بررسی تغییرات اکسیداتیو گلبول‌های قرمز در مواجهه تجربی با آفت‌کش لیندین در جوجه‌های گوشتی نژاد راس

جمیله سالارآملی[۱]، زهره خاکی[۲]، بهرام شجاع‌دوست[۳]، طاهره علی‌اصفهانی[۴]، سمانه‌السادات ناصری‌نیا[۵]

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۸

خلاصه

گاما هگزا کلرو سیکلوهگزان (لیندین) یکی از آفت‌کش‌های پایدار کلره است که به شکل شامپو یا لوسیون جهت کنترل کنه و شپش در انسان و حیوان و همچنین به عنوان حشره‌کش در کشاورزی استفاده می‌شود. خاصیت پایداری و چربی دوستی این ترکیب و نیز استفاده مکرر آن در محصولات کشاورزی سبب شده است که از نقطه نظر باقیمانده آن در محصولات کشاورزی و خوراک دام و انسان مورد توجه ویژه‌ای قرار داشته باشد. از آنجا که تحقیقات نشان می‌دهد ایجاد استرس اکسیداتیو و کم خونی از عوارض قابل توجه در هنگام مواجهه با برخی آفت‌کش‌ها به شمار می‌آید، لذا در این تحقیق بر آن شدیم تا اثرات اکسیداتیو این ترکیب را با اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی گلبول قرمز همچون کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز ارزیابی کنیم. همچنین مقادیر PCV و ارتباط آنها با فعالیت آنزیم‌ها مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق ۱۸۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم و به مدت ۴۵ روز با جیره غذایی حاوی صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ پی‌پی‌ام لیندین تغذیه شدند. در پایان ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روزگی وزن جوجه‌ها اندازه‌گیری شد و سپس خون‌گیری با هپارین به عمل آمد و کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز و PCV آنها اندازه‌گیری گردید. فعالیت کاتالاز گلبول قرمز در گروه ۲۵ پی‌پی‌ام در مقایسه با شاهد و سایر گروه‌ها در ۱۵ روزگی به طور معنی‌داری افزایش یافته ($p<۰/۰۵$)، پایین‌ترین و بالاترین فعالیت کاتالاز به ترتیب در گروه‌های ۷۵ و ۲۵ پی‌پی‌ام دیده شد. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در تمام گروه‌ها در مقایسه با کنترل در روز ۱۵ به طور معنی‌داری افزایش و سپس در روز ۴۵ کاهش یافت. اندازه‌گیری PCV نشان داد که تغییر معنی‌داری مابین گروه‌ها و کنترل وجود ندارد. بنابراین از این تحقیق نتیجه‌گیری می‌شود که تجویز لیندین باعث تغییراتی در فعالیت کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز می‌شود. این تغییرات توام با تغییرات PCV که از نشانه‌های کم‌خونی در پرندگان است، نمی‌باشد.

کلمات کلیدی: گلبول قرمز، لیندین، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، استرس اکسیداتیو، هماتوکریت

مقدمه

هیدروکربن‌های کلردار گروهی از حشره‌کش‌ها می‌باشند که به دلیل خاصیت چربی دوستی و دوام محیطی بالایی که دارند، می‌توانند در محصولات کشاورزی، زنجیره غذائی از جمله خوراک دام و مایعات بیولوژیک تجمع یافته و از این جهت از نگرانی‌های بهداشت عمومی به حساب می‌آیند. از جمله حشره‌کش‌های این گروه، هگزا کلرو سیکلوهگزان می‌باشد که ایزومرهای آن دارای قدرت حشره‌کشی قوی بوده و خالص‌ترین آنها که دارای ایزومر گاما می‌باشد، لیندین نام‌گذاری گردیده است (۷). لیندین از سال‌های

[۱] دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران E-mail: jsalar@ut.ac.ir (نویسنده مسئول)
[۲] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
[۳] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
[۴] کارشناس گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
[۵] دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

گذشته در مبارزه با آفات کشاورزی، جهت برطرف کردن انگل‌های خارجی دام‌ها و همچنین به عنوان جونده کش مورد استفاده می‌باشد (۱۳). در طی سال‌ها تحقیق و مطالعه در مورد لیندین و باقیمانده‌های پایدار آن در غذا و محیط زیست، محققان دریافتند که این ماده در سرطان‌زایی، ناباروری، اختلالات غدد آندوکرین و بیماری‌های دیگر در انسان و حیوانات دخالت دارد. لیندین به طور مستقیم و یا از راه غذای دام وارد گوشت و شیر شده و نیز به مقدار بالایی در چربی‌های بدن حیوانات ذخیره می‌شود (۷).

