

تاثیر عصاره آبی چای سفید بر سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی بافت کبد در موش های صحرائی مواجهه شده با آرسنیک

محمدحسن رسولی فرد^{۱*}، یاسر نوظهور^۲

(۱) گروه آموزشی بهداشت مواد غذایی و آبزیان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
(۲) باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۸

۹۵/۷/۴

تاریخ دریافت:

چکیده

مقدمه: فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی ظرفیت بالای آنتی اکسیدانی و نقش مهم در سلامتی دارند و باعث افزایش سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو می گردند. چای سفید نیز از جمله گیاهانی هست که به دلیل ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر چای سفید بر استرس اکسیداتیو ناشی از آرسنیک می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه از ۳۲ موش صحرائی نر بالغ در چهار گروه هشت تایی استفاده شد. گروه اول موش های صحرائی سالم (گروه شاهد) که آب مقطر را روزانه به همراه رژیم غذایی استاندارد به صورت گاواژ دریافت کردند. گروه دوم موش های صحرائی تیمار شده با آرسنیک با دوز 50 (mg/L) در آب آشامیدنی، گروه سوم موش های صحرائی تیمار شده با عصاره چای سفید با غلظت ۱/۵ درصد به صورت گاواژ و گروه چهارم موش های صحرائی که عصاره آبی چای سفید (۱/۵ درصد) را از طریق گاواژ همراه با آرسنیک 50 (mg/L) در آب آشامیدنی دریافت کردند. بعد از پایان دوره تیمار (۲۸ روز) رت ها با استفاده از اتر بی هوش شده و سپس کالبدگشائی انجام شد و سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پر اکسیداز (GPx) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) و شاخص پر اکسیداسیون لیپیدی (MDA) کبدی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش: عصاره آبی چای سفید باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های CAT، GPx و SOD و کاهش معنی دار MDA و افزایش TAC گردید ($P < 0/05$) و مصرف آرسنیک سدیم نیز باعث کاهش معنی دار فعالیت آنزیم های CAT، GPx و SOD و افزایش معنی دار MDA و افزایش TAC گردید ($P < 0/05$) و مصرف عصاره آبی چای سفید همراه آرسنیک سدیم باعث افزایش فعالیت معنی دار GPx و SOD گردید ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که مصرف چای سفید با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از آرسنیک می گردد. در بررسی حاضر نیز آرسنیت سدیم باعث کاهش فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدان و افزایش پر اکسیداسیون لیپیدی شد.

واژه های کلیدی: آرسنیک، آنزیم های آنتی اکسیدان، استرس اکسیداتیو، چای سفید

* نویسنده مسئول: گروه آموزشی بهداشت مواد غذایی و آبزیان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

Email: rasoulifardmohamadhasan@yahoo.com

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

گزانترین (کافئین، تیوفیلین، تیئوروبومین) هستند (۱۶). فلاونوئیدها شامل فلاونولها و کاتچینها، آنتی-سیانین و ایزو فلاونوئیدها می باشد. ترکیبات مهم فنولیک موجود در برگ های چای کاتچینها هستند که ساختار بالای ۳۰ درصد وزن خشک چای را تشکیل می دهند (۱۷). کاتچینهای مهم در چای سفید اپی-کاتچین، اپی گالو کاتچین، اپی کاتچین-۳-گالات و اپی گالو کاتچین-۳-گالات که گالاتهای فلاونول هستند. یا همان اپی گالو کاتچین-۳-گالات (Epigallocatechin 3-gallate)، مقدار بالای کاتچین را تشکیل می دهد (۱۸). گزارشها نشان می دهد که غلظت پلی فنل های توتال، کاتچینها و اسید گالیک، کافئین، تیئوروفینها، EGC، ECG و EGCG به طور ویژه در چای سفید بالا تر از چای سبز است (۱۹). در سالهای اخیر ترکیبات آنتی-اکسیدان به طور مستمر مطالعه شده است، که حاکی از توانایی بالای آنها در پاک کردن رادیکالهای آزاد و کاهش اکسیداسیون می باشد (۲۰). با توجه به این که مطالعات اندکی در رابطه با اثرات حفاظتی چای سفید انجام گرفته است، لذا هدف از این بررسی مطالعه اثرات حفاظتی چای سفید در آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط آرسنیک در کبد و فعالیت آنتی اکسیدانی آن در موش های صحرایی تغذیه شده با این عصاره می باشد.

