13 (2) 107-112, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effects of heat stress on Malondialdehyde levels and catalase, Glutathione Peroxidase and Superoxide dismutase activity in *Rattus*

Atefe Shamuni [*]***, Nematollah Razmi***

Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Key Words

Heat stress
Malondialdehyde
Catalase
Glutathione peroxidase
Superoxide dismutase

Abstract

Introduction: The present study was performed to assess the effects of heat stress on on Malondialdehyde (MDA) levels and catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPX) and Superoxide dismutase (SOD) activity of blood serum and liver in *Rattus*.

Materials & Methods: In doing so, 15 specimens were assigned to 3 groups i.e. the control group (kept for 21 days at 24±1 C), the chronic stress group (kept for 21 days at 38±1 C), and the acute stress groups (kept for 20 days at 24±1 C+2 days at 38±1 C in four hr. intervals). At the end of the experiments 5cc cardiac blood was sampled from each specimen and oxidant/antioxidant factor levels (i.e. MDA, SOD, CAT, and GPX) were measured. Also, to measure these enzymes in liver tissue, this tissue was isolated and homogenized.

Result: The results showed that the amount of tissue malondialdehyde in all groups was significantly increased compared to its level in serum that in acute and chronic heat stress compared to the control group this increase was significant ($p<0.05$). This increase in serum glutathione peroxidase was also significant compared to the control group ($p<0.05$). There was a significant increase in the levels of catalase and superoxide dismutase enzymes in the acute stress group compared to the control group.

Conclusion: In conclusion, heat stress seems to induce oxidative stress in *Rattus*.

* Corresponding Author's email: shamatefe@gmail.com

Received: 5 April 2020; Reviewed: 28 June 2020; Revised: 23 July 2020; Accepted: 3 September 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.135825

مقاله پژوهشی

تاثیر استرس گرمایی بر غلظت مالون دی آلدهید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در سرم و کبد موش صحرایی

عاطفه شمعونی**، نعمت‌اله رزمی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

کلمات کلیدی

استرس گرمایی
مالون دی آلدهید
کاتالاز
گلوتاتیون پراکسیداز
سوپراکسید دیسموتاز

چکیده

مقدمه: این مطالعه با هدف بررسی ارتباط تنش گرمایی و پاسخ‌های فیزیولوژیکی ناشی از آن در میزان غلظت مالون دی آلدهید و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در سرم و کبد خون موش صحرایی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: به‌همین منظور ۱۵عدد موش صحرایی جنس نر به‌صورت تصادفی به ۳ تیمار ۵ تایی تقسیم شدند. موش‌ها در سه تیمار شاهد (در دمای اتاق ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۱ روز)، استرس گرمایی مزمن (در دمای۱±۳۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۱ روز، و با در معرض‌گیری هر روز به‌مدت یک‌ساعت از ساعت ۸ صبح تا ۹ صبح) و استرس گرمایی حاد (به‌مدت ۲۰ روز در شرایط دمایی گروه شاهد و در روز ۲۱ به‌مدت ٤ ساعت از ساعت ۸ صبح تا ۱۲ظهر تحت استرس گرمایی حاد در دما ۱±۳۸ درجه سانتی‌گراد)، قرار گرفتند. جهت سنجش فاکتورهای اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی سرمی شامل مالون دی آلدهید، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز از قلب ۵ سی‌سی خون گرفته شد و سپس جهت سنجش این آنزیم‌ها در بافت، کبد جداسازی و هموژن گردید.

نتایج: نتایج نشان داد میزان مالون دی آلدهید بافتی در تمامی گروه‌ها نسبت به میزان آن در سرم افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است. در میزان گلوتاتیون پراکسیداز سرمی نیز نسبت به گروه شاهد این افزایش معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). میزان آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بافتی در گروه استرس حاد نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری و بحث: نتایج بیانگر تاثیر استرس گرمایی بر میزان غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که نشانگر القای استرس اکسیداتیو جهت سازش با شرایط جدید اتفاق افتاده است.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shamatefe@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۷ فروردین ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۸ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۲ مرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳ شهریور ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.135825

