی عناصر نمونه ها در ۲ روز متوالی بمدت ۸ سـاعت (جمعاً ۱۶ ساعت) در حمام آب گرم ۸۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پـس از انجام عملیات هضم، کاهش حجم ایجاد شده بمنظور دانستن ضریب رقت، با آب مقطر فاقد یون جبران گردید. نمونه های آماده شـده در حمام آب گرم قرار داده شدند تـا دوباره گرم گردیده و ذرات چربی در نمونه حل گردند که در حین اندازه گیـری در لوله های ارتباطی دسـتگاه جذب اتمی ایجاد مشـکل ننمایند. شـایان ذکر اسـت نمونه های مربوطه جهت اندازه گیری عناصر کمیاب قبل از قرائت توسـط دستگاه با آب فاقد یون ۱۰ برابر رقیق گردیدند.

سنجش هورمون های تیروئیدی (T_3وT_4):

هورمون هـای تیروئیدی T_3 و T_4 به روش رادیوایمنواسـی (RIA) بـا اسـتفاده از دسـتگاه شمارشـگر گاماGamma counter در آزمایشگاه تخصصی هورمون شناسی بیمارستان نمازی شیراز اندازه گیری شدند. در روش RIA هورمون های T_3 و T_4 با اسـتفاده از کیت کمپانی اوریون اسـکپتریا Orion Spectria سـاخت کشور فنلاند سـنجش گردید. در سنجش T_4، بـه ۲۰ میکرولیتـر از نمونه های سـرم، ۰/۵ میلی لیتر از ماده رادیواکتیو T_4 اضافه شـده و ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهـداری می شـد. پـس از خالی کردن محتویـات لوله ها و دکانتـه نمودن آنها و جذب سـطحی رادیواکتیـو اضافه میزان رادیواکتیویته لوله ها در دستگاه شمارشگر گاما قرائت شده و با توجه به منحنی استاندارد رادیواکتیو میزان هورمون نمونه های سرم بصورت اتوماتیک توسط دستگاه تعیین می‌گردید. لازم به یادآوری اسـت که در روش RIA میزان رادیواکتیویته لوله ها نسبت معکوس با میزان هورمون در نمودار دارد.

برای سـنجش T_3 نیز از کیت های همین شـرکت اسـتفاده گردیـد ولی حجم نمونه سـرمی مورد اسـتفاده ۵۰ میکرولیتر انتخـاب می شـد. پـس از اضافه کـردن ۰/۵ میلـی لیتر T_3 رادیواکتیویتـه لوله در حـرارت ۳۷ °C بمدت ۲ سـاعت قرار داده می شـد. پس از دکانتاسیون لوله ها و جذب سطحی لوله هـا میزان رادیواکتیویته لوله در دسـتگاه فـوق تعیین گردید و با توجه به منحنی اسـتاندارد، میزان T_3 خوانده شد.سـاختمان بیوشیمیایی هورمون های تیروئیدی به گونه ای است که کیت های انسانی براحتی و با دقت بالا به نمونه های حیوانی جواب می دهند. با وجود این نکته این کیتها برای نمونه های حیوانی نیز اعتبار بخشـی شـده اند. در این مورد برای T_4 تام ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون با استفاده از سطح متوسط

۸ نمونــه تکرار به ترتیب ۶/۸۱ و ۸/ ۸ و برای T_3 تام ضریب تغییرات مزبور به ترتیب ۳/۶ و ۷/۵۹ محاسبه گردیدند.

انــدازه گیــری فعالیت ویــژه آنزیم سوپراکســید دیسموتاز:

این آنزیم توســط کیت رانســود Ran SOD Kits Randox Lab,Crumlin, Northe Irelandبراســاس روش McCord وFridovich (۱۹۶۹) اندازه‌گیــری گردیــد. اثــر آنزیــم سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، خنثی کردن رادیکال های سمی سوپراکسید تولید شده طی واکنش های انرژی زای، اکسیداتیو و تبدیل آنها به هیدروژن پراکسید و اکسیژن مولکولی می‌باشد. در این روش از زانتین Xanthine و زانتین اکســیداز (Xanthine oxidase)، برای تولید رادیکال های سوپراکسید استفاده گردید. این رادیکال های تولید شده با ماده ای موسوم به آی ـ ان ـ تی (INT) (۲-۴-یــد فنیل، ۳-۴-نیتروفنیل و ۵- فنیل تترازولیوم کلرایــد)، که در کیت موجود بود، واکنش داده و ماده قرمز رنگی موســوم به رد فرمازن دای(Redformazen dye) تولید کرد، سپس میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از طریق اندازه گیــری درصد مهار انجام این واکنش تعیین گردید. یک واحد از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی است که توانائی مهار ۵۰ درصد از سرعت احیاء ماده INT را در شرایط آزمایش دارد.