مواد و روشها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۹۳ در دانشکده دام پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام شد. در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی بود. در این مطالعه ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات دردمای 22 ± 2 درجه سلیسیوس، رطوبت محیطی 38 ± 2 درصد، دوره های متوالی ۱۲ ساعته نور و تاریکی قرار گرفتند. موشها بعد از ۷-۵ روز سازش با محیط به طور تصادفی به ۴

استرس اکسیداتیو نمایان گر عدم توازن میان رادیکال های فعال اکسیژن (ROS) و سیستم دفاعی آنتی-اکسیدانی بدن بوده و می تواند باعث اختلال در مکانیسم طبیعی سیگنال های سلولی شود (۱). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) آنزیمی است که پاکسازی رادیکال های سوپر اکسید (O_2^-) یا هیدروژن پر اکسید (H_2O_2) را انجام می دهد. آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پر اکسیداز (GPx) و کاتالاز (CAT) با جلوگیری از تشکیل رادیکال های آزاد و افزایش دفاع آنتی اکسیدانی با آسیب ایجاد شده مقابله می کنند. آرسنیک از مهم ترین سموم محیطی در جهان بوده و یک عامل سمیت سلولی می باشد که انسان به طور عمده از طریق مصرف آب آلوده به آرسنیک غیر ارگانیک در مخاطره قرار می گیرد (۲). تولید رادیکال های آزاد ناشی از آرسنیک (سوپر اکسید، هیدروکسیل و رادیکال های پر اکسیل و هیدرو اکسی پر اکسید) می تواند با فعال سازی مسیر های پیام رسانی حساس به آسیب اکسیداتیو باعث مرگ سلول شوند. آرسنیک به طور اولیه منجر به عدم توازن بین پر اکسید و آنتی اکسیدانها می گردد (۳). مطالعات چندی نقش آرسنیک را در افزایش استرس اکسیداتیو نشان داده است (۴). نتایج مطالعات حاکی از فعالیت آنتی-اکسیدانی چند گیاه مورد استفاده از جمله چای در طب سنتی ایران است. چای یکی از نوشیدنی هایی است که بعد از آب به طور وسیعی مصرف می شود و به سه نوع مهم وابسته به سطح تخمیر، یعنی چای سیاه، سبز و سفید تقسیم می شود. یافته های دانشمندان از این نوشیدنی و ساختارش به کم تر از سه دهه بر می گردد. چای دارای خواص ضد التهابی (۵) آنتی اکسیدانی (۶) و ضد بیماری های عفونی (۷)، آنتی موتاژن (۸)، ضد سرطان (۹)، ضد میکروبی (۱۰)، هیپو لیپیدمی (۱۱)، هیپو کلسترومی (۱۲)، حفاظت کننده عصبی (۱۳) و ضد دیابتی می باشد (۱۴) و هم چنین می تواند به خوبی عوامل پاسخ های ایمنی را فراهم آورد (۱۵). ترکیبات شیمیایی چای سفید شامل پروتئینها، پلی ساکاریدها و پلی فنلها، اسیدهای آمینه و لیگنینها و متیل

گروه ۸ تایی، شامل: گروه شاهد سالم که هم حجم عصاره، ۱ میلی لیتر آب مقطر از طریق گاوژ دریافت کرد، گروه تیمار با آرسنیت سدیم (شرکت مرک، ساخت کشور آلمان) که با دوز 50 (mg/L) به دلیل این که در این دوز بهترین اثر را دارا می باشد (۲۱) و بالا تر از این دوز باعث آسیب شدید کبد طبق مطالعه هیستوپاتولوژی می گردد و غلظت های پایین اثر چندانی ندارد (۲۲) انتخاب و در آب آشامیدنی به صورت روزانه تهیه و در اختیار موش ها قرار گرفت، گروه تیمار با عصاره آبی چای سفید که ۱ میلی لیتر چای سفید را با غلظت ۱/۵ درصد استفاده کرده بودند طبق این روش موش ها این غلظت چای را از طریق گاوژ دریافت و گروه تیمار با عصاره آبی چای سفید همراه با آرسنیک با دوز 50 (mg/L) در آب آشامیدنی، تقسیم شدند (۲۳). (آرسنیک و چای سفید در این تحقیق به صورت تک دوز استفاده گردید).