علی‌رغم منع و یا محدود شدن مصرف این ترکیب در بسیاری از کشورها، هنوز هم گزارشات متعددی از مصرف و اثرات سوء ناشی از باقیمانده‌های آن حتی در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه وجود دارد (۷ و ۸). در سال ۲۰۰۷ Wang و همکاران در بررسی و ارزیابی آفت‌کش‌های ارگانو کلره در رسوبات سه رودخانه در کشور چین، حضور لیندین را بیشتر از سایر آفت‌کش‌ها گزارش نموده که احتمالاً به علت زهکشی آب از خاک آلوده و انتقال آفت‌کش‌ها به آنها می‌باشد (۱۹). Kessabi و همکاران (۱۹۹۰) میزان آلودگی تخم مرغ، کبد طیور و کبد و کلیه گاو را به ارگانو کلره‌ها در ۵ ناحیه جغرافیایی مختلف در مراکش بررسی کردند. در این تحقیق در ۹۳ درصد از نمونه‌ها لیندین جدا شد که در ۷/۵ درصد از نمونه‌ها میزان باقیمانده لیندین بیشتر از حداکثر مجاز گزارش شد (۱۱). حضور باقیمانده لیندین در تخم مرغ توسط سالارآملی و همکاران (۲۰۰۹) نیز اعلام شده است (۱۵).

از جمله اثراتی که در مورد لیندین گزارش شده است تغییر در عملکرد قلب و عروق و سیستم دستگاه تناسلی و سایر ارگان‌ها می‌باشد که مکانیسم آنها را به استرس اکسیداتیو نسبت داده‌اند (۱۷). در حقیقت زمانی استرس اکسیداتیو واقع می‌شود که تعادل بین تولید ترکیبات مشتق از اکسیژن یا رادیکال آزاد و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در بدن، به نفع ترکیبات فعال مشتق از اکسیژن به هم بخورد (۹ و ۱۰). در مقابل این اثرات اکسیداتیو، بدن با عوامل آنتی‌اکسیدان از جمله آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز از خود دفاع می‌نماید (۳، ۵ و ۲۱). کاتالاز به همراه گلوتاتیون پراکسیداز نقش محافظتی هموگلوبین و اجزاء سلولی را در مقابل عوامل اکسید کننده در گلبول قرمز ایفا می‌کند (۲ و ۶).

در خصوص اثرات استرس اکسیداتیو لیندین در حیوانات، تحقیقاتی انجام گرفته است. در این تحقیقات بیشتر از موش صحرایی و ماهی استفاده شده است. اما در خصوص اثر لیندین در ایجاد استرس اکسیداتیو و تأثیر روی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های طیور، که علاوه بر منبع پروتئینی می‌توانند مدل حیوانی مناسبی در مطالعات استرس اکسیداتیو باشند، تحقیقات اندکی صورت گرفته است. از این رو، هدف این تحقیق بر آن قرار گرفته است که اثرات اکسیداتیو لیندین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در گلبول قرمز در جوجه‌های گوشتی نژاد راس را در یک دوره کامل پرورش مورد بررسی قرار دهد. همچنین از آن جا که اندازه‌گیری PCV ساده‌ترین و دقیق‌ترین روش معمول آزمایشگاهی برای ارزیابی ابتلا به کم خونی در پرندگان است (۱۸) بر آن شدیم تا ارتباط فعالیت آنزیم‌های مؤثر در مقابله با استرس اکسیداتیو در گلبول قرمز و مقادیر PCV را در دوزهای بالاتر از دوز غیر موثر لیندین که ۱۰ mg/kg می‌باشد (۷)، همزمان ارزیابی کنیم. از آنجا که طیور به عنوان یک منبع پروتئینی در تغذیه انسان نقش عمده‌ای دارند، شناسائی عوامل مؤثر در کاهش رشد و کیفیت محصول آنها می‌تواند ضمن تاثیر بر تغذیه و سلامت انسان از نظر باقیمانده‌ها، از نظر اقتصادی نیز از خسارت‌های احتمالی به صنعت مرغداری بکاهد.