اندازه‌گیــری فعالیــت ویــژه آنزیــم گلوتاتیــون پراکسیداز:

فعالیت ویژه آنزیم GPX توسط کیت رانسل ساخت شرکت راندوکــس[1] اندازه‌گیــری شــد.آنزیم گلوتاتیــون پراکســیداز (GPX)، واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون احیاء شده (GSH) را بوســیله‌ی کیومن هیدروپراکسید[2]کاتالیز می‌کند. در حضور آنزیــم گلوتاتیــون ردوکتــاز (GR) و NADPH، گلوتاتیون اکســید شــده (GSSG) به فــرم احیا شــده (GSH) تبدیل می‌گــردد. کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شــود

اندازه گیری هموگلوبین تام:

هموگلوبین تام به روش ســیان مت هموگلوبین توســط کیت شرکت زیست شیمی اندازه گیری گردید.

روش آماری:

همبســتگی میان هورمــون هــای تیروئیدی،عناصر کمیاب و آنزیمهای آنتی اکســیدان SOD و GPX در خون گوسفندان نژاد مهربان با اســتفاده از آزمون آماری پیرســون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ســطح معنــی داری تفاوت ها معادل ۰/۰۵ ≥P در نظر گرفته شد.

نتــایــج:

نتایــج بدســت آمــده از بررســی میــزان هورمــون های تیروئیــدی ،(T_4, T_3عناصر کمیاب ســرم) روی ،مس ،آهن، منگنز و ســلنیم (و آنزیمهای آنتی اکســیدان گلبولهای قرمز SOD و GPX گوســفندان نژاد مهربان در جدول شماره ۱ ارائه شده است .همبستگی میان هورمونهای تیروئیدی ،عناصر کمیاب و آنزیم های آنتی اکسیدانSOD و GPX در خون گوسفندان نژاد مهربان در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

همبســتگی منفی معنی داری میان آنزیم GPX و هورمون T_3 مشــاهده شــد (r = −۰/۲۰۱؛ ≥۰P/۰۵). بــه این معنی که با افزایش هورمون T_3، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) کاهش می یابد. همبستگی مثبت معنی داری میان غلظت سرمی منگنز و هورمون T_4 مشاهده شد (r=۰/۲۶۰؛ ≥۰P/۰۱) به این معنی که با افزایش هورمون T_4، غلظت منگنز ســرم نیز افزایش می یابد.همبستگی مثبت معنی داری میان غلظت مس و آهن ســرم مشــاهده شد (r = ۰/۲۲۴ ؛ ≥۰P/۰۱). به این معنی که با افزایش غلظت مس سرم، غلظت آهن سرم نیز افزایش می‌یابد.

1- Ransel kit(Randox Labs, Crumlin, United Kingdom)

2- Cumene Hydroperoxide

پارامتر	میانگین	خطای معیار	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
T۳(nmol/L)	۱/۴۵	۰/۰۱۲	۰/۱۳	۱/۲۴	۱/۶۷
T۴(nmol/L)	۷۰/۸۵	۰/۵۴۸	۵/۴۸	۶۱/۶۳	۸۶/۸۱
روی (µmol/L)	۲۲/۷۸	۰/۲۵۷	۲/۵۷	۱۸/۱۱	۲۷/۹۱
مس (µmol/L)	۱۹/۲۸	۰/۱۳۴	۱/۳۴	۱۷/۱۳	۲۱/۸۴
آهن (µmol/L)	۱۴/۸۷	۰/۰۹۳	۰/۹۳	۱۲/۸۰	۱۶/۷۰
منگنز (µmol/L)	۳/۹۶	۰/۰۵۰	۰/۵۰	۳/۲۰	۴/۹۰
سلنیم(µmol/L)	۰/۱۶	۰/۰۰۲	۰/۰۱	۰/۱۲	۰/۲۰
SOD(IU/gHb)	۱۱۳۳/۳۵	۸/۳۷۱	۸۳/۷۱	۹۷۶/۰۰	۱۳۰۵/۰۰
GPX (IU/gHb)	۲۳۸/۷۸	۲/۶۵۷	۲۶/۵۷	۲۰۱/۱۹	۲۹۳/۱۴

جدول۱: میانگین،خطای معیار،انحراف معیار،حداقل و حداکثر میزان هورمونهای تیروئیدی (T۳,T۴)، عناصر کمیاب سرم (روی، مس، آهن، منگنز و سلنیم) و آنزیمهای آنتی اکسیدان گلبولهای قرمز (GPX, SOD) گوسفندان نژاد مهربان (۱۰۰ = n).