مقدمه

مشکلاتی که در اثر استرس گرمایی و در ارتباط با گرمای جهانی ایجاد شده‌است با تاثیر بر سیستم‌های بیولوژیک در حال افزایش است و عوامل اتیولوژیک که دلیل و منشا اثر آن را بر موجودات زنده به‌طور دقیق بررسی کنند شناسایی نشده است (Sinha، ۲۰۰۷). استرس گرمایی به‌عنوان یک عامل ایجادکننده استرس اکسیداتیو و تاثیر بر اندام‌های حیاتی بدن بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Sharma، ۲۰۰۶). استرس گرمایی به‌صورت طبیعی در محیط وجود دارد و به یک خطر اجتماعی تبدیل شده است. فقدان طراحی سیستم مدیریت کنترل گرما در تجهیزات الکترونیک در محل‌های کار افراد، سیستم تهویه ضعیف وسایل نقلیه، لباس‌های نامناسب و اشعه‌های تابشی اطراف به موضوعی جدی برای نگرانی‌های جهانی برای تاثیر استرس گرمایی در سلامت موجودات مطرح است (Qian و همکاران، ۲۰۰۴). نقص در کارکرد مطلوب سیستم قلبی عروقی و عدم سازگاری کافی موجودات نیز یکی دیگر از عوامل مهم برای شروع صدمات ناشی از استرس گرمایی بیان شده است (Sinha، ۲۰۰۷). مرور ادبیات تحقیق نشان می‌دهد که آسیب‌ها و بیماری‌هایی که به سیستم اعصاب محیطی در اثر استرس گرمایی ایجاد می‌شود و سبب القا مرگ و میر می‌شود چرا که نوروترانسمیترها و مکانیسم‌های سلولی به گرما بسیار حساس می‌باشند. استرس اکسیداتیو در اثر وقوع استرس گرمایی زمانی ایجاد می‌شود که تولید رادیکال‌های آزاد مثل سوپراکسیدآنیون (O_2)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل از حد مکانیسم قدرت دفاعی بدن تجاوز کند. در این حالت سبب تخریب ماکرومولکول‌های حیاتی بدن مانند DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها می‌گردد. متأسفانه، شیوه زندگی روزمره، سبب شده است بسیاری از موجودات میزان بسیار بالا و غیرنرمالی از استرس اکسیداتیو را تحمل کنند که می‌تواند کاهش کارایی بدن را افزایش دهد. به‌دلیل اهمیت پدیده استرس اکسیداتیو، مطالعات گسترده‌ای در زمینه‌های ایجاد آن و ارزیابی میزان آن در نمونه‌های بیولوژیک انجام شده و یا در حال انجام است. تولید رادیکال‌های آزاد که در نتیجه استرس گرمایی ایجاد می‌شوند می‌توانند توسط آنتی‌اکسیدان‌ها خنثی شوند (Zhang و همکاران، ۲۰۰۴؛ Zuo و همکاران، ۲۰۰۰). آنتی‌اکسیدان‌ها با باند شدن با رادیکال‌های آزاد آن‌ها را غیرفعال و از وقوع استرس اکسیداتیو و تخریب سلولی جلوگیری می‌کنند و بخش مهمی از سیستم دفاعی سلولی در برابر رادیکال‌های آزاد می‌باشند. به‌طورکلی، استرس گرمایی سبب کاهش در عملکرد، تولید، استفاده از مواد مغذی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و ایمنی شده و منجر به وقوع بیش‌تر بیماری و تلفات اقتصادی می‌گردد (Sinha، ۲۰۰۷). Bhat و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی تغییرات فصلی و تاثیر افزایش دما بر روی رت‌های بالغ ماده نژاد ویستار پرداختند و میزان تخریب اکسیداتیوی گلبول‌های قرمز، سطح کورتیزول و میزان آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما را مورد سنجش قرار دادند. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد سوبستراهای واکنشی تیوباربیوتیک اسید گلبول‌های قرمز و سطح کورتیزول پلاسما به‌طور معنی‌داری در معرض دماها و رطوبت بالا فصول گرم در مقایسه با فصول سرد افزایش یافت و سطح گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز اریتروسیت‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. هم‌چنین در مطالعه دیگری که توسط Das (۲۰۱۱) انجام شد، تاثیر استرس گرمایی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌های کبد رت‌های بالغ مورد بررسی قرارگرفت و نتایج نشان داد استرس گرمایی باعث مجموعه‌ای از تغییرات پیچیده بر سلول‌های کبد شده و میزان غلظت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند SOD،CAT، GPx در آن کاهش یافته است. از آن‌جایی که استرس گرمایی به‌صورت طبیعی در محیط وجود دارد و مشکلاتی که در اثر استرس گرمایی ایجاد می‌شود به‌میزان زیادی نادیده گرفته شده است. تحقیق حاضر می‌تواند زمینه‌ای برای مطالعات وسیع‌تر در ارتباط با مشکلات ناشی از پدیده گرمایش جهانی بر موجودات باشد و اهمیت این بررسی را نشان می‌دهد.