تهیه عصاره آبی چای سفید

۱۵ گرم چای سفید تهیه شده از بازار و تأیید شده توسط دانشکده کشاورزی با کد شناسایی (۲۶۱۹۹۹) در ۱ لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد، سپس فیلتر گردید و عصاره آبی چای سفید ۱/۵ درصد تهیه شد.

پس از پایان دوره تیمار ۲۸ روزه، کالبد گشائی موش ها انجام شد و بافت کبد جدا شده تا آزمایشات مربوطه با استفاده از کیت های تجاری موجود طبق دستور العمل شرکت تولیدکننده کیت انجام گرفت.

اندازه گیری مالون دی آلدئید (MDA)

برای تعیین فراورده ی نهایی پر اکسیداسیون لیپیدها میزان مالون در آلدئید از روش Satho استفاده شد. به ۵۰۰ میکرو لیتر بافت هموزنه ۱/۵ میلی لیتر، تری کلرو استیک ۱۰٪ اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۱/۵ میلی لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی لیتر اسید تیو باریتوریک ۰/۶۷٪ اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس ۲ میلی لیتر ۱- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰g سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. غلظت MDA با

استفاده از ۳۳،۱۰۱ تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین و MDA برحسب نانومتر بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد. محلول استاندارد MDA در غلظت های ۲۰-۰/۲ میکرو مولار در اسید سولفوریک ۱۰٪ تهیه شد (۲۳).

اندازه گیری سوپر اکسید دیسموتاز

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) از روش Winterbourn استفاده شد. ۰/۲ میلی لیتر EDTA ۱/۰ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی مولار، ۰/۱ میکرو لیتر نیترو بلو تترا زولیوم ۱/۵ میلی مولار و ۲۰۰ میکرو لیتر بافت هموزنیزه به یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه ی سانتی گراد قرار گرفت. سپس ۰/۵۰ میلی لیتر ریبو فلاوین ۰/۱۲ میلی مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۶۷ مولار $PH=7/8$ اضافه، و به مدت ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد. سپس جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر رویت شد. یک واحد فعالیت SOD مقدار آنزیمی که نیاز است تا ۵۰٪ از سرعت احیا NBT مهار شود. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (۲۴).

اندازه گیری کاتالاز

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi استفاده شد. به حجم معینی از عصاره بافتی، اتانول مطلق اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در یخ اینکوبه گردید. سپس تریتون ۱۰۰-X ۱٪ با غلظت نهایی ۱٪ اضافه شد. این محلول برای اندازه گیری فعالیت آنزیم به کار برده شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۰۵ میلی لیتر H_2O_2 ۳۰ میلی مولار به نمونه ی بافتی در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار $PH=7$ شروع شد. سپس جذب در طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت کاتالاز مقدار یک میکرو مول از H_2O_2 است که در یک دقیقه تجزیه می شود. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (۲۵).

اندازه گیری گلوکاتایون پراکسیداز

برای سنجش میزان گلوکاتایون بافت از روش Tietz استفاده شد. غلظت مناسبی از نمونه ی هموزنه با ۱۰

داری $P < 0.05$ به کمک نرم افزار spss نسخه ۲۲ مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌های پژوهش

میانگین و انحراف معیار آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گلوکاتاتیون پر اکسیداز (GPx) سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) سرم در گروه‌های مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است. مصرف آرسنیت سدیم باعث کاهش معنی دار ($P < 0.05$) در فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتاتیون پر اکسیداز (GPx) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) و افزایش معنی دار ($P < 0.05$) مالون دی آلدئید (MDA) شد. مصرف عصاره آبی چای سفید به همراه آرسنیت سدیم منجر به افزایش معنی دار ($P < 0.05$) فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD و GPx و میزان TAC و کاهش معنی دار MDA گردید ($P < 0.05$).

