"Research article" **DOI: 10.30495/JVCP.2021.1897033.1264**

Comparison of serum oxidative status in healthy Arabian and Dareshoor horses

Karimi-Dehkordi, M.[1*], Salehi, N.[2], Banimehdi, P.[3]

1- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2- PhD Student in Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3- D.V.M. Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[*]Corresponding authors email: ma_karimivet58@yahoo.com
(Received: 2020/8/15 Accepted: 2021/3/25)

Abstract

Oxidative stress, which is an imbalance between the production of oxygen free radicals and the body's antioxidant defense, is strongly associated with physical activity during a horse's sporting life. The aim of the present study was to evaluate the serum levels of Malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC) and the antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxatase (GPX) and catalase (CAT) as indicators of oxidative stress and to compare them between two horse races of Arab and Dareshoor. For this purpose, 26 non-pregnant and non-lactating female horses from Yazd province (13 Arab and 13 Dareshoor) were randomly selected. Blood samples were taken from all horses at rest. MDA, TAC and antioxidant enzymes were tested in the serum of the studied horses. The results showed that the rate of MDA in the serum of Arabian horses was significantly lower than Dareshoor horses (0.98±0.55 vs 1.59±0.56 µmol/L, respectively). Also, serum TAC concentrations in Arabian and Dareshoor horses did not show any statistically significant difference, although the rate of this parameter in Arabian horses was slightly higher than in Dareshoor (113.54±70.75 vs 112.56±53.93 µmol/L, respectively). In Arab race, level of SOD, GPX and CAT were also higher than Dareshoor. These differences between SOD and GPX enzymes were statistically significant (p<0.05). High levels of antioxidant enzymes and low levels of MDA indicate better health status for Arabian horses, and breed and genetics appear to play a role in enhancing the strength of the antioxidant defense system.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Arab, Dareshoor, Horse, CAT, GPX, MDA, SOD, TAC.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2021.1897033.1264

مقایسه وضعیت اکسیداتیو سرم اسب‌های سالم عرب و دره‌شور

مریم کریمی‌دهکردی[1*]، ناصر صالحی[2]، پردیس بنی‌مهدی[3]

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲- دانشجوی دکترای تخصصی داخلی دام بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳- دانشجوی دکترای حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: ma_karimivet58@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۹/۵/۲۵ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱/۵)

چکیده

استرس اکسیداتیو که عبارت از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است، به شدت با فعالیت بدنی در طول زندگی ورزشی اسب‌ها در ارتباط می‌باشد. هدف از انجام مطالعه حاضر، ارزیابی سطوح سرمی مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde; MDA)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (total antioxidant capacity; TAC) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (superoxid dismutase; SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (glutation peroxidase; GPX) و کاتالاز (catalase; CAT) به‌عنوان شاخص‌های استرس اکسیداتیو و مقایسه آن‌ها در دو نژاد عرب و دره‌شور بود. به‌این منظور، تعداد ۲۶ رأس اسب ماده غیرآبستن و غیرشیروار از استان یزد (۱۳ رأس نژاد عرب و ۱۳ رأس نژاد دره‌شور) به‌طور تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌های خونی تمامی اسب‌ها در زمان استراحت اخذ شد. در سرم اسب‌های موردمطالعه MDA، TAC و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان MDA در سرم اسبان نژاد عرب به‌طور معنی‌دار کمتر از مقدار آن در سرم اسب‌های نژاد دره‌شور بود (۰/۵۵±۰/۹۸ در مقابل ۰/۵۶±۱/۵۹ میکرومول بر لیتر). همچنین غلظت TAC در سرم اسب‌های نژاد عرب و دره‌شور هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی‌دار نشان ندادند، هرچند میزان این پارامتر در اسب‌های نژاد عرب مقداری بالاتر از نژاد دره‌شور بود (۷۰/۷۵±۱۱۳/۵۴ در مقابل ۵۶/۹۳±۱۱۲/۵۳ میکرومول بر لیتر). سطح آنزیم‌های SOD، GPX و CAT نیز در اسبان نژاد عرب بالاتر از نژاد دره‌شور بود که این اختلاف در آنزیم‌های SOD و GPX از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/05$). بالا بودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پایین بودن سطح MDA نشان‌دهنده وضعیت سلامت بهتر اسب‌های نژاد عرب می‌باشد و به نظر می‌رسد نژاد و ژنتیک در افزایش قدرت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نقش داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسب، نژاد عرب، نژاد دره‌شور.

