تاثیر عصاره آبی چای سفید بر سطح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی مواجهه شده با آرسنیک

محمدحسن رسولی‌فرد[۱]، فلور زرگری[۲*]

۱- گروه زیست شناسی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.
۲- گروه علوم پزشکی، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: felorzargari@marandiau.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۴/۵/۲۴ پذیرش نهایی: ۹۴/۷/۲۷)

چکیده

استرس اکسیداتیو وضعیتی است که در آن توانایی سیستم بیولوژیک برای سم‌زدایی و از بین‌بردن آثار مخرب رادیکال‌های آزاد کافی نمی‌باشد و آسیب اکسیداتیو به سلول‌ها یا بافت‌ها منجر به توسعه بیماری‌هایی از قبیل سرطان، آترواسکلروز و آسیب‌های دژنراتیو می‌شود. فلاوونوئیدها و ترکیبات فنلی ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی و نقش مهم در سلامتی دارند و باعث افزایش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو می‌گردند. چای سفید از جمله گیاهانی هست که به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر چای سفید بر استرس اکسیداتیو ناشی از آرسنیک می‌باشد. در این مطالعه از ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ در چهار گروه هشت‌تایی استفاده شد. گروه اول موش‌های صحرایی سالم (گروه شاهد) که آب مقطر را روزانه به همراه رژیم غذایی استاندارد به صورت گاواژ دریافت کردند. گروه دوم موش‌های صحرایی تیمارشده با آرسنیک با غلظت ppm ۲۰۰ در آب آشامیدنی، گروه سوم موش‌های صحرایی تیمارشده با عصاره چای سفید با غلظت ۱/۵ درصد به صورت گاواژ و گروه چهارم موش‌های صحرایی که عصاره آبی چای سفید (۱/۵ درصد) را از طریق گاواژ همراه با آرسنیک (ppm ۱۰۰ در آب آشامیدنی) دریافت کردند. بعد از پایان دوره تیمار (۲۸ روز) خون‌گیری انجام و سطح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT) گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) مورد سنجش قرار گرفت. عصاره آبی چای سفید باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های CAT، GPx و SOD و کاهش معنی‌دار MDA و افزایش TAC گردید ($p<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که مصرف چای سفید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از آرسنیک می‌گردد.

کلید واژه‌ها: آرسنیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، استرس اکسیداتیو، چای سفید.

مقدمه

استرس اکسیداتیو نمایانگر عدم توازن میان رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن بوده و می‌تواند باعث اختلال در مکانیسم طبیعی سیگنال‌های سلولی شود (Mandelker *et al.*, 2011). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) آنزیمی است که پاکسازی رادیکال‌های سوپراکسید ($O2^-$) یا هیدروژن پراکسید (H2O2) را انجام می‌دهد. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز (CAT) با جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی با آسیب ایجادشده مقابله می‌کنند.