میکرو لیتر اسید سولفو سالسیلیک ۵٪ مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با دور ۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول رویی برداشته به ۸۱۰ میکرو لیتر دی سدیم فسفات ۰/۳ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن ۹۰ میکرو لیتر معرف دی تیو-بیس-نیترو بنزوئیک اسید ۰/۴٪ محلول در سیترات سدیم ۱٪ واکنش شروع گردید. تغییرات جذب در طول موج ۴۱۲ نانو متر در طی ۵ دقیقه رویت شد. با استفاده از محلول گلوکاتاتیون ۱ میلی گرم بر میلی لیتر منحنی استاندارد گلوکاتاتیون رسم گردیده و غلظت گلوکاتاتیون بر حسب نانو مول بر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید. محلول استاندارد گلوکاتاتیون در غلظت‌های ۲۰۰-۲۵ میکرو مولار تهیه شد (۲۶).

تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به دست آمده، به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ محاسبه و اختلاف معنی دار بین گروه‌ها توسط آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تقییبی دانکن (Duncan Post Hoc) در سطح معنی

جدول ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار مالون دی آلدئید، آنتی اکسیدان تام، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتاتیون پر اکسیداز و کاتالاز کبد در گروه‌های مورد مطالعه

پارا متر های مورد سنجش					گروه‌ها
کاتالاز (IU/mg)	گلوکاتاتیون پر اکسیداز (nmol/mg)	سوپر اکسید دیسموتاز (U/mg)	آنتی اکسیدان تام (nmol/g)	مالون دی آلدئید (nmol/mg)	
۵۵/۶۸۳±۲ / ^a ۶۲۶	۵۴/۳۸۴± ^a ۲/۳۰۴	۶۰/۹۱۷± ^a ۴/۳۸۶	۶/۶۰۰± ^a ۰/۴۵۶	۶/۰۱۷± ^a ۰/۷۸۳	شاهد
۴۲/۶۸۳± ^b ۱/۴۷۴	۴۶/۸۳۳± ^a ۱/۳۰۴	۷۱/۳۶۷± ^b ۱/۹۰۶	۶/۱۸۳± ^b ۰/۳۶۶	۶/۸۰۰± ^c ۰/۰۸۹	تیمار با آرسنیت سدیم
۵۷/۴۳۳± ^a ۱/۶۲۷	۵۷/۲۶۷± ^a ۰/۷۴۴	۷۹/۳۰۰± ^a ۲/۳۷۳	۸/۳۵۰± ^c ۰/۲۴۳	۵/۴۳۳± ^b ۰/۷۴۵	تیمار با عصاره آبی چای سفید
۵۱/۱۱۷± ^c ۰/۷۲۰	۸۳/۷۰۰± ^c ۲/۱۰۴	۸۰/۰۷۱± ^c ۲/۲۴۲	۶/۸۳۳± ^a ۰/۰۵۲	۶/۶۶۶± ^a ۰/۲۵۰	تیمار شده با عصاره آبی چای سفید همراه آرسنیت سدیم
*,***	*,***	*,***	*,***	*,*۰۵	p-value

a,b,c: حروف غیر مشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$). مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای ۸ موش صحرائی در هر گروه ارائه شده است. $1/407^b \pm 46/833$

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر آرسنیت سدیم باعث کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدان و افزایش پر اکسیداسیون لیپیدی شد و مصرف چای سفید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش پر اکسیداسیون لیپیدی گردید. مطالعات نشان داده است

که آرسنیت سدیم استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد. متابولیسم آرسنیت سدیم یکی از دلایل تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به ویژه GPx می‌باشد. کبد یکی از مهم‌ترین جایگاه‌های متیلاسیون آرسنیت سدیم است. تبدیل شدن آرسنیت سدیم به مونو متیل - آرسنیت و دی متیل آرسنیت توسط SAM (S-)

بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و مهار پر اکسیداسیون لیپیدی به دلیل وجود ترکیبات آنتی-اکسیدانی مختلف و یا افزایش سنتز مولکول های آنتی اکسیدان و به ویژه فلاوونوئید ها می باشد. علاوه بر این، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی به مولکول های دیگر موجود در چای از جمله اسید آسکوربیک، آنتی سیانین ها، ایزو فلاوونوئید ها و فلاوونول ها گفته می شود که می توانند باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی می گردد. چای سفید به علت داشتن ترکیبات آنتی اکسیدان علاوه بر پلی فنل ها باعث افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی می گردد (۳۰). با توجه به هم خوانی نتایج تحقیقات فوق با مطالعه حاضر می توان گفت که در مطالعه حاضر تاثیر چای سفید احتمالاً به ترکیب کاتچین موجود در آن مربوط است. کاتچین چای سفید فلاوونوئیدی است که مطالعات زیادی روی آن انجام گرفته است و اثرات مفید آنتی اکسیدانی، حفاظت از تخریب توسط رادیکال های آزاد شامل سوپر اکسید، پراکسیل و اکسیژن منفرد را بر عهده دارد. از طرفی کاتچین علاوه بر افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما، باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی ارگان - های مختلف از جمله قلب و ریه ها می گردد (۳۱). در پژوهش حاضر عصاره آبی چای سفید باعث افزایش فعالیت آنزیم های CAT، GPx و SOD و کاهش MDA و افزایش TAC گردید. آنزیم های CAT، GPx و SOD نقش حفاظتی بر علیه آسیب اکسیداتیو دارند به عبارتی چای سفید با افزایش فعالیت آنزیم - های آنتی اکسیدانی و کاهش پر اکسیداسیون لیپیدها باعث افزایش پاک سازی رادیکال های آزاد، شلاته کردن فلزات واسطه (که نقش مهم در تشکیل رادیکال های آزاد دارند) می گردد کاتچین ها و پلی فنل های چای یک زداينده موثر سوپر اکسید، رادیکال های پر اکسیل، اکسیژن منفرد، پر اکسی نیتريت و هیپر کلرو اسید می باشند. اما سم آرسنیک اغلب منجر به سمیت کبدی می گردد. و آرسنیک باعث آسیب جبران ناپذیر کبدی و به سطور خاص باعث افزایش تولید گونه های رادیکال آزاد از جمله سوپر اکسید، هیدرو کسید و پر اکسی و هیدروژن پر اکسید یا آب اکسیژنه می گردد. در مطالعه میتال که در مورد تاثیر حفاظتی ویتامین

آدنوزیل متیونین) در حضور گلوتاتیون (GSH) انجام می گیرد که این مسئله منجر به کاهش گلوتاتیون و فعالیت آنزیم های وابسته به گلوتاتیون از جمله GPx می گردد و تقلیل GSH باعث تسهیل در تجمع آرسنیت سدیم و ایجاد استرس اکسیداتیو می شود. افزایش استرس اکسیداتیو منجر به کاهش فعالیت SOD شده و افزایش تولید رادیکال های سوپر اکسید، فعالیت کاتالاز را مهار می کند. افزایش میزان H2O2 نشانگر کاهش فعالیت CAT بعد از مصرف آرسنیت سدیم می باشد (۲۷). مطالعات زیادی کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و افزایش پر اکسیداسیون لیپیدی در حضور سدیم آرسنیت را نشان داده است که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد. از جمله مطالعه ای که ویجایا و همکاران در سال ۲۰۱۱ با عنوان تاثیر سدیم آرسنیت بر روی موش های ماده در دوره شیر واری انجام داده اند مشاهده نمودند سدیم آرسنیت باعث افزایش تیو باربیتوریک اسید در بافت کبد می گردد که این ماده باعث پائین آمدن سطح گروه های SH و آنزیم های آنتی اکسیدان می گردد که با نتایج ما هم خوانی دارد. (۲۷). همان طور که در بررسی حاضر مشاهده شد، تیمار با عصاره آبی چای سفید منجر به افزایش فعالیت آنزیم ها و کاهش پر اکسیداسیون لیپیدی گردید. مطالعه ناگاگاو و همکاران در سال ۲۰۰۲ حاکی از فعالیت آنتی اکسیدانی و پاک کنندگی رادیکال های آزاد چای سبز می باشد (۲۸). در مطالعه آذرم و همکاران در سال ۲۰۰۴ در خصوص خاصیت ضد سرطانی اپی کاتچین و اپی-۳-گالات و ترکیبات پلی فنلی چای سبز، ایشان به این نتیجه رسیدند که اپی کاتچین ها ممکن است در شلاته کردن یون های فلزات به خصوص آهن و مس (که در جدا شدن هیدرو پر اکسید های لیپیدی که منجر به تولید و تشکیل آلدئید های فعال می گردند) دخالت کنند (۲۹). در مطالعه ای که اهلام و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مورد تاثیر عصاره چای سفید بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در موش های دیابتی شده با استرپتوزو توسین انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که چای سفید باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می گردد و علل احتمالی این اثر در ارتباط با کاهش رادیکال های آزاد و

علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی نقش محافظتی در پیشگیری از برخی از بیماری های مزمن مانند دیابت و پوکی استخوان دارد. انواع کاتچین موجود در برگ چای عبارت است از : اپی کاتچین، اپی گالوکاتچین، اپی-کاتچین گالات، اپی گالوکاتچین گالات. خاصیت آنتی اکسیدانی اپی گالوکاتچین گالات نسبت به ویتامین E و C به ترتیب حدود ۱۰۰ و ۲۵ برابر بیش تر است (۳۲). البته محققان معتقدند که خاصیت آنتی اکسیدانی برخی گیاهان تنها مربوط به این ترکیبات فلاوونوئیدی نیست، بلکه ترکیبات دیگر از جمله ویتامین C، توکوفرول و سایر پیگمان ها نیز می توانند اثرات آنتی اکسیدانی داشته باشند. بنا بر این، دلایل احتمالی اثرات چای سفید در افزایش فعالیت آنزیم های آنتی - اکسیدانی و کاهش پر اکسیداسیون لیپید ها را می توان به افزایش پاک سازی رادیکال های آزاد، شلاته کردن فلزات واسطه (که نقش مهم در تشکیل رادیکال های آزاد دارند)، القاء آنزیم های آنتی اکسیدانی و داشتن برخی مواد دیگر نسبت داد. البته، مطالعات بیش تر در رابطه با ترکیبات موثره عصاره در حضور سایر اکسیدان ها نیز ضروری به نظر می رسد.

References

- Mandelker L, Vajdovich P. Studies on veterinary medicine. 2th ed. Humana Publication. 2011; P. 192-7.
- Celik L, Gallicchio K, Boyd TK, Lam G, Tao X. Arsenic in drinking water and lung cancer a systematic review. Environ Res 2008; 108: 48-55.
- Ghosh D, Ghosh S, Sarkar A, Ghosh N, Saha K. Quercetin in vesicular delivery systems evaluation in combating arsenic induced acute liver toxicity associated gene expression in Rat model. Chem Biol Interact 2010; 186: 61-70.
- Martinez D, Vici M, Adonis L, Lam W. Arsenic biotransformation as a cancer promoting factor by inducing DNA damage and disruption of repair mechanisms. Mol Biol Int 2011; 5:365-73
- Sano M, Suzuki M, Miyase T, Yoshino K, Maedayamamoto M. Novel anti allergic catechin derivatives isolated from oolong tea. J Agric Food Chem 1999; 47: 1906-10.