مواد و روش‌ها

تیمارها: این مطالعه به‌صورت تجربی بر روی ۱۵ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۰±۲۲۰ گرم انجام شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به یکی از سه تیمار زیر اختصاص داده شدند: گروه شاهد که حیوانات در این گروه در دمای اتاق ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۱ روز قرار داده شدند، گروهی که تحت استرس دمایی مزمن با قرار دادن در انکوباتور در دمای ۱±۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد در شرایط محیطی به‌مدت ۲۱ روز به‌مدت یک‌ساعت از ساعت ۸ صبح تا ۹ صبح قرار گرفتند و گروه استرس گرمایی حاد که به‌مدت ۲۰ روز در شرایط دمایی گروه شاهد قرار گرفتند و در روز ۲۱ به‌مدت ۴ ساعت از ساعت ۸ صبح تا ۱۲ ظهر در دمای ۱±۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰-۶۰ درصد قرار گرفتند. در پایان دوره تیمار یعنی روز ۲۱ برای گروه شاهد و ۲ ساعت بعد از این‌که گروه‌های تحت استرس گرمایی قرار گرفتند موش‌ها با محلولی از دو ترکیب کتامین و زایلازین بی‌هوش و خونگیری مستقیم از قلب موش‌ها به‌میزان ۵ سی‌سی انجام شد و سپس مورد سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در مدت ۱۰ دقیقه) قرار گرفتند. سپس سرم خون نمونه‌ها را با سمپلر HL ۱۰۰ جدا و در درون میکروتیوپ ۳ سی‌سی قرار داده و جهت تعیین پارامترهای خونی و تا زمان بررسی آنزیم‌های استرس اکسیداتیو در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. بافت‌های کبد نگه‌داری شده در فریزر را در دمای آزمایشگاه ذوب کرده و سپس

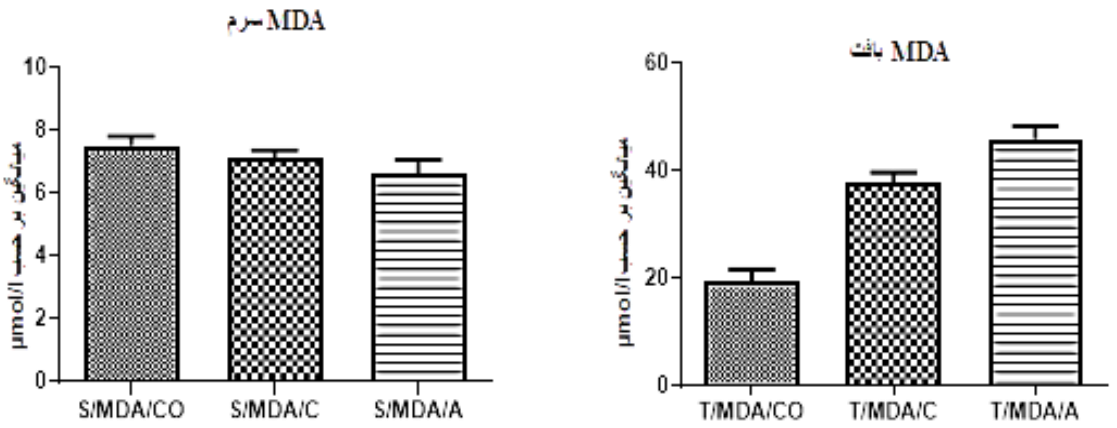
جهت تهیه هموژن بافتی ابتدا بافت را وزن کرده و با بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷) هموژن شدند. پس از هموژن کردن جهت سنجش آنزیم‌های استرس اکسیداتیو شامل کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و مالون دی آلدئید اقدام شد.