آرسنیک از مهم‌ترین سموم محیطی در جهان بوده و یک عامل سمیّت سلولی می‌باشد که انسان به‌طور عمده از طریق مصرف آب آلوده به آرسنیک غیرارگانیک در مخاطره قرار می‌گیرد (Celik *et al.*, 2008). تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از آرسنیک (سوپر اکسید، هیدروکسیل و رادیکال‌های پراکسیل و هیدرواکسی پراکسید) می‌توانند با فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی حساس به آسیب اکسیداتیو باعث مرگ سلول شوند. آرسنیک به‌طور اولیه منجر به عدم توازن بین پراکسید و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌گردد (Ghosh *et al.*, 2010). مطالعات چندی نقش آرسنیک را در افزایش استرس اکسیداتیو نشان داده است (Martinez *et al.*, 2011). نتایج مطالعات حاکی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند گیاه مورد استفاده از جمله چای در طب سنتی ایران است. چای یکی از نوشیدنی‌هایی است که بعد از آب به‌طور وسیعی مصرف می‌شود و به سه نوع مهم وابسته به سطح تخمیر، یعنی چای سیاه، سبز و سفید تقسیم می‌شود. یافته‌های دانشمندان از این نوشیدنی و ساختارش به کمتر از سه دهه برمی‌گردد. چای دارای خواص ضدالتهابی (Sano *et al.*, 1999). آنتی‌اکسیدانی (Yen *et al.*, 1997) و ضد بیماری‌های عفونی (Weber *et al.*, 2003)، آنتی‌موتاژن (Jain *et al.*, 1989)، ضد سرطان (Katiyar *et al.*, 1993)، ضدمیکروبی (Chou *et al.*, 1999)، هیپولیپیدمی (Yoshino *et al.*, 1994)، هیپوکلسترومی (Maron *et al.*, 2003)، حفاظت‌کننده عصبی (Almajano *et al.*, 2011) و ضددیابتی می‌باشد (Anderson *et al.*, 2002) و همچنین می‌تواند به خوبی عوامل پاسخ‌های ایمنی را فراهم آورد (Abolfathi *et al.*, 2012). ترکیبات شیمیایی چای سفید شامل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و پلی‌فنل‌ها، اسیدهای‌آمینه و لیگنین‌ها و متیل‌گزانتین (کافئین، تئوفیلین، تئوبروبومین) هستند (Vinson *et al.*, 1995). فلاوونوئیدها شامل فلاوونول‌ها و کاتچین‌ها، آنتی‌سیانین و ایزوفلاوونوئیدها می‌باشد. ترکیبات مهم فنولیک موجود در برگ‌های چای کاتچین‌ها هستند که ساختار بالای ۳۰ درصد وزن خشک چای را تشکیل می‌دهند (Rietveld *et al.*, 2003). کاتچین‌های مهم در چای سفید اپی‌کاتچین، اپی‌گالوکاتچین، اپی‌کاتچین-۳-گالات و اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات که گالات‌های فلاونول هستند. EGCG یا همان اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات، مقدار بالای کاتچین را تشکیل می‌دهد (Ortsäter *et al.*, 2012). گزارش‌ها نشان می‌دهد که غلظت پلی‌فنل‌های توتال، کاتچین‌ها و اسیدگالیک، کافئین، تئوبروفین‌ها، EGC، ECG و EGCG به‌طور ویژه در چای سفید بالاتر از چای سبز است (Mukhtar *et al.*, 1999). در سال‌های اخیر ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌طور مستمر

مطالعه شده است، که حاکی از توانایی بالای آن‌ها در پاک کردن رادیکال‌های آزاد و کاهش اکسیداسیون می‌باشد (Santana-Rios *et al*., 2001).

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 و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در موش‌های صحرایی تغذیه شده با این عصاره می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده ودر سال ۱۳۹۳ در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام شد. در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های 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 ۲±۲۲ درجه سلیسیوس، رطوبت محیطی ۲±۳۸ درصد، دوره‌های متوالی ۱۲ ساعته نور و تاریکی قرار گرفتند. موش‌ها بعد از ۷-۵ روز سازش با محیط به‌طور تصادفی به ٤ گروه ۸تایی، شامل: گروه شاهد سالم که هم حجم عصاره، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر از طریق گاواژ دریافت کرد، گروه تیمار با آرسنیت سدیم (شرکت مرک، ساخت کشور آلمان) که با غلظت ۱۰۰ ppm در آب آشامیدنی به‌صورت روزانه تهیه و در اختیار موش‌ها قرار گرفت، گروه تیمار با عصاره آبی چای سفید که ۱ میلی‌لیتر چای سفید را با غلظت ۱/۵ درصد از طریق گاواژ دریافت کرد و گروه تیمار با عصاره آبی چای سفید همراه با آرسنیت سدیم با غلظت ppm۱۰۰ در آب آشامیدنی، تقسیم شدند.

تهیه عصاره آبی چای سفید

۱۵ گرم از چای سفید تهیه‌شده از بازار و تائیدشده توسط دانشکده کشاورزی با کد شناسایی (۲٦۱۹۹۹) در ۱ لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد، سپس فیلتر گردیده و عصاره آبی چای سفید ۱/۵ درصد تهیه شد.