مواد و روش کار

در این تحقیق ۱۸۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس به طور تصادفی در ۴ گروه ۴۵ قطعه‌ای در ۱۲ قفس توزیع

شدند. جوجه‌های هر تیمار در ۳ قفس جداگانه (هر قفس ۱۵ جوجه) قرار گرفتند. جیره پایه جوجه‌ها از جیره متداول طیور گوشتی نژاد راس بود و جوجه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا، روشنائی ۲۴ ساعته و درجه حرارت محیطی در حد اپتیمم داشتند. گروه کنترل (گروه یک) فقط جیره متداول دریافت می‌کرد. جوجه‌های گروه‌های دو، سه و چهار به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۷۵ پی‌پی‌ام لیندین که به طور یکنواخت با جیره پایه آنها مخلوط شده بود از روز اول تا ۴۵ روزگی دریافت کردند. جهت اطمینان از نظر عدم حضور لیندین و صحت دوزهای مورد استفاده، جیره پایه در ابتدا و جیره‌های تیمار بعد از اضافه نمودن لیندین توسط دستگاه کروماتوگرافی مجهز به دتکتور الکترون کپچر آزمون شدند. نمونه‌برداری به صورت حذفی در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روزگی و در هر نوبت ۱۵ جوجه انجام شد. در هر نوبت نمونه‌برداری، ابتدا جوجه‌ها قبل از ذبح به طور جداگانه وزن شده و سپس حدود ۵ میلی‌لیتر خون هپارینه برای اندازه‌گیری سطح کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز از هر جوجه اخذ و در مجاورت کیسه یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل شد. در آزمایشگاه خون با استفاده از سانتریفوژ یخچال‌دار (۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه) سانتریفوژ و سپس مبادرت به جداسازی پلاسما از گلبول‌های قرمز شد. گلبول‌های قرمز سه بار با ۵ برابر حجم خود با سرم فیزیولوژی سرد شستشو داده، هر بار بعد از اضافه کردن سرم فیزیولوژی مجدداً آن را سانتریفوژ کرده و مایع رویی دور ریخته شده و به این ترتیب گلبول قرمز شسته شده تهیه شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز گلبول‌های قرمز

ابتدا از گلبول قرمز شسته شده همولیزات استوک تهیه شد. بدین صورت که ۲۰۰ میکرولیتر از گلبول قرمز شسته شده را در بالن ۲۵ میلی‌لیتری با بافر فسفات سرد (pH= ۷) به حجم رسانده و به شدت مخلوط می‌کنیم (پایداری آنزیم در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد حدود ۶ روز است). سپس از همولیزات تهیه شده، ۲ میلی‌لیتر در لوله بلانک و لوله نمونه ریخته شد. فقط به لوله نمونه یک سی‌سی پراکسید هیدروژن اضافه گردید، در حالی که به لوله بلانک یک میلی‌لیتر بافر فسفات افزوده شد. در نهایت کاهش جذب نوری در طول موج ۲۴۰ نانومتر تا ۳۰ ثانیه پی‌گیری می‌شود و فعالیت آنزیم بر اساس فرمول Aebi و با تفاضل جذب بلانک از نمونه اندازه‌گیری می‌شود (۱).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز

۱۰۰ میکرولیتر از گلبول قرمز شسته شده را با ۵۰۰ میکرولیتر تریتون ۰/۵ درصد مخلوط کرده و سریعاً ورتکس شد. نمونه را به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در ظرف یخ نگهداری کرده و پس از سانتریفوژ (۸۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۰ دقیقه، مایع رویی را برای سنجش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در فریزر نگهداری و حداکثر ظرف مدت یک هفته فعالیت آنزیم را با استفاده از کیت رندکس (Randox diagnostic) اندازه‌گیری گردید. فریز کردن به مدت یک هفته منجر به تغییراتی در فعالیت آنزیم نمی‌شود (۴).