مقدمه

گونه‌های اکسیژن فعال (reactive oxygen species; ROS) و یا اکسیدان‌ها به مولکول‌های حاوی اکسیژن گفته می‌شود که نسبت به اکسیژن موجود در هوا بسیار واکنش‌پذیرتر می‌باشند. رادیکال‌های آزاد، مولکول‌ها و یا قطعات مولکولی می‌باشند که شامل یک یا تعداد بیشتری الکترون باندنشده در لایه الکترونی خود هستند که منجر به افزایش واکنش‌پذیری آن‌ها می‌شود (D'Autréaux and Toledano, 2007; Ray *et al.*, 2012). رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید، هیدروژن‌پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل، مولکول‌های بسیار واکنش‌پذیری می‌باشند که می‌توانند منجر به برهم زدن هومئوستاز سلولی مانند آسیب به DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها شوند (Burton and Jauniaux, 2011; Shono *et al.*, 2020). آنتی‌اکسیدان‌ها در سیستم دفاعی علیه اکسیدان‌ها قرار دارند که منجر به جلوگیری از تولید ROSها، غیرفعال‌سازی اکسیدان‌ها و همچنین کاهش اثرات زیان‌بار اکسیدان‌ها در سیستم بدن می‌شوند. سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی متشکل از گلوتاتیون پراکسیداز (glutation peroxidase; GPX)، سوپراکسید دیسموتاز (superoxid dismutase; SOD) و کاتالاز (catalase; CAT) از نظر فیزیولوژیکی تعادل بین تولید ROS و خنثی‌سازی آن را کنترل می‌کنند (Kirschvink and Lekeux, 2002; Crimi *et al.*, 2006). رادیکال‌های آزاد اکسیژن عمدتاً اسیدهای چرب غشا را هدف قرار می‌دهند که این امر منجر به تغییرات پروتئین، اسید نوکلئیک و یکپارچگی سلول می‌شود (Basit *et al.*, 2020). در میان نشانگرهای زیستی، مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde; MDA) یکی از محصولات ثانویه شناخته‌شده پراکسیداسیون لیپیدی است که به‌عنوان شاخص آسیب غشای سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Brkljača Bottegaro *et al.*, 2018).

استرس اکسیداتیو به معنای عدم تعادل بین سیستم اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی به نفع اکسیدان‌ها می‌باشد که اثرات مخرب و زیان‌باری بر کارآیی و عملکرد سیستم‌های مختلف بدن دارد. بسیاری از اختلالات و بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل در تولید و سم‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌باشد. استرس مذکور یکی از عوامل مهم بروز بسیاری از آسیب‌ها و بیماری‌ها در انسان و حیوانات محسوب می‌شود (Bażanów *et al.*, 2020). تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که شکل‌گیری استرس اکسیداتیو موجب بروز بیماری‌ها از قبیل بیماری‌های کلیوی، پنومونی، بیماری‌های کبدی، بیماری‌های تنفسی، تحلیل عضلانی و ضعف عضلانی می‌شود و همچنین بر فاکتورهای خونی مانند انسولین، لپتین و لیپیدها به‌خصوص در اسب‌ها تأثیرگذار می‌باشد (Deaton, 2006; El-Deeb and El-Bahr, 2010). همچنین افزایش استرس اکسیداتیو در اسب‌ها در طی تمرینات استقامتی طولانی مدت ممکن است منجر به آسیب عضلانی، خستگی و کاهش عملکرد شود (van der Kolk *et al.*, 2020). مشخص شده‌است که عدم تعادل اکسیدان/آنتی‌اکسیدان در اسب‌ها منجر به شرایط نامطلوب پاتولوژیکی ازجمله ناهنجاری‌های مجاری هوایی پایینی، اختلالات عصبی، اختلالات عضلانی، اختلالات مربوط به پرفیوژن و بیماری‌های مفاصل می‌شود. با این وجود، به‌دلیل تفاوت‌های مربوط به

جنسیت، سن و نژاد، به صورت کلی نمی‌توان مکمل‌های درمانی آنتی‌اکسیدانی برای هر اسب توصیه نمود (Kirschvink *et al*., 2006).

اسب عرب یکی از معروف‌ترین، زیباترین و اصیل‌ترین اسب‌های دنیا می‌باشد که حاصل تلاش اقوام ایرانی در زمینه انتخاب و اصلاح نژاد اسب‌های موجود در فلات ایران بوده که از طریق بین‌النهرین به سرزمین‌های عربی وارد شده‌است. اسب دره‌شوری نیز یکی از نژادهای اصیل اسب پارسی می‌باشد که برای اولین بار در طایفه دره‌شوری از ایل قشقایی پرورش یافته‌است و به دلیل استقامت زیاد و نیز استحکام اجزای بدن به‌عنوان اسب ایلات کوچ‌نشین استفاده شده‌است (Firouz, 1998). از آنجائی‌که اطلاعات موجود در خصوص وضعیت اکسیداتیو در این دو نژاد اسب بسیار اندک است، آگاهی از فاکتورهای بیوشیمیایی و اکسیداتیو سرم خون اسب‌های اصیل ایرانی مانند اسب عرب و دره‌شوری می‌تواند گام کوچکی در راه حفظ و بهبودی این نژادها باشد زیرا در درجه اول به شناخت بهتر این اسب‌ها کمک فراوانی می‌کند و ثانیاً ارائه یک تابلوی طبیعی برای سرم خون اسب‌ها که از ضروریات است را ایجاد می‌کند، چرا که برای تشخیص تغییرات آسیب‌شناختی در هر یک از اجزای خون، در اختیار داشتن مقادیر طبیعی و شناخت هرچه بهتر فاکتورهای بیوشیمیایی و اکسیداتیو لازم و ضروری می‌باشد. با توجه به نقش مهمی که این شاخص‌ها در بسیاری از بیماری‌ها در اسب‌ها به ویژه بیماری‌های تنفسی ایفا می‌کنند، بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در کره اسب‌ها می‌تواند به تشخیص زودهنگام بیماری‌های تنفسی یا سیستمیک کمک کنند. مشخص شده‌است که دستگاه تنفسی عمده‌ترین هدف برای آسیب اکسیداتیو می‌باشد لذا استرس‌های اکسیداتیو ریوی نقش مهمی در پاتوژنز بیماری تنفسی ایفا می‌کنند (Crowley *et al*., 2013).