پس از پایان دوره تیمار ۲۸ روزه، خونگیری از قلب موش‌ها انجام و در لوله‌های حاوی هپارین جهت تهیه سرم جمع‌آوری شد و پس از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و آزمایشات مربوطه با استفاده از کیت‌های تجاری موجود طبق دستورالعمل شرکت تولیدکننده کیت انجام گرفت.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

اندازه‌گیری سطح سرمی MDA با روش اسپکتروفوتومتری انجام گردید. در این روش با ارزیابی مواد واکنشی تیوباربیتوریک‌اسید (Substances; Thiobarbituric Acid- Reactive TBARs) می‌توان آسیب وارد شده به لیپیدها را در حضور مقادیر بالای ROS اندازه‌گیری نمود. پراکسیداسیون لیپید بر اساس روش لاپنا با استفاده از اسید فسفوریک ۱ درصد و تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/٦ درصد اندازه‌گیری می‌شود. رنگ صورتی تولیدشده ناشی از واکنش TBA با MDA در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج به‌صورت نانومول TBARs بر میلی‌لیتر سرم و با استفاده از MDA به عنوان استاندارد بیان می‌شود (Lapenna *et al*., 2001).

اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD از خون تام هپارینه استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر خون کامل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد، سپس پلاسمای آن جدا گردید. پس از آن اریتروسیت‌ها چهار بار با ۳ میلی‌لیتر محلول نمکی ۰/۹ درصد شسته شدند و پس از هر بار شستشو به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. اریتروسیت‌های شسته و سانتریفیوژ شده با آب سرد دوباره تقطیر شده به حجم دو میلی‌لیتر رسانده شدند و پانزده دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. لیزات حاصله با ۰/۰۱ مول بر لیتر بافر فسفات pH=۷، رقیق شد. فعالیت آنزیم با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و با کیت تجاری راندوکس-رانسود اندازه‌گیری شد. این روش توسط مک کورد و فریدوویچ معرفی گردیده است. در این روش از گزانتین و گزانتین‌اکسیداز برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌شود. این رادیکال‌ها با ماده 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T) واکنش داده و یک رنگ قرمز تشکیل می‌گردد که با طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با میزان مهار این واکنش اندازه‌گیری می‌شود. واحد SOD مقداری است که موجب ۵۰ درصد مهار واکنش فوق می‌گردد. نتایج به‌صورت واحد SOD به ازای گرم هموگلوبین بیان می‌شود (McCord and Fridovich, 1969).

اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)

با استفاده از کیت RANSEL (Randox labs. Crumlin; UK) و بر اساس روش ارائه شده توسط پاگلیا و والنتین استوار است. گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) توسط کومن (کومن یک ترکیب شیمیایی با شناسه پاب کم ٦٦٢٩ است. شکل ظاهری این ترکیب، مایع بی‌رنگ و یا زرد کمرنگ است) هیدروپروکسید را کاتالیز می‌کند. در گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و NADPH، گلوتاتیون اکسیده (GSSG) سریعاً به فرم احیاء تبدیل می‌شود. هم‌زمان NADPH نیز به $NADP^+$ اکسیده می‌شود. اکسیداسیون NADPH به $NADP^+$ باعث کاهش جذب در طول موج ۳٤۰ نانومتر می‌گردد که متناسب با فعالیت GPx است (Paglia and Valentine, 1967).

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان سرم (TAC)

اندازه‌گیری سطح آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما به روش اسپکتروفتومتری با دمای کنترل شده صورت گرفت. در این روش ABTS (۲و۲-آزینو- دی -۳-اتیل بنزوتیازولین سولفانات) با پراکسیداز و H_2O_2 انکوبه و تولید رادیکال کاتیونی ABTS می‌کند که دارای جذب نوری در ٦۰۰ نانومتر می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه تولید رنگ را مهار می‌کنند. جهت استاندارد از ٦- هیدروکسی ۲،۵،۷،۸، تترامتیل کرومان-۲- کربوکسیلیک اسید (کمپانی رندوکس- انگلستان) به مقدار ۱/۸۵ mmol/L استفاده شد. مقدار آنتی‌اکسیدان تام پلاسما بر حسب میلی‌مول در لیتر گزارش شد (Lapenna *et al*., 2001).