Eبر استرس اکسیداتیو ناشی از آرسنیک و فلوراید انجام داده اند به این نتیجه رسیده اند که آرسنیک و فلوراید بر روی GPx و کاتالاز هیچ تاثیری ندارد. ولی در تحقیق حاضر نشان داده شد که آرسنیک باعث کاهش کاتالاز و GPx می گردد و در تحقیق حاضر آنزیم های SOD، TAC، و افزایش MDA ناشی از مصرف آرسنیک نیز مورد مطالعه قرار گرفته و متمایز از تحقیقات پیشین بوده است. هم چنین در تحقیق میتال تاثیر ویتامین E بر استرس اکسیداتیو ناشی از هر دو آرسنیک و فلوراید نشان می دهد باعث تغییرات آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش رادیکال های آزاد می گردد. که در این تحقیق حاضر چای سفید توانسته در مصرف توام با آرسنیک باعث کاهش رادیکال های آزاد گردد. هم چنین ویتامین E می تواند باعث تثبیت پرو آنتی اکسیدان / آنتی اکسیدان گردد. و در تحقیق حاضر چای سفید با استفاده از ترکیبات کاتچین موجود باعث کاهش سمیت آرسنیک و تثبیت پرو آنتی اکسیدان / آنتی اکسیدان گردد (۲۱). کاتچین مولکولی از خانواده فلاوونوئید ها است. این مولکول آنتی - اکسیدانی به میزان بسیار زیاد در چای سفید وجود دارد. نتایج پژوهش های متعدد نشان می دهد که کاتچین

- Yen C, Chen H, Peng H. Antioxidant and pro oxidant effects of various tea extracts. J Agric Food Chem 1997; 45:30-4.
- Weber J, Ruzindana A, Imbeault L, Sircar S. Inhibition of adenovirus infection and adenainby green tea catechins. Antiviral Res 2003; 58: 167-73.
- Jain A, Shimoi K, Nakamura Y, Kada T, Hara Y. Crude tea extracts decrease the mutagenic activity of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine in vitro and in intra gastric tract of Rats. Mut Res Fundamental Mole Mech 1989; 210: 1-8.
- Katiyar S, Agarwal R, Zaim M, Mukhtar H. Protection against N-nitrosodiethylamine and benzo a pyrene induced forestomach and lung tumorigenesis in Mice by green tea. Carcinogenesis 1993; 14: 849-55.
- Chou C, Lin L, Chung T. Anti-microbial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season J Food Microbiol 1999; 48: 125-30.

11. Yoshino K, Tomita I, Sano M, Oguni I, Hara Y. Effects of long term dietary supplement of tea polyphenols on lipid peroxide levels in Rats. *J Agricul Food Chem*1994; 17:79-85.
12. Maron D, Cai N, Wu Z, Li Y. Cholesterol lowering effect of a the aflavin-enriched green tea extract a randomized controlled trial. *Arch Int Med*2003; 163: 14-9.
13. Almajano M, Vila I, Gines S. Neuro protective effects of white tea against oxidative stress-induced toxicity in striatal cells. *Neurotox Res* 2011; 20: 372-78.
14. Anderson R, Polansky M. Tea enhances insulin activity. *J Agricul Food Chem*2002; 50: 7182-6.
15. Abolfathi A, Mohajeri D, Rezaie A, Nazeri M. Protective effects of green tea extract against hepatic tissue injury in streptozotocin induced diabetic Rats. *Evid Bas Comple Alt Med*2012;50:79-83.
16. Vinson J, Dabbagh Y, Serry M, Jang J. Plant flavonoids especially tea flavonols are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *J Agricul Food Chem*1995; 43:28-32
17. Rietveld A, Wiseman S. Antioxidant effects of tea evidence from human clinical trials. *J Nut*2003; 133:3285-92.
18. Ortsater H, Grankvist N, Wolfram S, Kuehn N, Sjöholm A. Diet supplementation with green tea extract Epigallocatechin gallate prevents progression to glucose intolerance in Mice. *Nut Metab* 2012; 9: 11-5.
19. Mukhtar H, Ahmad N. Cancer chemo prevention future holds in multiple agents. *Toxicol Appl Pharmacol*1999; 158: 207-10.
20. Santanarios G, Orner G, Amantana A, Provost C. Potent anti-mutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay. *Mut Res Gen Toxicol Environ Mutagene* 2001; 495: 61-74.
21. Mittal M, Flora S. Vitami E supplementation protect oxidative stress during arsenic and fluoride antagonism in male Mice. *Drug Chem Toxicol*2007; 30:263-81.
22. Vijaya M, Sudheer P, Sasikala P, Sreenivasula R, Hemadri A. Effect of transplacental and lactational exposure to arsenic on male reproduction in Mice. *Reprod Infertil*2011; 2: 41-45.
23. Hesham A. Hepato protective effect of green tea extract against tamoxifen induced liver injury in Rats. *J biochemistry and molecular biology*2005; 38:563-570.
24. Winterbourne C, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *Lab Clin Med* 1975; 85: 337-41.
25. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol* 1984; 105:121-6.
26. Tietz F. Enzymic method for quantitative determination of nano gram amount of total and oxidized glutathione applications to mammalian blood and other tissues. *Biochim*1969; 27: 502-22.
27. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta*1978; 90: 37-43.
28. Bailey KA, Fry RC. arsenic-associated changes to the epigenome: what are the functional consequences? *Curr Environ Health Rep*2014;1:22-34.
29. Nakagawa T, Yokozawa T. Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. *Food Chem Toxicol*2002; 40: 1745-50.
30. Azram S, Hadi N, Khan N, Hadi S. Pro oxidant property of green tea polyphenols Epicatechin and Epicatechin-3-gallate implications of anticancer properties. *Food Chem Toxicol*2004; 18: 555-61.
31. Ahlam A, Alshiekh A, Alshati M, Mohammed N, Sarhan F. Effect of white tea extract on antioxidant enzyme activities of streptozotocin induced diabetic Rats. *Food Chem Toxicol*2014; 30:270-5.
32. Skryzdzewska E, Ostrowska J, Stankiewicz A, Fabiszewski R. Green tea as a potent antioxidant in alcohol intoxication. *Toxicol Environ Mut*2002; 7: 307-14.
33. Vinson J, Dabbagh Y, Serry M, Jang J. Plant flavonoids especially tea flavonols are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Agricul Food Chem*1995; 43: 28-33.