با توجه به موارد ذکرشده به نظر می‌رسد که تعیین نقش استرس اکسیداتیو و سطح شاخص‌های مرتبط با آن در انتخاب درمان آنتی‌اکسیدانی مناسب راه‌گشا خواهد بود. همچنین با توجه به این نکته که تاکنون تحقیقی مبتنی بر ارزیابی وضعیت اکسیداتیو اسب‌های عرب و دره‌شور منتشر نشده‌است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی سطوح سرمی مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) به‌عنوان شاخص‌های استرس اکسیداتیو و مقایسه آن‌ها در دو نژاد عرب و دره‌شور انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر که از نوع مقایسه‌ای و به صورت مقطعی بود، در فصل بهار سال ۱۳۹۸ در استان یزد انجام شد که در آن، از ۲۶ رأس کره اسبی که تاکنون زایشی نداشتند (۱۳ رأس اسب نژاد عرب و ۱۳ رأس اسب نژاد دره‌شوری) و در گروه سنی ۳۶-۱۲ ماه بودند، استفاده‌شد.

برای اطمینان از خلوص نژادی اسب‌های مورد مطالعه، نمونه‌گیری از اسب‌هایی به عمل آمد که دارای شناسنامه و تبارنامه مشخص بودند. بررسی وضعیت سلامتی اسب‌های مورد آزمایش نیز با نظر دامپزشک و مربی اسب صورت گرفت، به‌طوری‌که اسب‌های مورد

مطالعه، در زمان نمونه‌گیری در سلامت کامل قرار داشتند. همچنین ازآنجایی‌که شرایط تغذیه‌ای، نورگیری، محیط، دما، رطوبت و شرایط ورزشی از فاکتورهای مهم تأثیرگذار بر پارامترهای اکسیداسیون می‌باشد، سعی شد از اسب‌هایی با شرایط تغذیه‌ای، ورزشی و زمان مسقف یکسان (۲۳-۲۲ ساعت)، نمونه‌گیری به عمل آید.

پس از حصول اطمینان از نژاد و شرایط سلامت اسب‌ها، نمونه خون از ورید وداج همه حیوانات مورد مطالعه، اخذ گردید. نمونه‌ها در لوله‌های آزمایش بدون ضد انعقاد جمع‌آوری می‌شد و بعد از سانتریفیوژ کردن (Mpw 260r; Poland) با دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه، سرم‌های جداشده به میکروتیوب‌های مربوطه انتقال می‌یافتند و در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگه‌داری می‌شدند. لازم به ذکر است که به دلیل پایداری پایین و حساسیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سعی می‌شد در اولین فرصت، سنجش آنزیمی نمونه‌های سرم انجام شود.

- **تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم**: ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم با استفاده از روش فرپ (ferric reducing antioxidant power; FRAP) اندازه‌گیری شد. اساس این روش، توانایی سرم در احیای یون‌های فریک (Fe^{+3}) به فرو (Fe^{+2}) در حضور معرفی به نام تری‌پریدیل‌اس‌تریازین (2,4,6-Tripyridyl-s-triazine; TPTZ) (CAS-number 3682-35-7, Sigma, Germany) می‌باشد. در این روش واکنش Fe^{+2}با معرف TPTZ کمپلکس آبی‌رنگ Fe^{+2}–TPTZ را با خاصیت حداکثر جذب نوری در طول‌موج ۵۹۳ نانومتر ایجاد می‌کند که میزان قدرت احیاکنندگی سرم از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) اندازه‌گیری می‌شود (Benzie and Strain, 1999).

- **اندازه‌گیری میزان آنزیم مالون‌دی‌آلدئید سرم**: برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید سرم، از یک محلول کار حاوی ۰/۵گرم تیوباربیتوریک‌اسید (CAS-number 504-17-6, Merck, Germany) و ۸۰ میلی‌لیتر اسیداستیک ۲۰ درصد (CAS-number 64-19-7, Merck, Germany) استفاده شد. pH این محلول، به کمک هیدروکسیدسدیم (NaOH) (CAS-number 1310-73-2, Merck, Germany) به ۳/۵ و حجم نهایی آن با افزودن اسید استیک ۲۰ درصد، به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد ۲/۵ میلی‌لیتر از این محلول کار را همراه ۱۰۰ میکرولیتر سرم و ۱۰۰ میکرولیتر SDS (sodium dodecyl sulfate) (۱/۸ درصد) (CAS-number 151-21-3, Merck, Germany) در لوله آزمایش شیشه‌ای ریخته و با درپوش آلومینیوم درب لوله‌ها بسته شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار گرفتند و پس از سرد شدن، در دور ٤٠٠٠ rpm سانتریفیوژ (Mpw 260r, Poland) شدند. سپس جذب نوری محلول رویی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۵۲۳ nm ثبت گردید (Kuloglu *et al*., 2002).