اندازه‌گیری PCV

به هنگام خون‌گیری با استفاده از لوله هپارینه میکروهماتوکریت، PCV با روش معمول آزمایشگاه هماتولوژی اندازه‌گیری گردید.

روش‌های آماری

ابتدا داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف آزمون و سپس بعد از اطمینان از برقراری شرط نرمال بودن، از واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در نرم‌افزار SPSS برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد.

نتایج

جدول ۱، مقادیر وزن، فعالیت آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز در جوجه‌های آلوده شده با ۲۵، ۵۰ و ۷۵ پی‌پی‌ام لیندین را در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روزگی نشان می‌دهد.

جدول ۱: مقادیر وزن، فعالیت آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز در جوجه‌های شاهد و تیمارهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ پی‌پی‌ام لیندین

تیمار / سن (روز)	پارامترهای اندازه‌گیری شده	گروه شاهد انحراف‌معیار± میانگین	گروه ۲۵ پی‌پی‌ام انحراف‌معیار± میانگین	گروه ۵۰ پی‌پی‌ام انحراف‌معیار± میانگین	گروه ۷۵ پی‌پی‌ام انحراف معیار± میانگین
۱۵	وزن (گرم)	a۴۳۰/۲±۲۰/۳	a۴۸۶/۰±۲۲/۸	a۴۸۴/۸±۱۷/۴	a۴۸۷/۳±۲۷
	کاتالاز (U/g Hb)	a۱/۶۱±۰/۱۴	b۲/۶۶±۰/۳۳	a۱/۶۱±۰/۳	a۱/۴۲±۰/۲۲
	گلوتاتیون پراکسیداز (U/g Hb)	a۵۱/۹۹±۱۷/۷۳	b۱۷۸/۰۲±۲/۷۷	b۱۶۵/۴±۲/۰۶	c۱۲۶/۷۶±۲۰/۲۸
۳۰	وزن (گرم)	ab۱۲۲۸/۸±۴۲/۳	a۱۳۲۵/۳±۵۶/۷	ab۱۱۶۲/۱±۲۶/۸	b۱۰۷۳/۱±۳۰/۷
	کاتالاز (U/g Hb)	a۱/۸۶±۰/۲۶	b۲/۸۷±۰/۱۷	a۱/۹±۰/۱۹	a۱/۷۱±۰/۲۸
	گلوتاتیون پراکسیداز (U/g Hb)	a۱۰۳/۳۹±۱/۸	a۱۰۸/۳±۴۲/۸۳	a۱۰۹/۷۵±۳۶/۷۲	a۸۳/۲۶±۲۱/۹۷
۴۵	وزن (گرم)	a۲۴۶۵/۳±۵۷/۳	b۲۶۴۱/۴±۵۴/۴	c۲۴۳۰/۳±۹۳/۳	d۲۱۰۳/۳±۵۱/۶
	کاتالاز (U/g Hb)	a۲/۱۷±۰/۳۴	a۲/۹±۰/۴	a۲/۳۲±۰/۲۹	a۲/۱±۰/۶۱
	گلوتاتیون پراکسیداز (U/g Hb)	a۱۶۵/۴±۲۲/۰۳	b۸۷/۷۳±۳۰/۳۷	b۸۵/۸۵±۳۰/۷۴	b۸۴/۱۳±۱۸/۱۷

حروف غیر متشابه در هر ردیف و هر ستون جدول نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد.