اندازه‌گیری کاتالاز (CAT)

فعالیت این آنزیم بوسیله متد ارائه شده توسط ابی در سال ۱۹۸٤ اندازه‌گیری گردید. اندازه‌گیری بر اساس میزان تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲٤۰nm نانومتر و در دمای ۲۰ درجه سلسیوس انجام گردید. فعالیت آنزیم از

طریق محاسبه میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲٤۰ نانومتر و در فاصله زمانی صفر و ۱۵ ثانیه محاسبه و فعالیت آنزیم از طریق فرمول مربوطه (K=0.153; logA 240t=0/logA 240t=15) به‌دست آمده و فعالیت آنزیم به صورت CAT/gr Hb خون بیان شد (Aebi, 1984).

تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به دست آمده، به صورت mean ±SD محاسبه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی دانکن (Duncan Post Hoc) در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ به کمک نرم افزارspss نسخه ۲۲ مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت تام آنتی-اکسیدانی (TAC) سرم در گروه‌های مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است. مصرف آرسنیت سدیم باعث کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) مالون‌دی‌آلدئید (MDA) شد. مصرف عصاره آبی چای سفید به همراه آرسنیت سدیم منجر به افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPx و میزان TAC و کاهش معنی‌دار MDA گردید ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار مالون‌دی‌آلدئید، آنتی‌اکسیدان تام، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز سرم در گروه‌های مورد مطالعه

تیمارها	پارامترهای مورد سنجش				
	مالون‌دی‌آلدئید (nmol/l)	آنتی‌اکسیدان تام (mmol/l)	سوپراکسید دیسموتاز (U/grHb)	گلوتاتیون پراکسیداز (U/grHb)	کاتالاز (U/gr Hb)
شاهد	۳/۰۱۷±۰/۲۳۳[a]	۰/۸۱۸±۰/۰۴۰[a]	۱۳۵۳/۳۳۰±۴۹/۶۶۶[a]	۵۱/۶۷۰±۶/۸۳۱[a]	۷۱/۵۰۰±۱/۹۷۵[a]
آرسنیت سدیم	۳/۹۸۳±۰/۶۳٤[b]	۰/۷۰۰±۰/۰۰۰[b]	۱۰۹۵/۰۰۰±۳۳/۹۱۲[b]	۲۷/۰۰±۳/۸۸٦[b]	٤۲/۸۳۰±۴/۰۲۱[b]
عصاره آبی چای سفید	۲/٦۳۳±۰/٤٤٦[c]	۱/۱۵۰±۰/۱۵۲[c]	۱۳۷٦/٦۷۰±۶۴/۰۸۳[a]	۵۳/۸۳۰±۱/۹٤۱[a]	۷۱/٦۷۰±۱/۸۶۲[a]
عصاره آبی چای سفید و آرسنیت سدیم	۳/۱۰۰±۰/۳۱٤[a]	۰/۸۵۳±۰/۰۴۱[a]	۱۲۷۵/۵۰۰±۷۸/۹۷۸[c]	۳٤/۰۰±۱/۵۴۹[c]	٦٦/۸۰۰±۳/۳۳۲[c]
p-value	۰/۰۵	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

a,b,c: حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). مقادیر به صورت میانگین± انحراف معیار برای ۸ موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر آرسنیت سدیم باعث کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شد و مصرف چای سفید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی گردید.

مطالعات نشان داده است که آرسنیت سدیم استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد. متابولیسم آرسنیت سدیم یکی از دلایل تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به ویژه GPx می‌باشد. کبد یکی از مهم‌ترین جایگاه‌های متیلاسیون آرسنیت سدیم است. تبدیل شدن آرسنیت سدیم به مونومتیل آرسنیت و دی‌متیل آرسنیت توسط SAM (S- آدنوزیل متیونین) در حضور گلوتاتیون (GSH) انجام می‌گیرد که این مسئله منجر به کاهش گلوتاتیون و فعالیت آنزیم‌های وابسته به گلوتاتیون از جمله GPx می‌گردد و تقلیل GSH باعث تسهیل در تجمع آرسنیت سدیم و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. افزایش استرس اکسیداتیو منجر به کاهش فعالیت SOD شده و افزایش تولید رادیکال‌های سوپراکسید، فعالیت کاتالاز را مهار می‌کند. افزایش میزان H_2O_2 نشانگر کاهش فعالیت CAT بعد از مصرف آرسنیت سدیم می‌باشد. (Vijaya Bhaskar Reddy *et al.*, 2011).