- **اندازه‌گیری میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم**: جهت تعیین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، از کیت شرکت Zellbio (ZB-SOD96) و طبق پروتکل موجود در کیت استفاده شد. به این منظور، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورد استفاده قرار گرفت و بعد از افزودن

محلول‌های موجود در کیت، میزان جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول‌موج ٤٢٠ نانومتر اندازه‌گیری شد.

- **اندازه‌گیری میزان آنزیم کاتالاز سرم:** جهت تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز، از کیت شرکت Zellbio (ZB-CAT96) و طبق پروتکل موجود در کیت استفاده شد. به این منظور، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورد استفاده قرار گرفت و بعد از افزودن محلول‌های موجود در کیت، میزان جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ٤٠٥ نانومتر اندازه‌گیری شد.

- **اندازه‌گیری میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم:** برای تعیین میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز هم از کیت شرکت Zellbio (ZB-GPX96) و سوبسترای پراکسید هیدروژن موجود در کیت، طبق پروتکل مربوطه استفاده شد. بدین منظور، میزان ۱۰ میکرولیتر از هر سرم مورداستفاده قرار گرفت و بعد از افزودن محلول‌های موجود در کیت، میزان جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ٤١٢ نانومتر اندازه‌گیری شد.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS21 و براساس آمار توصیفی و آزمون‌های همبستگی، کای دو و من‌ویتنی انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شدند و $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار فرض شد.

یافته‌ها

میانگین سنی دام‌های مورد آزمایش در دو گروه به ترتیب ۱/۲±۲٦/۱۲ و ۱/۳±۲۵/٤۵ ماه بود که از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری بین سن دو گروه مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$).

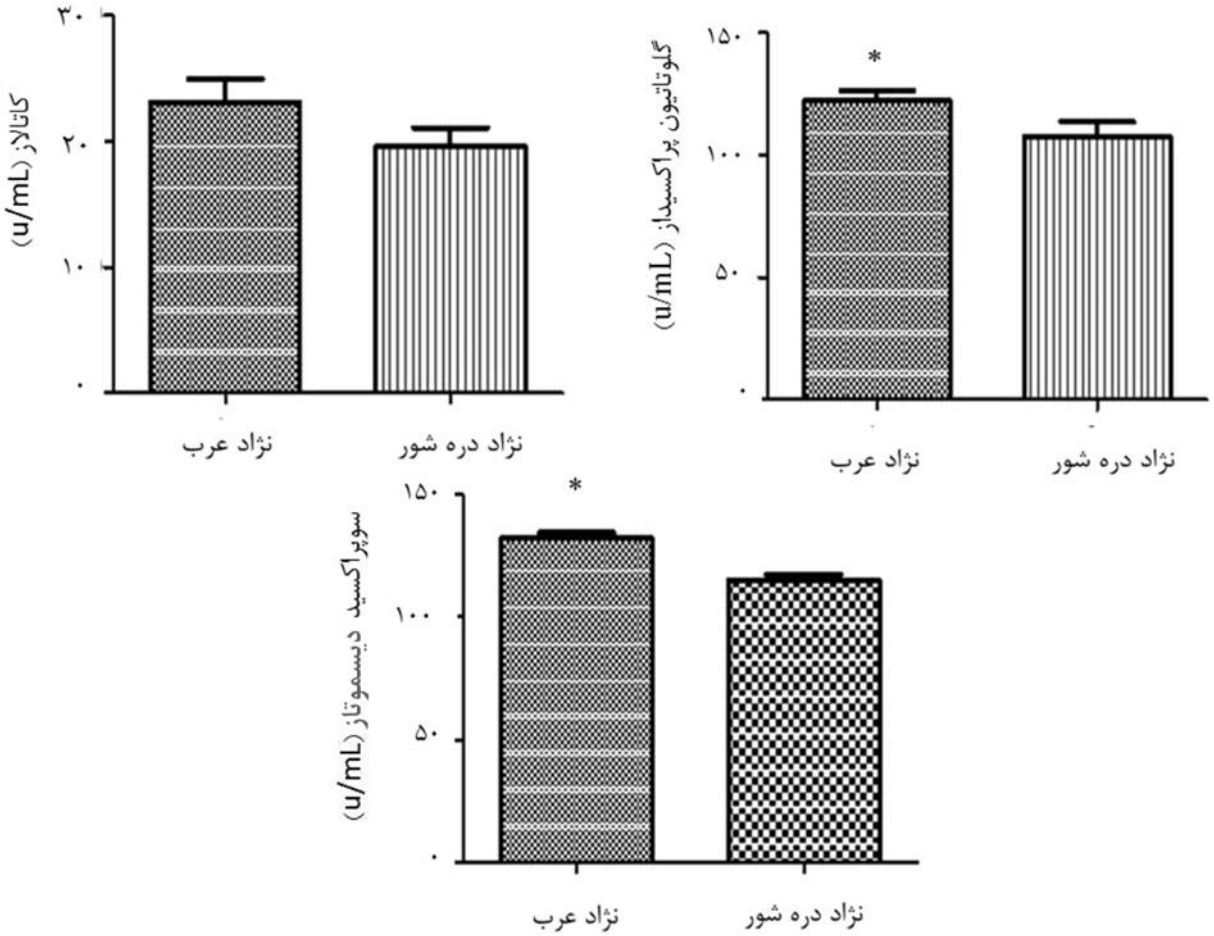
همچنین نتایج مربوط به تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها نشان داد که ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در نژاد عرب در مقایسه با نژاد دره شور بالاتر بود به‌طوری‌که میانگین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در نژاد عرب ۷۰/۷±۱۱۳/٥٤ میکرومول بر لیتر و در نژاد دره شور ۵۳/۹±۱۱۲/٥٦ میکرومول بر لیتر به‌دست آمد ولی این اختلاف هم ازنظر آماری معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).