The Effect of Aqueous Extract of White Tea on the Levels of Antioxidant Enzymes of Rats' Liver Tissue Exposed to Arsenic

Rasoulifard M^{*1}, NozohourY²

(Received: September 25, 2016

Accepted: November 8, 2016)

Abstract

Introduction: Having high antioxidant capacity and an important role in the health, the flavonoids and phenolic compounds increase antioxidant defense against antioxidative stress. White tea is among herbs attracting attention recently due to high antioxidant capacity. The present study aimed at surveying the effect of white tea on oxidative stress resulted of Arsenic.

Materials & methods: In the present study 32 male rats were used in four groups of eight animals. The first group composed of healthy animals (control group) which received distilled water along with standard dietary via gavage, the second one was treated with Arsenic (50 ppm in drinking water), the third group was treated with white tea extract (1.5%) via gavage and the fourth one received aqueous white tea extract (1.5%) plus Arsenic (50 ppm in drinking water) via gavage. Upon the end of the treatment period (28 days) the rats were anesthetized using ether and then autopsy was conducted to measure the levels of Catalase Antioxidant Enzymes (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx), Super Oxide Dismutase (SOD), Total

Antioxidant Capacity (TAC), and Malondialdehyde (MDA) of liver.

Findings: The aqueous extract of white tea caused a meaningful increase of CAT, GPx, and SOD activities as well as a meaningful decrease of MDA. It also increased the TAC (P<0.05). On the other hand, administrating the Sodium Arsenic caused a meaningful decrease of CAT, GPx, and SOD as well as a meaningful increase of MDA. It also increased the TAC (P<0.05). Administrating the aqueous extract of white tea plus Sodium Arsenic caused a meaningful increase of SOD AND GPx activities (P<0.05).

Discussion & conclusions: The results demonstrated that administration of white tea causes to increase the antioxidant enzymes activity as well as to strengthen the antioxidant defense and to decrease the stress oxidative resulted of Arsenic, besides. In the present the administration of Sodium Arsenite caused decreased antioxidant enzymes activity and increased MDA.

Keywords: Arsenic, Antioxidant enzymes, Oxidative stress, White tea

1. Dept of Food and Aquaculture Hygiene, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2. Young Researchers and Elites Club, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

* Corresponding author Email: rasoulifardmohamadhassan@yahoo.com