در بررسی‌های بالینی قبل از نمونه‌برداری مشاهدات نشان داد که وزن جوجه‌های گروه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰ و ۷۵ پی‌پی‌ام، با کاهش در دوره پرورش همراه می‌باشد در حالی که در تیمار ۲۵ پی‌پی‌ام، افزایش وزن نسبت به گروه شاهد مشاهده شد، به صورتی که بیشترین میزان وزن در ۴۵ روزگی، به گروه ۲۵ پی‌پی‌ام و کمترین آن به گروه ۷۵ پی‌پی‌ام تعلق داشت که این تغییرات معنی‌دار بوده است. به طور کلی تغییرات وزن در مواجهه با عوامل سمی می‌تواند ناشی از اثرات سیستمیک، کاهش دریافت غذا، کاهش ضریب تبدیل غذا و .... باشد. از آنجا که تغییرات وزن از اهداف این مطالعه نبوده و تنها جهت روشن نمودن وضعیت بالینی جمعیت مورد مطالعه ذکر شده‌اند، لذا علل تغییرات وزن به تحقیق دیگری موکول می‌شود. علائم دیگر بالینی و مرگ و میر در طی دوره پرورش مشاهده نشد.

تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در زمان و تیمارهای مختلف نشان داد در روزهای ۳۰ و ۱۵ روزگی اختلافات مشاهده شده نسبت به گروه شاهد در مقادیر مختلف معنی‌دار بوده است ($P<0/05$). آزمون دانکن نشان داد که در ۱۵ روزگی بین گروه ۲۵ پی‌پی‌ام با گروه‌های دیگر

اختلاف معنی‌دار می‌باشد که در این ارتباط کمترین میزان فعالیت کاتالاز مربوط به گروه ۷۵ پی‌پی‌ام و بیشترین میزان فعالیت مربوط به گروه ۲۵ پی‌پی‌ام می‌باشد. اما در ۴۵ روزگی اختلاف معنی‌داری در تیمارها با گروه شاهد مشاهده نشده است و این به آن معنا است که فعالیت آنزیم در سایر گروه‌ها نیز روند افزایشی در طی زمان داشته است.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در همه تیمارها در ۱۵ روزگی نسبت به گروه شاهد روند افزایشی داشته و در این بین بیشترین مقدار متعلق به تیمار ۲۵ پی‌پی‌ام و کمترین مربوط به تیمار ۷۵ پی‌پی‌ام بوده در حالی که اختلاف مشاهده شده معنی‌دار نبوده است (P≥۰/۰۵). در ۳۰ روزگی اختلافی مابین گروه‌ها مشاهده نشد اما مجدداً در ۴۵ روزگی اختلاف تیمارها با گروه شاهد معنی‌دار (P≥۰/۰۵) بود ولی میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای مختلف یکسان شد.

PCV جوجه‌های ۳۰ روزه نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری مابین آنها وجود ندارد. در جوجه‌های ۴۵ روزه نیز فقط مابین تیمارهای ۲۵ و ۷۵ پی‌پی‌ام اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۲).

جدول ۲: مقادیر PCV گروه‌های شاهد و مسموم شده با لیندین در ۳۰ و ۴۵ روزگی

تیمار / سن (روز)	گروه شاهد انحراف‌معیار± میانگین	گروه ۲۵ پی‌پی‌ام انحراف‌معیار± میانگین	گروه ۵۰ پی‌پی‌ام انحراف‌معیار± میانگین	گروه ۷۵ پی‌پی‌ام انحراف‌معیار± میانگین
۳۰	[a]۲۹/۲۵ ±۱/۵	[a]۲۹/۸۱ ±۱/۸۵	[a]۲۹/۱۸ ±۲/۵۶	[a]۲۹/۲۵ ±۱/۴۱
۴۵	[a]۳۰/۵۸ ±۳/۱۱	[abc]۲۹/۷۵ ±۱/۸۷	[a]۳۰/۸۴ ±۲/۷۶	[ab]۳۳/۳۷±۳/۴۹

حروف غیر متشابه در جدول نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد.

بحث

سموم پایدار کلره از جمله لیندین یکی از سمومی است که در سال‌های گذشته برای مبارزه با آفات کشاورزی و جهت درمان انگل‌های خارجی دام‌ها به طور وسیع استفاده شده است و امروزه نیز علی‌رغم محدود یا ممنوع شدن مصرف این گونه سموم در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه، هنوز هم از آن استفاده می‌شود. این سموم در طبیعت ماندگاری بالایی دارند و از طرف دیگر مقدار زیادی از آنها در چربی‌های بدن حیوانات ذخیره شده و بدین ترتیب ممکن است از طریق گیاهان و یا مواد غذایی با منشاء دامی مانند گوشت، شیر و تخم‌مرغ وارد بدن انسان شوند. محققان معتقدند که باقیمانده لیندین در سرطان‌زایی، ناباروری و بیماری‌های دیگر از قبیل اختلالات غدد آندوکرین در انسان و حیوانات دخالت دارد (۷).