از طرف دیگر، همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده‌شده‌است، بررسی آنزیم‌های سرمی دو نژاد دره‌شور و عرب نشان داد که سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید در نژاد عرب در مقایسه با نژاد دره شور پایین‌تر بود که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$).

جدول۱- سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (میکرومول بر لیتر)

	نژاد عرب	نژاد دره‌شور	p-value
مالون‌دی‌آلدئید	۰/۹۸±۰/۵۵	۱/۵۹±۰/٥٦	۰/۰۱
ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی	۷۰/۷±۱۱۳/٥٤	۵۳/۹±۱۱۲/٥٦	۰/۵

همچنین نتایج سنجش آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در سرم ۲۶ رأس اسب مورد مطالعه (۱۳ رأس از نژاد عرب و ۱۳ رأس از نژاد دره‌شوری) نشان داد که میانگین سطح سرمی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به ترتیب ۲/۲±۱۳۲/۰۱، ۳/۳۳±۲۳/۱۳ و ۸/۳۲±۱۲۲/۲٤ واحد بر میلی‌لیتر در نژاد عرب و۱/۷۵±۱۱۵/۱۷، ۲/۹۸±۱۹/٦ و ۹/۸۷±۱۰۷/٤٤ واحد بر میلی‌لیتر در نژاد دره‌شور بوده به طوری که میانگین سطح سرمی این سه آنزیم در نژاد عرب بالاتر از نژاد دره‌شور بود. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده‌است، اختلاف مشاهده‌شده در سطح سرمی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز ازنظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). همچنین اگرچه سطح سرمی آنزیم کاتالاز در نژاد عرب بالاتر از نژاد دره‌شور بود ولی اختلاف مذکور، ازنظر آماری معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).



شکل ۱- سطح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سرم اسب‌های مورد بررسی
*: اختلاف آماری معنی دار بین دو نژاد عرب و دره‌شوری را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

از طرف دیگر، آزمون همبستگی اسپیرمن که بین وضعیت کل آنتی‌اکسیدانی و میزان مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز سرم اسب‌های دو نژاد عرب و دره‌شور انجام گردید، نتایج نشان داد که بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و فعالیت آنزیم کاتالاز در اسب نژاد عرب، همبستگی مثبت معنی‌دار (p<۰/۰۵) با ضریب همبستگی متوسط (r=۰/۵۷) وجود دارد.

همچنین بین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و مالون‌دی‌آلدئید، در اسب نژاد دره‌شور همبستگی منفی معنی‌دار (p=۰/۰۰۷) با ضریب همبستگی قوی (r=-۰/۷۱) دیده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر برخی فاکتورهای سیستم آنتی‌اکسیدانی به همراه مالون‌دی‌آلدئید در دو نژاد اسب عرب و دره‌شوری به‌عنوان نژادهای اصیل ایرانی، مقایسه شده و محدوده طبیعی این پارامترها معرفی شده است. نتایج نشان داد که ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و نیز سطح سرمی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در نژاد عرب در مقایسه با نژاد دره‌شور بالاتر و سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید پایین‌تر بود، هر چند این اختلاف فقط در سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز معنی‌دار بود. بالا بودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پایین بودن سطح MDA نشان‌دهنده وضعیت سلامت بهتر اسب‌های نژاد عرب می‌باشد. یک احتمال ممکن این است که نژاد و ژنتیک می‌تواند بر وضعیت اکسیداتیو اثر داشته باشد.