روش‌های ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو: مالون دی آلدهید (MDA) کاربردی‌ترین شاخص برای ارزیابی استرس اکسیداتیو است. برای اندازه‌گیری این فاکتور از روش پلیسر و همکاران استفاده شد (Baluchnejadmojarad و همکاران، ۲۰۱۳). براساس این روش ابتدا معرف کار (TCA–TBA–HCL) تهیه گردید. بدین‌صورت که تری‌کلرواستیک‌اسید به‌میزان ۱۵ درصد وزن حجمی و تیوباربیتورک اسید به‌میزان ۰/۳۷۵ وزن حجمی، درون HCL۰/۲۵ نرمال حل شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۵۰۰ میکرولیتر از معرف کار مخلوط شده و ۱۵ دقیقه در بن ماری در حال جوش قرار داده شد. نمونه‌ها پس از خنک شدن به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شده و میزان جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ازکیت تجاری رنسل ساخت شرکت رندوکس انگلستان استفاده شد. آنزیم GPX در حضور کومن هیدروپروکسید سبب تسریع در اکسیداسیون گلوتاتیون می‌شود. حال در صورت حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتیدفسفات، گلوتاتیون اکسیدشده، سریعاً احیاگردیده و NADPH به +NADP تبدیل می‌شود. میزان حضورآنزیم GPX با اندازه‌گیری میزان کاهش رنگ ایجاد شده در طول موج ۳۴۰ نانومتر اشعه فرابنفش در ۳ زمان متوالی قرائت گردید (Paglia و Valentine، ۱۹۶۷). فعالیت آنزیم CAT کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۴) با استفاده از تجزیه پراکسید هیدروژن H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. به حجم معینی از عصاره بافتی اتانول مطلق ۰/۰۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر اضافه و به‌مدت نیم‌ساعت در یخ قرار داده شد. سپس به آن تریتون X-۱۰۰ ده درصد با غلظت‌نهایی ۱ درصد اضافه شد. این محلول جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از نمونه با بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ و محلول H_2O_2 ۳۰ میلی‌مولار مخلوط کرده و جذب در طی ۳ دقیقه قرائت شد و فعالیت ویژه آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. سنجش فعالیت آنزیم SOD بر پایه قدرت سوپراکسید دیسموتاز در مهار احیاء نیتروبلوتترازولیوم به‌وسیله یون سوپراکسید با استفاده از روش Winterbourn و همکاران (۱۹۷۵) انجام گرفت. ۲۰ میکرولیتر از بافت هموژنه، EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار و NBT ۱/۵ یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به‌مدت ۵ تا ۸ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار گرفت. سپس بعد از اضافه کردن ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار در بافر فسفات پتاسیم ۱۲ تا ۱۰ به‌مدت، pH=۷/۸ با مولار ۰/۶۷ دقیقه در درجه‌حرارت اتاق قرارداده و جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومترقرائت شد. فعالیت‌ویژه‌آنزیم برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست آمده در رت‌های گروه‌های مختلف در جداول مربوطه مرتب گردیده و پس از کدبندی با استفاده از روش‌های آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) و با کمک نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه به‌منظور بررسی تفاوت‌های بین گروه‌های هر یک از شاخص‌ها در سطح P≥۰/۰۵ استفاده شد. با آزمون توکی نیز معنی‌دار بودن نتایج در بین گروه‌ها مشخص شد.