مطالعات زیادی کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در حضورسدیم آرسنیت را نشان داده است که با مطالعه ما همخوانی دارد. از جمله مطالعه‌ای که ویجایا و همکاران در سال ۲۰۱۱ با عنوان تاثیر سدیم آرسنیت بر روی موش‌های ماده در دوره شیرواری انجام داده‌اند مشاهده نمودند سدیم آرسنیت باعث افزایش تیو باربیتوریک اسید در بافت کبد می‌گردد که این ماده باعث پائین آمدن سطح گروه‌های SH و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود که با نتایج ما هم‌خوانی دارد. (Vijaya Bhaskar Reddy *et al.*, 2011).

همان‌طور که در بررسی حاضر مشاهده شد، تیمار با عصاره آبی چای سفید منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی گردید. مطالعه ناکاگاوا و همکاران در سال ۲۰۰۲ حاکی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد چای سبز می‌باشد (Nakagawa *et al.*, 2002). در مطالعه آذرم و همکاران در سال ۲۰۰٤ در خصوص خاصیت ضدسرطانی اپی‌کاتچین و اپی-۳-گالات و ترکیبات پلی‌فنلی چای سبز، ایشان به این نتیجه رسیدند که اپی‌کاتچین‌ها ممکن است در شلاته کردن یون‌های فلزات به خصوص آهن و مس (که در جدا شدن هیدروپراکسیدهای لیپیدی که منجر به تولید و تشکیل آلدئیدهای فعال می‌گردند) دخالت کنند (Azram *et al.*, 2004).

در مطالعه‌ای که اهلام و همکاران در سال ۲۰۱٤ در مورد تاثیر عصاره چای سفید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که چای سفید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد و علل احتمالی این اثر در ارتباط با کاهش رادیکال‌های آزاد و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مهار پراکسیداسیون لیپیدی به دلیل وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلف و یا افزایش سنتز مولکول‌های آنتی‌اکسیدان و به‌ویژه فلاوونوئیدها می‌باشد. علاوه بر این، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی به

مولکول‌های دیگر موجود در چای ازجمله اسید آسکوربیک، آنتی‌سیانین‌ها، ایزوفلاوونوئیدها و فلاوونول‌ها گفته می‌شود که می‌توانند باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گردند. چای سفید به علت داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان علاوه بر کاتچین‌ها باعث افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Ahlam *et al.*, 2014).

با توجه به هم‌خوانی نتایج تحقیقات فوق با مطالعه حاضر می‌توان گفت که در مطالعه ما 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 آنتی‌اکسیدانی، حفاظت از تخریب توسط رادیکال‌های آزاد شامل سوپراکسید، پراکسیل و اکسیژن منفرد را بر عهده دارد. از طرفی کاتچین علاوه بر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما، باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ارگان‌های مختلف از جمله قلب و ریه‌ها می‌گردد (Skryzdlewska, *et al.*, 2002). مطالعات نشان می‌دهد که کاتچین و پلی‌فنل‌های چای یک زداینده موثر سوپراکسید، رادیکال‌های پراکسیل، اکسیژن منفرد، پراکسی نیتریت و هیپرکلرو اسید می‌باشند. کاتچین مولکولی از خانواده فلاوونوئیدها است. این مولکول آنتی‌اکسیدانی به میزان بسیار زیاد در چای سفید وجود دارد. نتایج پژوهش‌های متعدد نشان می‌دهد که کاتچین علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی نقش محافظتی در پیشگیری از برخی از بیماری‌های مزمن مانند دیابت و پوکی استخوان دارد. انواع کاتچین موجود در برگ چای عبارت است از: اپی‌کاتچین، اپی‌گالوکاتچین، اپی‌کاتچین‌گالات، اپی‌گالوکاتچین‌گالات. خاصیت آنتی اکسیدانی اپی‌گالوکاتچین‌گالات نسبت به ویتامین E و C به ترتیب حدود ۱۰۰ و ۲۵ برابر بیشتر است (Vinson *et al.*, 1995).