به‌طور مشابه بازانوو و همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه‌ای که وضعیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی دو نژاد عرب و هوکال را مقایسه کردند، تفاوت‌های وابسته به نژاد را در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی اسب‌ها نشان دادند و نتیجه گرفتند که سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی نژاد هوکال کارآمدتر از نژاد عرب است. در مطالعه آنها، فعالیت SOD به طور قابل توجهی در اسب‌های نژاد هوکال نسبت به اسبان نژاد عرب بالاتر بود، در حالی‌که غلظت نشانگرهای غیرآنزیمی TAC و MDA به طور مشخص پایین‌تر بودند. در مطالعه آنها محدوده طبیعی SOD در نژاد هوکال در جنس نر و ماده به ترتیب ۱/۲۹ NU/ml ±۱۸/۸۱ و NU/ml ۲۱/۳٤±۲/۰٦ و در نژاد عرب به ترتیب ۱/٤٦ NU/ml ±۱٤/۳۸ و ۱/٤۲ NU/ml ±۱۳/۸۲ بود. نامبردگان گزارش کردند که سطح کمتر فعالیت SOD در اسب‌های نژاد عرب نسبت به هوکال ممکن است در نتیجه نقص سیستم دفاعی آنتی اکسیدان به دلیل قرار گرفتن طولانی مدت در معرض استرس اکسیداتیو ناشی از واکسیناسیون، جابجایی و استفاده‌های تجاری باشد (Bażanów *et al*, 2020).

خانواده سوپراکسید دیسموتاز (SODs) اولین خط دفاعی در برابر گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) است (Lu *et al*., 2015). مطالعات نشان داده‌اند که افزایش فعالیت SOD، از میزبان در برابر باکتری‌ها و انگل‌های بیماری‌زا محافظت می‌کند و این تغییرات به فعالیت بدنی، رژیم غذایی و عوامل شیمیایی بستگی دارد (Bażanów *et al*., 2020). همچنین مشخص شده که آنزیم‌های SOD و GPX می‌توانند از سلول‌ها در برابر آسیب به DNA محافظت کرده و

آسیب‌های ناشی از اکسیدان‌ها را خنثی کنند (Strycharz-Dudziak *et al*., 2019). با توجه به این مطالب، می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً اسب‌های نژاد عرب نسبت به نژاد دره‌شوری در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و بیماری‌های مرتبط با آن مقاوم‌تر هستند.

اندازه‌گیری مقدار MDA سرم به طور گسترده به عنوان شاخص بیوشیمیایی آسیب پراکسیداتیو ناشی از استرس اکسیداتیو فیزیکی و یا شیمیایی به غشای سلول استفاده می‌شود (Grotto *et al*., 2007). در مطالعه حاضر میزان MDA در سرم اسبان نژاد دره‌شور بالاتر از مقدار آن در سرم اسب‌های عرب ثبت شد (µmol/l ۵۹/۵۶±۱/۰ در مقابل µmol/l ۹۸/۵۵±۰/۰). بازانوو و همکاران در سال ۲۰۲۰ محدوده طبیعی MDA را در اسب‌های نژاد عرب، در جنس نر µmol/l ۶۹/۸±۷/۱ و در جنس ماده µmol/l ۹۴/۴۸±۵/۱ و برای اسب‌های نژاد هوکال این مقادیر را در جنس‌های نر و ماده به ترتیب µmol/l ۲۸/۹۴±۲/۰ و µmol/l ۰۳/۱۳±۳/۱ گزارش کردند و نشان دادند که سطح MDA در اسب‌های نژاد عرب بالاتر از نژاد هوکال است (Bażanów *et al*., 2020).

مقدارTAC نشان‌دهنده فعالیت تجمعی تمام آنتی‌اکسیدان‌های موجود در سلول‌ها است که به شدت تحت تأثیر استرس اکسیداتیو قرار دارد (Serafini and Del Rio, 2004). بنابراین، TAC شاخص مربوط به وضعیت اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در تحقیق حاضر، فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی به نمایندگی TAC و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی از جمله سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در اسب‌های نژاد عرب به طور قابل توجهی بالاتر از اسبان نژاد دره‌شوری ثبت شد. سطح بالاتر فعالیت این آنتی‌اکسیدان‌ها در نژاد عرب و میزان پراکسیداسیون لیپیدی پایین‌تر این نژاد، که با شاخص MDA اندازه‌گیری می‌شود، نشان می‌دهد که احتمالا سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی اسب‌های نژاد عرب کارآمدتر از اسب‌های دره‌شوری می‌باشد و یا ماهیت عوامل استرس‌زا در این دو نژاد نسبتاً متفاوت است. الگوی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، توانایی طبیعی اسب‌ها را در سازگاری با عوامل استرس‌زای طبیعی حتی بدون هیچ‌گونه مداخله پزشکی نشان می‌دهد (Bażanów *et al*., 2020).

در تحقیق حاضر مشاهده گردید که اسب‌های دره‌شور در مقایسه با نژاد عرب سطح بالاتری از استرس اکسیداتیو را نشان می‌دهند که با افزایش سطح MDA و سطح پایین‌تر عوامل آنتی‌اکسیدان سلولی مشخص گردید. این یافته ممکن است نشان‌دهنده این مهم باشد که اسب‌های دره‌شوری، به دلیل ساختار فیزیولوژیک از حساسیت بیشتری برخوردار هستند، بنابراین احتمالاً پاسخ فیزیولوژیکی آن‌ها در برابر عوامل استرس‌زای محیطی قوی‌تر از اسب‌های نژاد عرب است. همچنین استرس‌های مربوط به جابجایی، قرار گرفتن در معرض محیط زیست و نیازهای غذایی هم ممکن است در این مورد نقش داشته‌باشند (Bażanów *et al*., 2020).