	$T_۳$(nmol/L)	$T_۴$(nmol/L)	روی(µmol/L)	مس(µmol/L)	آهن(µmol/L)	منگنز(µmol/L)	سلنیم(µmol/L)	SOD(IU/gHb)	GPX(IU/gHb)
$T_۳$(nmol/L)	۱								
$T_۴$(nmol/L)	-۰/۰۹۶	۱							
روی(µmol/L)	-۰/۱۰۷	۰/۰۳۷	۱						
مس(µmol/L)	۰/۱۴۷	-۰/۰۱۶	۰/۰۶۰	۱					
آهن(µmol/L)	۰/۱۱۴	۰/۰۳۵	-۰/۱۸۴	۰/۲۲۴*	۱				
منگنز(µmol/L)	۰/۰۸۸	۰/۲۶۰**	-۰/۰۶۶	۰/۰۰۱	۰/۰۵۹	۱			
سلنیم(µmol/L)	-۰/۰۵۰	۰/۱۵۳	۰/۱۸۴	۰/۰۸۵	-۰/۱۸۱	-۰/۰۹۹	۱		
SOD(IU/gHb)	-۰/۱۴۲	-۰/۰۲۷	۰/۰۶۳	-۰/۰۲۳	-۰/۰۸۹	۰/۰۷۲	-۰/۱۶۴	۱	
GPX(IU/gHb)	-۰/۲۰۱*	۰/۰۲۹	۰/۰۵۰	۰/۰۱۸	-۰/۱۴۳	-۰/۱۸۷	۰/۰۲۶	۰/۰۶۰	۱

جدول ۲: میزان همبستگی (r) میان هورمونهای تیروئیدی، عناصر کمیاب و آنزیم های آنتی اکسیدان SOD و GPX در خون گوسفندان نژاد مهربان (n =۱۰۰).

بحث:

در پژوهش حاضر همبستگی منفی معنی داری میان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و هورمون T_3 مشاهده شد ($r = -0/201$; $P \geq 0/05$). به این معنی که با افزایش هورمون T_3، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کاهش می یابد و بالعکس. باید توجه داشت که این همبستگی، همبستگی ضعیفی به شمار می آید بطوریکه با محاسبهٔ R^2 متوجه می شویم که تنها ۴ درصد تغییرات T_3 سرم ناشی از آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز است. برخی مطالعات موجود به همبستگی میان هورمون های تیروئیدی و فعالیت آنزیم GPX اشاره دارند Asayama و همکاران در سال ۱۹۸۷ بیان کردند که افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها در موش های مبتلا به هیپرتیروئیدیسم با افزایش متابولیسم اکسیداتیو و کاهش فعالیت GPX ارتباط تنگاتنگی دارد ($P \geq 0/05$). Mano و همکاران در ۱۹۹۵ نشان دادند که فعالیت GPX در موش های مبتلا به هیپرتیروئیدیسم در مقایسه با موش های طبیعی بیشتر است و افزایش نشان می دهد. علت اختلاف نتایج پژوهش حاضر با مطالعه Mano و همکاران در سال ۱۹۹۵ شرایط طبیعی گوسفندان مورد مطالعه در پژوهش حاضر و شرایط بیماری موش های مورد مطالعه (هیپرتیروئیدیسم) در تحقیق Mano و همکاران می باشد.

در پژوهش حاضر هیچگونه همبستگی معنی داری میان غلظت مس سرم و فعالیت آنزیم SOD گلبول های قرمز گوسفند های مهربان مشاهده نشد. یافته های متناقضی دربارهٔ رابطهٔ مس سرم و فعالیت SOD گلبول های قرمز وجود دارد. Andrewartha و Caple در سال ۱۹۸۰ گزارش کردند که در بره هایی که دچار کمبود مس هستند همبستگی خطی معنی داری میان فعالیت SOD و غلظت مس سرم وجود دارد. Humphries و همکاران در سال ۱۹۸۳ نیز بیان داشتند که در کمبود تجربی مس در گوساله، غلظت مس پلاسما و فعالیت SOD گلبول های قرمز هر دو شدیداً و سریعاً کاهش می‌یابند. Suttle و McMurray در سال ۱۹۸۳ گزارش کردند که بعد از کاهش مس پلاسما، فعالیت SOD گلبول‌های قرمز نیز کاهش می یابد. کاهش فعالیت SOD تنها در ۱۴ تا ۳۳٪ بره هایی که کمبود مس داشتند مشاهده گردید. در بره هایی که شدیدا" دچار کمبود مس بودند کاهش SOD بطور مشخصی مشهود بود.