بر طبق گزارش EFSA (۲۰۰۵)، مقادیر ۱۰mg/kg لیندین در جیره غذایی، برای مدت ۶۰ روز در مرغ‌های تخم‌گذار اثری بر وزن بدن، مرگ و میر و حتی علائم بالینی نداشته است، بنابراین دوز غیر موثر در طیور ۱۰mg/kg گزارش شده است (۷). White Head و همکاران (۱۹۷۲) با مقادیر ۱۰۰mg/kg در جیره غذایی طیور در مدت ۲ هفته و یا بیشتر، فقط کاهش تولید تخم را گزارش کردند و علائم بالینی دیگری در تیمارها مشاهده نکردند (۲۰) اما در موش‌های صحرایی در معرض دوزهای بالای لیندین (۸۰۰mg/kg) در جیره غذایی، کاهش وزن ۱۵ درصدی در مقایسه با گروه کنترل در طی ۶ هفته مشاهده شد (۷). در تحقیق حاضر به غیر از کاهش وزن در جوجه‌های تیمار ۵۰ و ۷۵ پی‌پی‌ام، هیچ گونه علائم بالینی و مرگ و میر در دوره پرورش مشاهده نگردید. در حالی که حضور ۲۵ پی‌پی‌ام لیندین در جیره

غذایی نه تنها رشد را متأثر نموده بلکه سبب افزایش آن حتی نسبت به گروه شاهد شده است. این امر می‌تواند نامحسوس بودن اثر حضور باقیمانده لیندین را در جیره غذایی طیور حتی با دوزهای کمی بالاتر از ۱۰mg/kgمتذکر شود. در این تحقیق تا سن ۴۵ روزگی بیشترین میزان رشد به گروه ۲۵ پی‌پی‌ام و کمترین آن به گروه ۷۵ پی‌پی‌ام تعلق داشت.

سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز به عنوان بیومارکرهای استرس اکسیداتیو مطرح می‌باشند (۱۴). کاتالاز به همراه گلوتاتیون پراکسیداز نقش محافظتی هموگلوبین و اجزاء گلبول قرمز را در مقابله با رادیکال‌های آزاد و عوامل اکسید کننده از قبیل سموم ایفا می‌کند (۲۱ و ۲). گلوتاتیون پراکسیداز در سیتوزول و میتوکندری بافت‌های مختلف همه سلول‌های یوکاریوت یافت می‌شود. در کبد بیشترین و در قلب، ریه، مغز و عضله کمترین مقدار را دارد. سوبسترای غیر اختصاصی این آنزیم مشتقاتی از پراکسید هیدروژن است که DNA و غشای سلولی را پراکسیده می‌کند. این آنزیم برای گلوتاتیون اختصاصی است. همچنین حفاظت سلول‌ها را در برابر پراکسیداسیون لیپیدی انجام می‌دهد. کمبود ارثی یا غذایی GPX باعث می‌شود در اثر مواجهه با داروها یا موادی که H_2O_2 و O_2 تولید می‌کنند فرد دچار اختلال همولیتیک شود (۶). کاتالاز یک هموپروتئین است که به طور گسترده در بافت‌های گیاهی و حیوانی وجود دارد. در بافت‌های حیوانی در کبد و کلیه دارای بیشترین و در بافت همبند کمترین مقدار است. کاتالاز در گلبول قرمز بالغ به صورت آزاد وجود دارد و مقدار اندکی از آن به پروتئین‌های سلول متصل است. به نظر می‌رسد کاتالاز تنها آنزیمی است که عملکرد دوگانه دارد:

۱- تجزیه H_2O_2 به H_2O و O_2 که نشان دهنده فعالیت کاتالیتیک آنزیم است.