از طرف دیگر تغییر در پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی پلاسما، ممکن است مربوط به دفاع میزبان در برابر عفونت‌های انگلی نیز باشد. در همین راستا مطالعه‌ای روی ۵۸ رأس اسب آلوده به *تیلریا اکوئی* و *بابزیا کابالی* انجام شده و مقادیر

MDA، محصولات اکسیداسیون NO (نیترات و نیترات)، GSH، ویتامینE و میزان رتینول مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که در مقایسه با گروه شاهد، سطح MDA و نیترات به‌طور معنی‌داری در هر دو گروه آلوده افزایش‌یافته بود، درحالی‌که غلظت آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل GSH و ویتامینE به‌طور معنی‌داری کاهش داشت (Deger *et al*., 2009).

مطالعات قبلی نشان داده‌است که وضعیت آنتی‌اکسیدانی در اسب تحت تاثیر فاکتورهای مختلف سن (Kirschvink *et al*., 2006)، جنس (Abbasali Pourkabireh *et al*., 2000; Kirschvink *et al*., 2006)، نژاد (Lacerda *et al*., 2006;)، فعالیت ورزشی (Lacerda *et al*., 2006; Kirschvink *et al*., 2006) و حتی شرایط تغذیه‌ای (Mami *et al*., 2019) قرار می‌گیرد. شرایط تغذیه‌ای و فعالیت‌های ورزشی از مهم‌ترین عوامل موثر بر تولید ROS و همچنین تعادل بین اکسیدان‌ها/آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب می‌شوند که می‌توانند بر سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اثر بگذارند (Mami *et al*., 2019)، به طوری‌که فعالیت ورزشی با کاهش محسوس سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در خون و در نتیجه افزایش اکسیداسیون لیپیدی، سبب آسیب بافتی می‌شود. از این‌رو بالاتر بودن سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بعضی از نژادها اثر جبرانی بر کاهش این آنزیم‌ها در شرایط استرس داشته و در نتیجه آسیب بافتی کمتری در پی خواهد داشت (Leeuwenburgh and Heinecke, 2001). لذا مطابق نتایج مطالعه اخیر، سطح بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در نژاد عرب نسبت به دره‌شور می‌تواند این فرضیه را مطرح کند که احتمالاً مقاومت اسب نژاد عرب و آستانه سطح تحمل این نژاد در مقابل استرس‌های اکسیداتیو بیشتر باشد.

در مطالعه ما مشاهده شد که سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی نژاد عرب کارآمدتر از نژاد دره شوری است و اسب‌های نژاد دره‌شوری نسبت به اسب‌های عرب سطح بالاتری از استرس اکسیداتیو را دارند که می‌تواند ارتباط مستقیمی با میزان ابتلا به بیماری‌های مختلف، همچنین شرایط استرس‌زای مختلف و نوع استفاده از اسب داشته باشد. مطالعه حاضر نشان داد که نژاد و ژنتیک ممکن است در افزایش قدرت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی نقش داشته باشد. این احتمال وجود دارد که تفاوت در سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند وابسته به تفاوت در دیگر فاکتورهای بیوشیمیایی نیز باشد که نیازمند انجام مطالعات وسیع‌تر و کامل‌تری می‌باشد. با این وجود بررسی و تعیین اختلاف مشاهده‌شده در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیازمند طراحی مطالعات وسیع‌تر با در نظر گرفتن فاکتورهای مؤثر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند میزان برخی ریز مغذی‌هایی همچون سلنیوم، مس و منگنز می‌باشد، چرا که مطالعات بیشتر روی شاخص‌های اکسیداتیو به افزایش آگاهی ما از نقش اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیک کمک می‌کند و در پیشبرد فرآیندهای مرتبط با اکسیدان‌ها به عنوان اهداف درمانی آینده می‌تواند موثر باشد (Rahman *et al*., 2006).

سپاسگزاری

نویسندگان از آقای دکتر محمد قاسمی مدیر محترم آزمایشگاه رویان پژوه شهرکرد، بـه جهـت همکـاری در انجام آزمایشات مطالعه حاضر، تقدیر و تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام مـی‌دارنـد کـه هـیچ‌گونـه تضـاد منافعی ندارند.