Wooliams و همکاران در سال ۱۹۸۶ گزارش کردند در بره هایی که مکمل های غنی از مس دریافت کردند غلظت مس پلاسما و فعالیت SOD گویچه های قرمز بیشتر از بره‌هایی بود که چنین مکمل هایی را دریافت نکردند. Konstantinova و Russanov در سال ۱۹۸۸ بیان داشتند که در گوسفند تغییرات فعالیت SOD با تغییرات غلظت مس پلاسما هماهنگ است. Disilvestro و Marten در سال ۱۹۹۰ و Arthington و همکاران در سال ۱۹۹۶ معتقدند که اندازه گیری فعالیت SOD گلبول های قرمز نسبت به سنجش سرولوپلاسمین سرم شاخص بسیار بهتری برای وضعیت مس بدن است زیرا سرولوپلاسمین یک پروتئین فاز حاد است که در اثر واکنش های التهابی عفونی افزایش می یابد. بنابراین در حالتی که حیوان هم مبتلا به کمبود مس است و هم یک بیماری التهابی عفونی دارد ، غلظت سرولوپلاسمین سرم تقریباً در محدوده طبیعی قرار دارد، چون در اثر کمبود مس غلظت سرولوپلاسمین کاهش یافته و در اثر بیماری التهابی عفونی سرولوپلاسمین سرم افزایش یافته است، از اینرو تقریباً در محدوده طبیعی خواهد بود.

برخلاف نتایج تحقیقات فوق، در پژوهش حاضر هیچگونه همبستگی معنی داری میان غلظت مس سرم و فعالیت SOD گوسفندان مورد مطالعه بدست نیامد. البته می توان گفت فعالیت SOD با مس در سطح پایه وابستگی ندارد ولی در حالات کمبود مس یا زیادی مس این وابستگی ایجاد می‌شود. مشابه با نتایج این تحقیق، Smith و همکاران در سال ۱۹۸۳ گزارش کردند که در اسب هیچگونه ارتباطی میان فعالیت SOD گلبول های قرمز و غلظت مس پلاسما وجود ندارد. Tungtrongchitr و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که در انسان همبستگی منفی معنی داری میان غلظت مس سرم و فعالیت SOD گلبول های قرمز وجود دارد. به این معنی که با کاهش غلظت مس سرم فعالیت SOD گلبول های قرمز افزایش می‌یابد.

در پژوهش حاضر همبستگی معنی داری میان فعالیت SOD گلبول های قرمز و غلظت روی سرم گوسفندهای مهربان بدست نیامد. در مورد ارتباط فعالیت آنزیم SOD و غلظت روی سرم مقالهٔ منتشر شده ای بدست نیامد. Zowezak و همکاران در سال ۲۰۰۱ بیان داشتند که وجود روی برای توازن سیستم اکسیدانی ـ آنتی اکسیدانی بدن ضروری است. روی در حالت