۲- اکسیداسیون ترکیبات حاوی هیدروژن مانند متانول، اتانول، اسید فرمیک و فنل‌ها

در غلظت‌های پائین H_2O_2، فعالیت پراکسیداتیو غالب است و در صورت وجود غلظت‌های بالای H2O2، فعالیت کاتالیتیک آنزیم بسیار بالاست. کاتالاز به همراه گلوتاتیون پراکسیداز در گلبول قرمز نقش محافظت هموگلوبین و اجزاء سلولی را در مقابل عوامل اکسید کننده ایفاء می‌کند (۲).

Samanta و همکاران (۱۹۹۷) با دوز ۵۰mg/kg لیندین به صورت تزریق داخل صفاقی در جوجه‌های ۳۰ روزه گزارش کردند که سطح گلوتاتیون پراکسیداز در کبد افزایش پیدا کرده در حالی که در جوجه‌های ۷ روزه سطح گلوتاتیون بدون تغییر باقی ماند. در هر ۲ گروه سنی، سطح فعالیت آنزیم کاتالاز تغییری نداشته است و چنین نتیجه گرفتند که تغییرات پارامترهای استرس اکسیداتیو القاء شده به وسیله لیندین در کبد جوجه‌ها وابسته به سن است (۱۶).

Bainy و همکاران (۱۹۹۳) در مطالعه ۶۰ تا ۹۰ روزه با مقادیر ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام لیندین در غذای موش صحرایی تغییری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز مشاهده نکردند. اما در کبد، کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را اعلام نمودند (۲). Prasad و همکاران (۲۰۰۵) در یک مواجهه تحت حاد با دوز ۵۰۰mg/kg لیندین در غذای موش صحرایی، نشان دادند که سمیت لیندین با مدت مواجهه آن افزایش می‌یابد و غذای مصرفی و وزن بدن به تدریج کم می‌شود. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به جز کاتالاز، در گلبول‌های قرمز کم شده، در حالی که در بافت‌های کبد و کلیه، فعالیت این آنزیم‌ها با یک افزایش همراه بود (۱۲).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در گلبول‌های قرمز جوجه خروس‌های گوشتی نژاد راس نشان داد که لیندین حتی از ۱۵روزگی تاثیر خود را روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گذارد. به گونه‌ای که افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در ۱۵ روزگی در گروه ۲۵ پی‌پی‌ام کاملاً مشهود است. اما در ۴۵ روزگی افزایش قابل توجهی در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد

مشاهده نمی‌شود. افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز نیز در ۱۵ روزگی در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد مشاهده شد اما در ۴۵ روزگی روند فعالیت آنزیم به صورت کاهشی است، به گونه‌ای که فعالیت آنزیم مذکور در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

PCV، سریع‌ترین و عملی‌ترین روش برای ارزیابی توده سلول قرمز در پرندگان است (۱۸). علی‌رغم تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گلبول‌های قرمز، میزان PCV تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشته و تنها مابین گروه‌های ۲۵ و ۷۵ پی‌پی‌ام در ۴۵ روزگی اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود که علت آن مشخص نمی‌باشد.

بنابراین در این تحقیق نتیجه‌گیری می‌شود که در ۱۵ روزگی تغییرات دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن قابل مشاهده است و در ۴۵ روزگی با تکرار تجویز سم و افزایش مقادیر لیندین، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ویژه گلوتاتیون پراکسیداز مشاهده می‌گردد. البته افزایش و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های مذکور ارتباط قابل توجهی با میزان PCV در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد ندارد. به تعبیر دیگر، تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گلبول‌های قرمز توام با تغییرات حجم فشرده شده سلولی در گلبول‌های قرمز نمی‌باشد. انجام این تحقیق و نتایج به دست آمده می‌تواند پایه‌ای برای تحقیقات کاملتری باشد که در آنها ارتباط تغییرات آنزیمی گلبول‌های قرمز با سایر پارامترهای استرس اکسیداتیو مانند لیپید پراکسیداسیون و یا تغییرات پروتئینی غشا که تغییرات ساختاری گلبول را نیز بهتر منعکس می‌نمایند، مورد ارزیابی قرار گیرند.