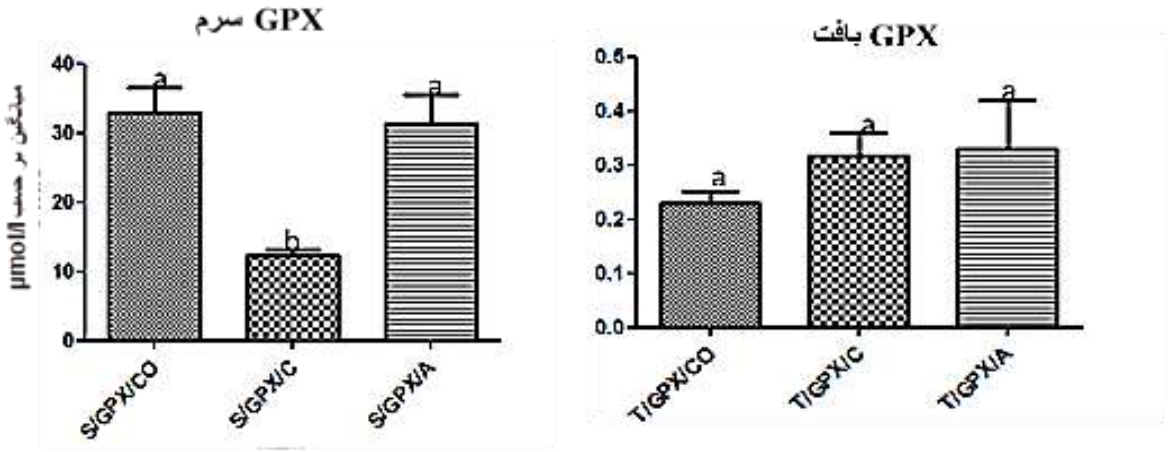
نتایج

میزان مالون دی آلدهید، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز در سرم و بافت گروه‌های مورد مطالعه در پایان دوره: مقادیر به‌دست آمده مالون دی آلدهید در سرم گروه‌های مورد مطالعه نشان داد مقدار آن در گروه استرس گرمایی حاد نسبت به گروه شاهد مقداری کاهش پیدا کرده است که این کاهش معنی‌دار نمی‌باشد ($p>۰/۰۵$). با این‌حال میزان مالون‌دی‌آلدهید بافتی در تمامی گروه‌ها نسبت به‌میزان آن در سرم افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است، هم‌چنین در استرس‌های گرمایی حاد و مزمن در مقایسه با گروه شاهد این افزایش معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$)(شکل ۱). مقادیر به‌دست آمده از میزان ظرفیت گلوتاتیون پراکسیداز نشان داد میزان آن در سرم افزایش داشته است که در گروه با استرس گرمایی مزمن کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). با این‌حال این میزان در تیمارهای بافتی در تمامی گروه‌ها تفاوت معنی‌داری از نظر آماری نشان نداد ($p>۰/۰۵$)(شکل ۲). میزان کاتالاز سرمی و بافتی درگروه‌های مورد مطالعه نشان داد به‌طورکلی میزان آن در گروه بافتی افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است. در گروه سرمی مقدار آن در گروه استرس گرمایی حاد نسبت به گروه مزمن به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است ($p<۰/۰۵$). با این‌حال این کاهش نسبت به گروه‌شاهد معنی‌داری نبود ($p>۰/۰۵$). میزان کاتالاز بافتی در گروه استرس حاد نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد که این افزایش معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$). با این‌حال میزان کاتالاز بافتی در گروه مزمن نسبت به گروه حاد و شاهد معنی‌دار نیست ($p>۰/۰۵$)(شکل ۳). میزان سوپراکسید دیسموتاز بافتی افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داده است که در گروه سرمی در میزان این آنزیم در تمامی تیمارها (شاهد، حاد و مزمن) نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ($p>۰/۰۵$) هم‌چنین میزان سوپر اکسید دیسموتاز بافتی در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به یکدیگر نیز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p>۰/۰۵$)(شکل ۴).



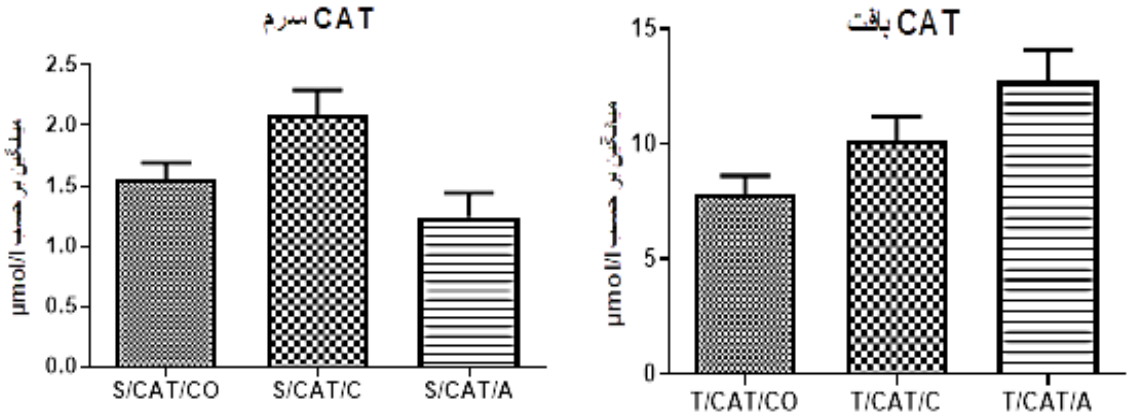
شکل ۱: مقایسه MDA درسرم (S) و بافت (T)، گروه شاهد (CO)، گروه استرس مزمن (C)، گروه استرس حاد (A)

مقادیر به‌صورت mean ± SD می‌باشد (One way ANOVA). علامت‌های مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری است.



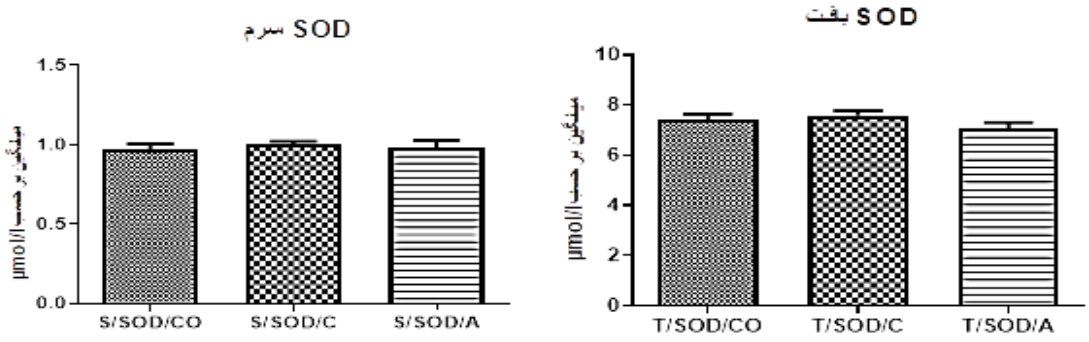
شکل ۲: مقایسه میزان GPX درسرم (S) و بافت (T)، گروه شاهد (CO)، گروه استرس مزمن (C)، گروه استرس حاد (A)

مقادیر به‌صورت mean ± SD می‌باشد (One way ANOVA). علامت‌های مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشد (p<۰/۰۵).