سـلامت با فعالیت SOD گلبول های قرمز رابطه ای ندارد، اما با توجه به نقش SOD در سیسـتم آنتی اکسیدانی بدن، احتمال دارد در کمبـود روی فعالیت SOD گلبول های قرمز تحت تأثیر قرار گیرد. روی بواسـطه خاصیت الکترونگاتیوی در مقایسـه با آهن در واکنش Fenton-Haber wiess جای آهن را می گیرد و باعـث توقف این واکنش ها می‌شـود. نتیجه اینکه در کمبود روی $O2^-$ مصرف نمی شود و غلظت آن بالا می‌رود. غلظت زیاد $O2^-$در کوتاه مدت می تواند سـبب افزایش فعالیت SOD شود. همچنین سوبسترای زیادی در دسترس آنزیم قرار می گیرد. اما در دراز مدت به واسـطه مصرف آنزیم می تواند سـبب کاهش فعالیت آن شـود. چنانچه Brightope در سـال ۲۰۰۴ نیز بیان داشـت که آنزیم SOD برای اینکه فعالیت طبیعی خود را انجام دهد لازم است مقادیر کافی از روی در جیرهٔ غذائی وجود داشته باشـد. Dimitrova و همکاران در سـال ۲۰۰۵ بیان داشـتند کـه در موش هـای صحرائی که از جیـرهٔ غذایی حاوی مکمل روی اسـتفاده کرده اند فعالیت SOD گلبـول های قرمز تغییر می‌کند. این تغییر فعالیت SOD با تغییرات فشـار خون شریانی همبستگی معنی دار دارد. در پژوهش حاضر میان فعالیت SOD گلبول های قرمز و غلظت سـلنیوم سـرم گوسفندهای مهربان همبستگی معنی داری بدست نیامد. از میان آنزیم هایی که نقش آنتی‌اکسـیدانی دارند می توان از SOD و GPX نام برد. سلنیوم ارتباط بسـیار زیاد و تنگاتنگی با گلوتاتیون پراکسـیداز دارد، اما ارتباط سلنیوم با SOD چندان مشخص نیست (Fenton ۱۹۸۴ ; Oliver ۱۹۷۵).

Brightope در سال ۲۰۰۴ بیان داشت که احتمال وجود یک شـکل خاص از آنزیم SOD وجود دارد که وابسـته به سـلنیوم اسـت و کمبود سلنیوم می تواند منجر به کاهش فعالیت SOD شـود. در پژوهش حاضر میان فعالیت SOD گلبول های قرمز و غلظت منگنز سـرم گوسفندهای مهربان همبستگی معنی داری بدسـت نیامد. Masters و همکاران در سال ۱۹۸۸ بیان داشتند که یک آنزیم SOD وابسته به منگنز در داخل سلول های بدن وجود دارد اما تنها فعالیت SOD وابسـته به منگنز در قلب است که بطور معنی داری با دریافت و جذب منگنز همبسـتگی دارد. این محققین همانند نتایج پژوهش حاضر، رابطه ای میان فعالیت SOD گلبول های قرمز و غلظت منگنز سرم بدست نیاوردند در پژوهش حاضر همبستگی مثبت معنی داری میان غلظت سرمی منگنز و هورمون $T_۴$ سـرم مشـاهده شد (P ۰/ ۰۱ ≥ ; ۰/۲۶= r). به این معنی که با افزایش هورمون $T_۴$، غلظت منگنز سـرم نیز افزایش می یابد. با توجه به نقش بسـیار مهم هورمون های تیروئیدی به ویژه $T_۴$ در متابولیسـم کلی بدن و نقش منگنز در متابولیسـم و رشد، همبستگی به دست آمده میان غلظت T۴ و منگنز سرم هر چند ضعیف اما منطقی است. منگنز هم به عنوان فعـال کننده آنزیم و هم به عنـوان جزئی از متالوآنزیم ها نقش مهمی در متابولیسـم بدن دارد. بیش از ۳۰۰ آنزیم فعال شده با منگنز وجود دارد که شامل هیدرولازها، کینازها، دکربوکسیلازها و ترانسـفرازها می‌باشـند. در زمینه ارتباط منگنز با سایر عناصر کمیاب و هورمون های تیروئیدی در حیوانات گزارش چاپ شده ای بدست نیامد. علیرغم نقش مهم آهن در ساخت هموگلوبین و ارتباط تنگاتنگ آن با مس و سرولوپلاسمین تاکنون گزارشی در مورد ارتباط احتمالی آهن و فعالیت SOD منتشر نشده است. در این مورد Hamphries و همکاران در سال ۱۹۸۳ بیان داشتند که در اسـتفاده از جیره های غنـی از آهن فعالیت آنزیم SOD گلبول های قرمز کاهش می یابد. این تحقیق نشان می دهد که غلظت آهن سـرم با فعالیت SOD گلبول های قرمز همبستگی منفی معنی دار دارد که با نتایج پژوهش حاضر در گوسـفندهای مهربان همخوانی ندارد. با توجه به شرایط فیزیولوژیک یکسان در مورد گوسفند های مورد مطالعه، نبود همبستگی معنی دار میان غلظت برخی عناصر کمیاب سـرم و فعالیت آنزیم سوپراکسـید دیسموتاز گلبول های قرمز، نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه را ضروری می‌سـازد. همبستگی مثبت معنی داری میان غلظت مس و آهن سـرم گوسفندهای مهربان مشـاهده شد (P ۰/۰۱ ≥ ; r =۰/۲۲۴). به این معنی که با افزایش غلظت مس سـرم، غلظت آهن سـرم نیز افزایش می یابد. همبسـتگی بدست آمده میان غلظت مس و آهن سـرم هر چند ضعیف اسـت اما کاملاً منطقی است چون متابولیسم مس و آهن رابطه تنگاتنگی دارند و کمبـود این دو عنصر نیز کم خونی مشـابهی در دام ها ایجاد می کنند (کم خونی میکروسیتیک- هیپوکرومیک). مس نقش مهمی در انتقال آهن از عرض غشـاهای سـلولی دارد. بیشـتر مس پلاسـما به گلیکوپروتئینی بنام سرولوپلاسمین متصل می شود. سرولوپلاسـمین فعالیت فرواکسیدازی دارد و سبب تبدیل