منابع

- Abbasali Pourkabireh, M., Atyabi, N., Mojabi, A., Nadalian, M., Nowrouzian, I., Khazrainia, P., *et al*. (2000). A survey for biochemical pattern of Caspian Miniature ponies and comparing with Iranian Arab horses. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, 55(2): 37-41.
- Basit, A., Ali, M., Hussain, G., Irfan, S., Saqib, M., Iftikhar, A., *et al*. (2020). Effect of Equine Piroplasmosis on hematological and oxidative stress biomarkers in relation to different seasons in district Sargodha, Pakistan. Pakistan Veterinary Journal, 40(1): 43-48.
- Bażanów, B.A., Chełmecka, E., Romuk, E. and Stygar, D.M. (2020). Basic studies on the oxidative stress markers in two types of Horse breed: Semi-isolated population of Huculs is different from commercially used Arabian Horses. BioMed Research International, 2020: 1-10.
- Benzie, I.F. and Strain, J.J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in enzymology, 299: 15-27.
- Bottegaro, N.B., Gotić, J., Šuran, J., Brozić, D., Klobučar, K., Bojanić, K., *et al*. (2018). Effect of prolonged submaximal exercise on serum oxidative stress biomarkers (d-ROMs, MDA, BAP) and oxidative stress index in endurance horses. BMC Veterinary Research, 14(1): 1-9.
- Burton, G. J. and Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, 25(3): 287-299.
- Crimi, E., Sica, V., Williams-Ignarro, S., Zhang, H., Slutsky, A. S., Ignarro, L. J., *et al*. (2006). The role of oxidative stress in adult critical care. Free Radical Biology and Medicine, 40(3): 398-406.
- Crowley, J., Po. E., Celi, P. and Muscatello, G. (2013). Systemic and respiratory oxidative stress in the pathogenesis and diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia. Equine Veterinary Journal, 45(S45): 20-25.
- D'autréaux, B. and Toledano, M. B. (2007). ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 8(10): 813-824.
- Deaton, C.M. (2006). The role of oxidative stress in an equine model of human asthma. Redox Report, 11(2): 46-52.
- Deger, S., Deger, Y., Bicek, K., Ozdal, N. and Gul, A. (2009). Status of Lipid peroxidation, antioxidants and oxidation products of Nitric Oxide in Equine Babesiosis: Status of antioxidant and oxidant in Equine Babesiosis. Journal of Equine Veterinary Science, 29(10): 743-747.
- El-Deeb, W.M. and El-Bahr, S.M. (2010). Investigation of selected biochemical indicators of Equine Rhabdomyolysis in Arabian horses: pro-inflammatory cytokines and oxidative stress markers. Veterinary Research Communications, 34(8): 677-689.

- Firouz, L. (1998). The original ancestors of the Turkoman, Caspian horses. Proc. 1st Int. Conference on Turkoman Horse, Ashgabad, Turkmenistan.
- Grotto, D., Santa Maria, L.D., Boeira, S., Valentini, J., Char, M.F., Moro, A.M., *et al*. (2007) Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography–visible detection. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 43(2): 619-624.
- Kirschvink, N. and Lekeux, P. (2002). Oxidative stress in equine medicine-Current knowledge. Pferdeheilkunde, 18(6): 569-573.
- Kirschvink, N., De Moffarts, B. and Lekeux, P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. The Veterinary Journal, 177(2): 178-191.
- Kirschvink, N., De Moffarts, B., Farnir, F., Pincemail, J. and Lekeux, P. (2006). Investigation of blood oxidant/antioxidant markers in healthy competition horses of different breeds. Equine Veterinary Journal, 38(S36): 239-244.
- Kuloglu, M., Atmaca, M., Tezcan, E., Ustundag, B. and Bulut, S. (2002). Antioxidant enzyme and malondialdehyde levels in patients with panic disorder. Neuropsychobiology, 46(4): 186-189.
- Lacerda, L., Campos, R., Sperb, M., Soares, E., Barbosa , P., Godinho, E., *et al*. (2006). Hematologic and biochemical parameters in three high performance horse breeds from Southern Brazil. Archives of Veterinary Science, 11(2): 40-44.
- Leeuwenburgh, C. and Heinecke, J. (2001). Oxidative stress and antioxidants in exercise. Current Medicinal Chemistry, 8(7): 829-838.
- Lu, X., Wang, C. and Liu, B. (2015). The role of Cu/Zn-SOD and Mn-SOD in the immune response to oxidative stress and pathogen challenge in the clam *Meretrix meretrix*. Fish and Shellfish Immunology, 42(1): 58-65.
- Mami, S., Khaje, G., Shahriari, A. and Gooraninejad, S. (2019). Evaluation of biological indicators of Fatigue and Muscle damage in Arabian horses after race. Journal of Equine Veterinary Science, 78: 74-78.
- Rahman, I., Biswas, S.K. and Kirkham, P.A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. Biochemical Pharmacology, 72(11): 1439-1452.
- Ray, P.D., Huang, B.W. and Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. Cellular Signalling, 24(5): 981-990.
- Serafini, M. and Del Rio, D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? Redox Report, 9(3): 145-152.
- Shono, S., Gin, A., Minowa, F., Okubo, K. and Mochizuki, M. (2020). The oxidative stress markers of horses—the comparison with other animals and the influence of exercise and disease. Animals, 10(4): 1-9.
- Strycharz-Dudziak, M., Kiełczykowska, M., Drop, B., Świątek, Ł., Kliszczewska, E., Musik, I., *et al*. (2019). Total Antioxidant Status (TAS), Superoxide Dismutase (SOD), and Glutathione Peroxidase (GPx) in Oropharyngeal cancer associated with EBV Infection. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019: 1-15.
- Van der Kolk, J.H., Thomas, S., Mach, N., Ramseyer, A., Burger, D., Gerber, V., *et al*. (2020). Serum acylcarnitine profile in endurance horses with and without metabolic dysfunction. The Veterinary Journal, 255: 1-6.