منابع

1- Aebi H. (1970). Catalase in vitro, Methods in enzymology, Academic Press, Vol. 105: 121-160.

2- Bainy A.C.D., Arisi A.C.M., Azzalis L.A., Simizu K., Barros S.B.M., Videla L.A. and et al. (1993). Diffferntial effects of short- term lindane administration on parameters related to oxidative stress in rat liver and erythrocytes. Journal of Biochemical Toxicology, 8: 187-194.

3- Banerjee B.D., Seth V., Bhattacharya A., Pasha S.T. and Chakraborty A.K. (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free radical scavengers. Toxicology Letter, 107: 33–47.

4- Blankenberg S., Rupprecht H.J., Bickel C., Torzewski M., Hafner G., Tiret L. and et al. (2003). Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. The New England Journal of Medicine, 349 17: 1605-13.

5- Bottje W.B., Wideman R.F.JR. (1995). Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrome. Poultry and Avian Biology Reviews, 6: 221-231.

6- Cochrane C.G. (1991). Cellular injury by oxidants. The American Journal of Medicine, 91: 235-305.

7- European Food Safety Authority (2005). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to gamma –HCH and other hexachlorohexanes as undesirable substances in animal feed. European Food Safety Authority Journal, 250: 1-39.

8- Gupta R.C. (2007). Veterinary toxicology basic and clinical principle. Elsevier, Paris, pp: 489-493, 663, 664, 675.

9- Gutteridge J.M.C. (1995). Lipid per oxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical Chemistry, 41(12): 1819-28.

10- Junqueira V.B.C., Koch O.R., Arisi A.C.M., Fuzaro A.P., Azzalis L.A., Barros S.B.M. and et al. (1997). Regression of morphological alterations and oxidative stress-related parameters after acute lindane-induced hepatotoxicity in rats. Toxicology, 117: 199-205.

11- Kessabi M., Abdennebi E., Laraje R. and Lhafi A. (1990). Contamination of eggs, poultry liver and bovine liver and kidney by chlorinated pesticides in Morocco. Science of the Total Environment, 90: 283-287.

12- Prasad S. and Soni G. (2005). Oral toxicity of lindane (γ-HCH) as a function of duration of exposure in rats. Biochemical effects. Toxicology International, 12: 17-23.

13- Roder J.D. (2001). Veterinary Toxicology. Butter, Worth Heinmann, Oxford, pp: 224,227.

14- Sadighara P. (2009). RBC: Tool for oxidant agents screening test. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 33: 2970-73.

15- Salar Amoli J. and Ali Esfahani T. (2009). Persistent and non persistent organochlorine pesticides residues in table eggs collected in Tehran vicinity, 1th International Congress of Food Hygine, Tehran, Iran, pp: 25-26.

16- Samanta L. and Chainy G.B. (2000). Mediation of oxidative stress in HCH-induced neurotoxicity in rat. Archive of Environmental Contamination and Toxicology, 39: 7-12.

17- Seth V., Ahmad R.S., Suke S.G., Pasha S.T., Bhattacharya A. and Banerjee B.D. (2005). Lindane-induced immunological alterations in human poisoning cases. Clinical Biochemistry, 38 (7): 678-680.

18- Thrall M.A. (2004). Veterinary Hematology and Clinical Chemistry, Lippincott Williams and Wilkins, London. pp: 233.

19- Wang H.Z., He M.C., Lin C., Quan X.C., Guo W. and Yang Z.F. (2007). Monitoring and assessment of persistent organochlorine residues in sediments from the Daliaohe river watershed, Northeast, of China. Environmental Monitoring and Assessment, 133: 231-242.

20- White Head C.C., Dowing A.G. and Pettigrew R.J. (1972). The effects of lindane on laying hens. British poultry Science, 13: 239-299.

21-Zhang X., Yang F., Zhang X., Xu Y., Liao T., Song S. and et al. (2008). Induction of hepatic enzymes and oxidative stress in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to waterborne hexabromocyclododecane (HBCDD). Aquatic Toxicology, 86(1): 4-11.