ظرفیتی به آهن سه ظرفیتی می‌شود و ممکن است در تحویل آهن به گردش خون نقش داشته باشد.

بر اســاس آزمون همبستگی پیرســون، هیچگونه همبستگی معنی داری میان هورمون های تیروئیدی و SOD دیده نشــد. Chattopadhay و همــکاران در ســال ۲۰۰۳ بیان کردند که شــرایط آنتی‌اکســیدانی بافت قلبی مــوش (SOD و کاتالاز) توســط هورمون های تیروئیدی کنترل می‌شــود. به طوری که در عضله قلبی موش در شــرایط هیپرتیروئیدیسم فعالیت آنزیم SOD افزایش و در هیپوتیروئیدیســم فعالیت این آنزیم کاهش مــی یابد. Sawant و همکاران در ســال ۲۰۰۳ بیان کردند که میزان فعالیت آنزیم SOD موجود در بافت کلیه در موش های صحرایی مبتلا به هیپر و هیپوتیروئیدیسم کاهش می یابد. Sinohara و همکاران در سال ۲۰۰۰ بیان کردند که در عضله قلبی موش های صحرایی در شــرایط هیپرتیروئیدیسم فعالیت SOD-Cu/Zn و Mn افزایش می یابد.

در ســال ۱۹۹۸ صورت گرفت، بیان شــده اســت که در کبد موش هــای مبتلا بــه هیپرتیروئیدیســم تولید رادیــکال آزاد سوپراکســید افزایش یافته و فعالیت آنزیم SOD کبدی کاهش می یابد. Pereira و همکاران در سال ۱۹۹۵ گزارش کردند که در ماکروفاژ های موش‌های صحرایی مبتلا به هیپرتیروئیدیسم فعالیــت SOD-Cu/Zn و Mn افزایــش می یابــد. Mano و همکاران در ســال ۱۹۹۵ بیان نمودند که در بخش قشری مغز موش های مسن مبتلا به هیپرتیروئیدیسم غلظت SOD- Mn زیاد می شــود و در مــوش های مســن هیپوتیروئیدی غلظت SOD-cu/zn افزایــش و غلظت SOD- Mn کاهش می یابد. Mano و همــکاران در تحقیقــی دیگر در ســال ۱۹۹۵ اظهار کردند که در عضلات قلبی موش های مبتلا به هیپرتیروئیدیسم میزان فعالیت آنزیم SOD تغییری نمی کند.

Pereira و همــکاران در ســال ۱۹۹۴ در تحقیقــی بر روی اعضــای لنفاوی و عضلات موش اعلام کردند که در شــرایط هیپرتیروئیدیســم، در این اعضا فعالیت SOD-Cu/Zn و Mn افزایش می‌یابد و در شــرایط هیپوتیروئیدیسم فعالیت SOD–Mn کاهــش می یابد. Asayama و همکاران در ســال ۱۹۸۷ بیــان کردند کــه در عضلات قلبی و اســکلتی موش صحرایی مبتلا به هیپرتیروئیدیسم، فعالیت SOD- Mn افزایش می یابد و در شــرایط هیپوتیروئیدیسم، فعالیت SOD- Mn کاهش می یابد.

عدم وجود همبستگی معنی دار بین هورمون های تیروئیدی و آنزیم SOD را در این تحقیق می توان به طبیعی بودن شرایط فیزیولوژیک گوسفندهای نژاد مهربان نسبت داد. شاید با ایجاد هیپر و یا هیپوتیروئیدیســم بشود وجود یا عدم وجود همبستگی بیــن این فاکتورها را به طور دقیق مشــخص کــرد که نیاز به پژوهش های بیشتری در آینده دارد.