شکل۳: مقایسه میزان CAT درسرم (S) و بافت (T)، گروه شاهد (CO)، گروه استرس مزمن (C)، گروه استرس حاد (A)

مقادیر به‌صورت mean ± SD می‌باشد (One way ANOVA). علامت‌های مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشد.



شکل ۴: مقایسه میزان SOD درسرم (S) و بافت (T)، گروه شاهد (CO)، گروه استرس مزمن (C)، گروه استرس حاد (A)

مقادیر به‌صورت mean ± SD می‌باشد (One way ANOVA). علامت‌های مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشد.

بحث

استرس شامل هر گونه تغییر ناگهانی در محیط سلول است، به صورتی‌که سلول آمادگی پاسخ به آن را نداشته باشد. موجودات مختلف همواره با متغیرهای گوناگون موجود در محیط اطراف خود ازجمله تغییر نیازهای غذایی، عدم تعادل اسموتیک، درمعرض قرارگرفتن مواد سمی همواره درحال چالش بوده‌اند. علاوه براین یکی از عوامل محیطی حائز اهمیت شرایط غیربهینه دمایی محیط اطراف جاندار می‌باشدکه تحت عنوان استرس گرمایی عنوان می‌شود (Zulkifli و همکاران، ۱۹۹۹). در این شرایط هنگامی‌که منطقه‌خنثی حرارتی‌در دمایی بیش از دمای بحرانی قرار بگیرد حیوان تحت استرس گرمایی قرار می‌گیرد. تولید رادیکال‌های آزاد که در نتیجه استرس گرمایی ایجاد می‌شوند می‌توانند توسط آنتی‌اکسیدان‌ها خنثی شوند (Zhang و همکاران، ۲۰۰۴؛ Zuo و همکاران، ۲۰۰۰). آنتی‌اکسیدان‌ها با باند شدن با رادیکال‌های آزاد آن‌ها را غیرفعال و از وقوع استرس اکسیداتیو و تخریب سلولی جلوگیری می‌کنند و بخش مهمی از سیستم دفاعی سلولی در برابر رادیکال‌های آزاد می‌باشند. استرس اکسیداتیو زمانی ایجاد می‌گردد که تشکیل رادیکال‌های آزاد با تولید آنتی‌اکسیدان‌های محافظت‌کننده در تعادل نباشند. محققان بیان کردند اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون سوپر اکسیداز و گیرنده‌های الکترون آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون GSH می‌تواند شاخصی برای ارزیابی سطح استرس‌های اکسیداتیو باشد. در مطالعه حاضر میزان مالون دی آلدهید در شرایط استرس گرمایی حاد و مزمن در بافت کبد افزایش معنی‌داری را نشان داد. در حالی‌که در خون این افزایش معنی‌دار نبود. در معرض قرارگیری موش‌ها در اثر گرما سبب افزایش پروسه پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع شده است که این فرایند تخریبی در چربی‌های غشای سلولی سبب تخریب عملکرد نامناسب غشا، یکپارچگی سلول‌ها، کاهش سیالیت و غیرفعال‌سازی باند شدن آنزیم‌ها با غشاهای سلولی می‌شود. محصول نهایی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها مالون دی آلدهید (MDA) می‌باشد. کبد اولین بافتی است که تحت آسیب‌های محیطی دچار آسیب می‌شود و میزان رادیکال‌های آزاد در آن افزایش می‌یابد (Das، ۲۰۱۲) و اصلی‌ترین اندام بدن است که بر علیه رادیکال‌های آزاد وارد عمل می‌شود. در معرض قرارگیری در برابر استرس گرمایی درنتیجه سبب افزایش در سطح مالون‌دی آلدئید بیش‌تر در میتوکندری و پلاسمایی خواهد شد (Valko و همکاران، ۲۰۰۶). Feng و همکاران (۲۰۰۸) تاثیر استرس گرمایی بر جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند و دریافتند افزایش دما سبب افزایش تولید پراکسید هیدروژن تا ۲۸ درصد و افزایش مالون دی آلدهید تا ۳۳ درصد شده است که با نتایج مطالعات حاضر همبستگی دارد. میزان گلوتاتیون پراکسیداز در تیمارهای سرمی در گروه با استرس دمایی مزمن نسبت به دو گروه دیگر (شاهد و حاد) کاهش چشمگیری نشان داد که این میزان کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود. دمای بالای محیطی افزایش رادیکال‌های آزاد را در مایعات و بافت‌های بدن را افزایش می‌دهد و در نتیجه منجر به افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز کاهش غیرقابل توجه فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه شاهد شود که‌می‌توانند نشانگر القای استرس اکسیداتیو باشند (زارعی و همکاران، ۱۳۹۶). گلوتاتیون با واکنش مستقیم گروه‌های سولفیدریل خود با رادیکال‌های آزاد به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌تواند به‌عنوان یک کوفاکتور یا کوآنزیم در سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد نقش خود را ایفاکند (Gupta و همکاران، ۲۰۱۳). گروه‌های کربوکسیل، اسیدآمینه، SH و دو پیوند پپتیدی به‌عنوان جایگاه فعال این آنزیم برای واکنش با فلزات سنگین مطرح می‌باشند. استرس گرمایی سبب کاهش یا مهار بیان و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شده است این قدرت مهار کنندگی استرس گرمایی می‌تواند به‌دنبال غیرفعال‌سازی آنزیم اکسیداتیو گرمایی ایجاد شود. بنابراین استرس گرمایی سبب کاهش چشمگیر سطح گلوتاتیون (GSH) نیز شده است. کاهش در GSH با افزایش