در هر صورت، 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 پیگمان‌ها نیز می‌توانند اثرات آنتی‌اکسیدانی داشته باشند. بنابراین، دلایل احتمالی اثرات چای سفید در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها را می‌توان به افزایش پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، شلاته کردن فلزات واسطه (که نقش مهم در تشکیل رادیکال‌های آزاد دارند)، القاء آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و داشتن برخی مواد دیگر نسبت داد. البته، مطالعات بیشتر در رابطه با ترکیبات موثره عصاره در حضور سایر اکسیدان‌ها نیز ضروری به‌نظر می‌رسد.

منابع

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.
- Abolfathi, A.A., Mohajeri, D., Rezaie, A. and Nazeri, M. (2012). Protective effects of green tea extract against hepatic tissue injury in streptozotocin-induced diabetic rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2012.
- Ahlam, A.M., Al-Shiekh, A., Al-Shati, M.B., Mohammed, A.A. and Sarhan, F.M. (2014). Effect of white tea extract on antioxidant enzyme activities of streptozotocin–induced diabetic rats, 30(5): 270-275.
- Almajano, M., Vila, I. and Ginés, S. (2011). Neuro-protective effects of white tea against oxidative stress-induced toxicity in striatal cells. Neurotoxicity Research, 20(4): 372-378.
- Anderson, R.A. and Polansky, M.M. (2002). Tea enhances insulin activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(24): 7182-7186.
- Azram, S., Hadi, N., Khan, N. and Hadi, S. (2004). Pro-oxidant property of green tea polyphenols, epicatechin and epicatechin-3-gallate: implications of anticancer properties. Toxicology, In Vitro, 18: 555-561.
- Celik, I.L., Gallicchio, K., Boyd, T.K., Lam, G. and Tao, X. (2008). Arsenic in drinking water and lung cancer: a systematic review. Environmental Research, 108(1): 48-55.
- Chou, C.C., Lin, L.L. and Chung, K.T. (1999). Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. International Journal of Food Microbiology, 48(2): 125-130.
- Ghosh, D.S., Ghosh, S., Sarkar, A., Ghosh, N. and Das Saha, k. (2010). Quercetin in vesicular delivery systems: evaluation in combating arsenic-induced acute liver toxicity associated gene expression in rat model. Chemico- Biological Interactions, 186(1): 61-7.
- Jain, A., Shimoi, K., Nakamura, Y., Kada, T. and Hara, Y. (1989). Crude tea extracts decrease the mutagenic activity of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine in vitro and in intra-gastric tract of rats. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 210(1): 1-8.
- Katiyar, S.K., Agarwal, R., Zaim, M.T. and Mukhtar, H. (1993). Protection against N-nitrosodiethylamine and benzo[a] pyrene-induced forestomach and lung tumorigenesis in A/J mice by green tea. Carcinogenesis, 14(5): 849-855.
- Lapenna, D., Ciofani, G., Pierdomenico, S.D., Giamberardino, M.A. and Cuccurullo, F. (2001). Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. Free Radical Biology and Medicine, 31(3): 331-335.
- Mandelker, L. and Vajdovich, P. (2011). Studies on veterinary medicine. Humana press, 2(5): 192-197.
- Martinez, V.D., Vucic, M., Adonis, L. and Lam W.L. (2011). Arsenic biotransformation as a cancer promoting factor by inducing DNA damage and disruption of repair mechanisms. Molecular Biology International, 5(9): 365-373.
- Maron, D.J., Cai, N.S., Wu, Z.G. and Li, Y.H. (2003). Cholesterol-lowering effect of a theaflavin-enriched green tea extract: a randomized controlled trial. Archives of Internal Medicine, 163(12): 1448.
- McCord, J.M. and Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). The Journal of Biological Chemistry, 244(22): 6049-6055.
- Mukhtar, H. and Ahmad, N. (1999). Cancer chemoprevention: future holds in multiple agents. Toxicology and Applied Pharmacology, 158(3): 207-210.
- Nakagawa, T. and Yokozawa, T. (2002). Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. Food and Chemical Toxicology, 40(12): 1745-1750.
- Ortsäter, H., Grankvist, N., Wolfram, S., Kuehn, N. and Sjöholm, A. (2012). Diet supplementation with green tea extract epigallocatechin gallate prevents progression to glucose intolerance in db/db mice. Nutrition and Metabolism, 9(1): 11.
- Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 70(1): 158-169.
- Rietveld, A. and Wiseman, S. (2003). Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. The Journal of nutrition, 133(10): 3285S-3292S.