Journal of Veterinary Medicine & Laboratory 1 (2009) 47-59

The relationship between thyroid hormones, some antioxidant enzymes and trace elements in blood serum of Mehraban sheep

Nazifi, S. [1*], Pilevarian, A.A. [2], Jalaei, J. [3]

Received: 18.08.2009; Accepted: 15.11.2009

Abstract:

Trace elements are found at low concentrations in body but they play a key role in various metabolic processes. Trace elements as well as antioxidants may affect the action of thyroid hormones, an important regulator of metabolism. The aim of this study was to determine the possible interrelationship among the activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and glutathione peroxidase), serum concentrations thyroid hormones and trace elements. This work was performed on 100 non pregnant Mehraban sheep during dry period. Blood samples were collected from jagu-

1- Clinical Science group, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz, Iran
2-Payam Noor University of Isfahan, Isfahan, Iran
3- MSc student of Payam Noor University of Isfahan, Isfahan, Iran
*Corresponding author: nazifi@shirazu.ac.ir

and the concentrations of thyroid hormones (thyroxine, triiodothyronine), trace elements (selenium, copper, zinc, manganese, iron) and antioxidant enzymes (SOD, GPX) were measured in their sera using conventional laboratory methods. The relation between various parameters was examined using Pearson and Correlation Test. There was a significant positive correlation between serum concentrations of manganese and T4 ($P \leq 0.01$; $r = 0.26$). There was also a positive correlation between levels of serum copper and iron (P £ 0.01; r =0.224). In contrast, a significant negative correlation (P£ 0.05; r = - 0.201) was observed between GPX and T3. This may indicate that an elevation in the serum concentration of T3 hormone simultaneously decreases the level of GPX. In the current study, a significant correlation was shown between the changes of the concentration of trace elements and thyroid hormones. This could be resulted from the key role of such substances in the activities of metabolism enzymes. Moreover, increase in T3 hormone was accompanied with a decrease in the activity of GPX enzyme, which can be regarded as a factor related to a higher fat peroxidantes.

Key words: Thyroid hormones, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Trace elements, Serum, Mehraban sheep.

منابـع:

Andrewartha, K.A ., Caple, I.W. 1980. Effects of changes in nutritional copper on erythrocyte superoxide dismutase activity in sheep. Research in Veterinary Science 28, 101-104.

Arthington, J.D., Corah, L.R., Blecha, F. 1996. The effect of molybdenuminduced copper deficiency on acute phase protein concentrations, superoxide dismutase activity, leukocyte numbers, and lymphocyte proliferation in beef heifers inoculated with bovine herpesvirus-1. Journal of Animal Science 74, 211-217.

Asayama, K., Doboshi, K., Hayashibe, H., Megata, Y., Kato, K. 1987. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism of injury to heart and skeletal muscle in hyperhyroidism. Endocrinology 121, 2112-2118.

Brighthope, I. 2004. The therapeutic potential of antioxidants in the prevention and treatment of degenerative diseases. Journal of Austrian College Nutritional Environmental Medicine 13, 15-25.

Chattopadhyay, S., Zaidi, G., Das, K., Chainy, G.B. 2003. Effects of hypothyroidism induced by 6-n-propilthiouracil and its reversal by T_3 on rat heart superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation. Indian Journal of Experimental Biology 41, 894-899.

Dimitrova, A.A., Strashimirov, D.S., Russeva, A.L., Andreeva Gateva, P.A., Lakova, E.T., Tzachev, K.N. 2005. Effect of zinc on the activity of Cu/Zn superoxide dismutase and lipid profile in Wistar rats. Folia Medeicine 47, 42-46.

Disilvestro, R.A., Marten, J.T. 1990. Effects of inflammation and copper intake on rat liver and erythrocyte cu-zn superocide dismutase activity levels. Journal of Nutrition 120, 1223.

Fenton, H.J.H. 1984. Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. Journal of Chemical Society 65, 899.

Fernandes, V., Llesuy, S., Salari, L., Kiapreos, K., Videla, L.A., Boveris, A. 1988. Chemeiluminescent and respiratory responses related to thyroid hormone-induced liver oxidative stress. Free Radical Research Community 5, 77-84.

Humphries, W.R., Phillippo, M., Young, B.W. 1983. Bremner I The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves. British Journal of Nutrition 49, 77-86.

Josef, K. 1999. Trace element selenium and thyroid gland. Societe francaise debiochimic, Elsevier, Paris 81, 527-533.