تولید رادیکال‌های آزاد همراه است که در نتیجه افزایش و تداوم دما ایجاد می‌شود(Stine و Chalasani، ۲۰۱۵). میزان سوپراکسید دیسموتاز سرم و بافت در تمامی گروه‌ها (شاهد، حاد و مزمن) نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. مطالعات نشان داد تحت استرس‌های اکسیداتیو کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز شاخصی حساس برای آسیب سلول‌های کبدی است. این آنزیم یکی از مهم‌ترین عوامل در سیستم تدافعی آنتی‌اکسیدانی آنزیماتیک است. سوپراکسید دیسموتاز آنیون سوپراکسید را از طریق تبدیل آن به پراکسید هیدروژن زدوده و بدین‌ترتیب اثرهای سمی آن را کاهش می‌دهد. ازجمله سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی می‌توان به آنزیم‌هایی چون گلوتاتیون پرواکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز و پراکسیدازهای گوناگون اشاره کرد. هر آنزیم دارای یک عملکرد ویژه و منحصر به‌فرد است که همگی برای زنده ماندن سلول در شرایط نرمال ضروری هستند (Singal و همکاران، ۲۰۱۱). سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به‌عنوان خط اول دفاعی برای کاهش رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها با دیسموتاز رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و مولکول اکسیژن وارد عمل می‌شود. آنیون سوپراکساید اولین رادیکال آزاد مشتق از اکسیژن است که به‌وسیله SOD به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌گردد. آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز موجب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند. Das(۲۰۱۱) تاثیر استرس گرمایی بر سلول‌های کبد و تاثیر آنتی‌اکسیدان (resveratrol) بر رت‌های بالغ مورد بررسی قرار دادند و دریافتند استرس گرمایی باعث مجموعه از تغییرات پیچیده بر سلول‌های کبد شده است و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، CAT، GPx در آن کاهش یافته است. که با القا آنتی‌اکسیدان resveratrol فعالیت‌های تخریبی استرس گرمایی تا حدی کاهش یافت. بررسی و مقایسه مقادیر به‌دست آمده میزان کاتالاز سرمی در گروه‌های مورد مطالعه مشخص گردید که مقدار آن در گروه استرس گرمایی حاد نسبت به گروه مزمن به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است. با این‌حال این کاهش نسبت به گروه شاهد معنی‌داری نبوده است. در میزان کاتالاز بافتی در گروه حاد نسبت به دو گروه مزمن و شاهد افزایش نشان داد که این افزایش نسبت به گروه شاهد معنی‌دار می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط Ando و همکاران (۱۹۹۷) بر موش‌های صحرایی تیمار شده تحت استرس انجام شد نشان داد در ابتدا میزان سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته که دلیل آن می‌تواند تشکیل فراوان آنیون‌های سوپراکسیددر پی آن فعالیت آنزیم‌های زداینده پراکسیدهیدروژن یعنی کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز باشد که در موش‌های صحرایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته‌بود. کاتالاز با تجزیه پراکسیدهیدروژن بافت‌ها را در برابر رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل محافظت می‌کند. بنابراین، کاهش فعالیت کاتالاز ممکن است منجر به برخی اثرهای مخرب ناشی از سوپراکسید و پراکسیدهیدروژن شده است. شاید دلیل این افزایش و کاهش با مدت زمان در معرض قرارگیری و میزان گرما در ارتباط باشد.