- Sano, M., Suzuki, M., Miyase, T., Yoshino, K. and Maeda-Yamamoto M. (1999). Novel anti-allergic catechin derivatives isolated from oolong tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(5): 1906-1910.
- Santana-Rios, G., Orner, G.A., Amantana, A. and Provost, C. (2001). Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 495(1): 61-74.
- Skryzdlewska, E., Ostrowska, J., Stankiewicz, A. and Fabisszewski, R. (2002). Green tea as a potent antioxidant in alcohol intoxication. Addiction Biology, 7: 307-314.
- Vijaya Bhaskar Reddy, M., Sudheer, P., Sasikala, P., Sreenivasula Reddy, S., Hemadri Reddy, A., *et al*. (2011). Effect of trans-placental and lactational exposure to arsenic on male reproduction in mice. Journal of Reproduction and Infertility, 2(3): 41-45.
- Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M. and Jang, J. (1995). Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43(11): 2800.
- Weber, J.M., Ruzindana-Umunyana, A., Imbeault, L. and Sircar, S. (2003). Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. Antiviral Research, 58(2): 167-173.
- Yen, G.C., Chen, H.Y. and Peng, H.H. (1997). Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(1): 30-34.
- Yoshino, K., Tomita, I., Sano, M., Oguni, I. and Hara, Y. (1994). Effects of long-term dietary supplement of tea polyphenols on lipid peroxide levels in rats. Age, 17(3): 79-85.

The effects of aqueous extract of white tea on serum antioxidant enzymes in rats exposed to arsenic

Rasoulifard, M.H.[1], Zargari, F.[2*]

1- Department of Biology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran

2- Department of Medical Science, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran

*Corresponding author email: felorzargari@marandiau.ac.ir
(Received: 2015/8/15 Accepted: 2015/10/19)

Abstract

Oxidative stress is a condition is which the biological system's ability to detoxify and eliminate harmful effects of free radicals is not sufficient and oxidative damages to cells or tissues leads to the development of diseases such as cancer, arteriosclerosis and degenerative changes. Phenolic compounds due to their high antioxidant capacity, have an important role in health and increase the antioxidant defense against oxidative stress. The aim of this study was to evaluate the effect of aqueous extract of white tea on status of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GPx), MDA (malondialdehyde) and TAC (total antioxidant capacity) in rats treated with sodium arsenite. In this study, 32 adult male rats weighing 200-250 g were used in four groups of eight. The first group included healthy normal rats (control group), the second group of rats were treated with sodium arsenite (100 ppm in drinking water) the third group of rats were treated with aqueous extract of white tea at a concentration of 1/5%, via gavage, the fourth group of rats were treated with aqueous extract of white tea (1/5%) via gavage with sodium arsenite (100 ppm in drinking water). The rats were killed at the end of the 28th day of treatment and blood samples were collected and the antioxidant enzymes of CAT (catalase), SOD (superoxide dismutase), GPx (glutathione peroxidase), and MDA and TAC were measured. The results indicate that the aqueous extract of white tea significantly increased the activities of SOD, GPx, CAT and TAC and decreased MDA concentration ($p<0.05$). The results showed consummation of white tea decreased the oxidative stress of arsenic by increasing the activity of antioxidant enzymes and potentiation of antioxidant defense system.

Key words: Arsenic, Antioxidant enzymes, Oxidative stress, White tea.