Konstantinova, S.G ., Russanov, E.M . 1988. Effect of pregnancy and fetal development on sheep liver superocide dismutase activity. Research in Veterinary Science 45, 287-290.

Mano, T., Sinohara, R., Sawai, Y., Oda, N., Nishida, Y., Mokumo, T., Kotake, M., Hamada, M., Masunaga, R., Nakai, A. 1995. Effect of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle. Journal of Endocrinology 145, 131-136.

Mano, T., Sinohara, R., Sawai, Y., Oda, N., Nishida, Y., Mokumo, T., Asano, K., Ito, Y., Kotake, M., Hamada, M. 1995. Changes in lipid peroxidation and free radical scavengers in the brain of hyper _ and hypothyroid aged rats. Journal of Endocrinology 147, 361-365.

Masters, D.G., Paynter, D.I., Briegel, J., Baker, S.K. 1988. Purser DB Influence of managanese intake on body, wool and testicular growth of young rams and on the concentration of manganese and the activity of manganese enzymes in tissues. Austrian Journal of Agriculture Research 39, 517-524.

McCord, J.M., Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase, and enzymatic function for erythrocuprin. Journal of Biological Chemistry 244, 6049-6055.

Nielsen, F.H., Milne, D.B. 1993. Oxidant stress effects on the clinical and nutritional deficiencies of trace elements. International Journal of Toxicological Occupation Environmental Health 2, 59-66.

Oliver, J.W. 1975. Inter relationships between a thyroetic and coppe-dificient rats: American Journal of Veterinarian Research 36, 1649-1653.

Pereira, B., Rosa, L.F., Safi, D.A., Bechara, E.J., Curi, R. 1994. Control of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat lymphoid organs by thyroid hormones. Journal of Endocrinology 140, 73-77.

Pereira, B., Rosa, L.F., Safi, D.A., Bechara, E.J., Curi, R. 1995. Hormnonal regulation of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat macrophages. Biochemical Pharmacology 50, 2093-2098.

Sawant, B.U., Nadkarni, G.D., Thakare, U.R., Joseph, L.J., Rajan, M.G. 2003. Changes in lipid peroxidation and free radical scavengers in kidney of hypothyroid and hyperthyroid rats. Indian Journal of Experimental Biology 41, 1334-1337.

Simon, A., Giavarotti, K.A, Rodrigues, L., Rodrigues, T., Janqueira, V.B., Videla, L.A. 1998. Liver microsomal parameters related to oxidative stress in hyperthyroid rats

subjected to acute lindane treatment. Free Radical Research 29, 35-42.

Sinohara, R., Mano, T., Nagasaka, A., Hayashi, R., Uchimura, K., Nakano, I., Watanabe, F., Tsugama, T., Makino, M., Kakizawa, H., Nagata, M., Iwase, K., ishizuki, Y., Itoh M. 2000. Lipid peroxidation levels in rat cardiac muscle are affected by age and thyroid status. Journal of Endocrinology 164, 97-102.

Sosenko, I.R., Frank, L. 1989. Thyroid inhibition and developmental increase in fetal rat lung antioxidant enzymes. American Journal of Physiology 257, 94-99.

Smith, P., Stubley, D., Blackmore, D.J. 1983. Measurement of superoxide dismutase, diamine oxidase and ceruloplasmin oxidase in the blood of thoroughbreds. Research in Veterinary Science 35, 160-164.

Suttle, N.F., McMurray, C.H. 1983. Use of erythrocyte copper. Zinc superoxide dismutase activity and hair or fleece copper concentrations in the diagnosis of hypocuprosis in ruminants. Research in Veterinary Science 35, 47-52.

Tungrtongchitr, R., Pongpaew, P., Phonrat, B., Tungtrongchitr, A., Viroonudomphol , D., Vudhivai, N., Schelp, F.P. 2003. Serum copper, zinc, ceruloplasmin and superoxide dismutase in Thai overweight and obese. Journal of Medical Association of Thailand 86, 543-551.

Woolliams, J.A., Woolliams, C., Suttle, N.F., Jones, D.G., Wiener, G. 1986. Studies on lamb's lines genetically selected for low and high copper status. 2. Incidence of hypocuprosis on improved hill pasture. Animal Production 43, 303-317.

Zowezak, M., Iskra, M., Paszkowski , J., Manczak, M., Torlinski, L., Wysocka, E. 2001. Oxidase activity of ceruloplasmin and concentrations of copper and zinc in serum of cancer patients. Journal of Trace Element in Medical Biology 15, 193-196.