منابع

1. **Aebi, H., 1984.** Catalase in vitro. Methods Enzymol. No. 105, pp: 121-126.
2. **Ando, M.; Shouji Yamamoto, K.; Kawahara, I.; Asanuma, M.U. and Sasaki, K., 1997.** Age-related Effects of Heat Stress on Protective Enzymes for Peroxides and Microsomal Monooxygenase in Rat Liver. Environ Health Perspect. No.105, pp: 726-735.
3. **Baluchnejadmojarad, T. and Roghani, M., 2013.** Coenzyme q10 ameliorates neurodegeneration, mossy fiber sprouting, and oxidative stress in intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy in rat. J Mol Neurosci. Vol. 49, No. 1, pp: 194-201.
4. **Bhat, S. and Rao, G., 2008.**Seasonal variations in markers of stress and oxidative stress in rats. Indian Journal of Clinical Biochemistry. Vol. 23, No. 2, pp:191-194.
5. **Das, A., 2011.** Heat stress-induced hepatotoxicity and its prevention by resveratrol in rats Asima. Toxicol Mech Methods. Vol. 21, No. 5, pp: 393-399.
6. **Das, N.; Sikder, K.; Ghosh, S.; Fromenty, B. and Dey, S., 2012.** Moringa oleifera Lam. leaf extract prevents early liver injury and restores antioxidant status in mice fed with high fat diet. Indian J Exp Biol. Vol. 50, No. 6, pp: 404-412.
7. **Feng, J.; Zhang, M.; Zheng, S. and Xie, P., 2008.** Effects of High Temperature on Multiple Parameters of Broilers in Vitro and in Vivo. Poul Sci. Vol. 87, No. 10, pp: 2133-2139.
8. **Gupta, M.; Kumar, S.; Dangi, S.S. and Jangir, B.L., 2013.** Physiological, biochemical and molecular responses to thermal stress in goats. Int J Livest Res. Vol. 3, No. 2, pp: 27-38.
9. **Stine, J.G. and Chalasani, N., 2015.** Chronic liver injury induced by drugs: A systematic review. Liver Int. Vol. 35, No. 11, pp: 2343-2353.
10. **Paglia, D.E. and Valentine, W.N., 1967.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. Vol.70, No. 1, pp: 158-169.
11. **Qian, L.; Song, X.; Ren, H.; Gong, J. and Cheng, S., 2004.** Mitochondrial mechanism of heat stress-induced injury in rat cardiomyocyte. Cell Stress Chaperone. Vol. 9, No. 3, pp: 281-293.
12. **Sharma, H.S., 2006.** Hyperthermia induced brain oedema: Current status & future perspectives. Indian. Journal Medician Research. Vol. 123, No. 5, pp: 629-652.
13. **Sinha, R.K. and Ray, A.K., 2007.** Sleep-wake study in an animal model of acute and chronic heat stress. Physiology Behaviour. Vol. 89, No. 3, pp: 364-372.
14. **Singal, A.K.; Jampana, S.C. and Weinman, S.A., 2011.** Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. liver inter. Vol. 31, No. 10, pp: 1432-1448.
15. **Valko, M.; Rhodes, C.J.; Moncol, J.; Izakivic, M. and Mazur, M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem.-Biol. Interact. Vol. 160, No. 1, pp: 1-40.
16. **Winterbourn, C.; Hawkins, R.; Brian, M. and Carrell, R., 1975.** The Estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med. Vol. 85, pp: 337.
17. **Zuo, L.; Christofi, F.L.; Wright, V.P.; Liu, C.Y.; Merola, A.J.; Berliner, L.J. and Clanton, T.L., 2000.** Intra and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in diaphragm muscle. Cell Physiol. Vol. 279, No. 4, pp: C1058-C1066.
18. **Zhang, H.J.; Doctrow, S.R.; Xu L.; Oberley, LW.; Beecher, B.; Morrison, J.; Oberley, T.D. and Kregel, K.C., 2004.** Redox modulation of the liver with chronic antioxidant enzyme mimetic treatment prevents age-elated oxidative damage associated with environmental stress. FASEB J. Vol. 18, No. 13, pp: 1547-1549.
19. **Zulkifli, I.; Dass, T. and Norma, C., 1999.** Acute heat-stress effects on physiology and fear-related behaviour in red jungle fowl and domestic fowl. Animal Sci. Vol. 79, No. 2, pp: 165-170.