دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

تاثیر آنتی اکسیدانی چای سیاه(*Camellia Sinesis*) بر آنزیم های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به دنبال مصرف تیواستامید در موش های نر

اشرف شریفی
دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، شیراز، ایران

نوشین نقش
استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

نعمت الله رزمی
دکترای بیوشیمی بالینی گرایش سرطان، دانشیار و عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، شیراز، ایران

نویسنده مسئول: اشرف شریفی

پست الکترونیک: sharifi_1385@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۳٤۰٦٥۲٤۰

آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، شیراز، ایران

دریافت:۹۱/۱۰/۷
ویرایش نهایی:۹۲/۲/٦
پذیرش:۹۲/۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: *فلاوونوئیدها نقش حفاظتی در واکنش‌های غیرآنزیمی در برابر استرس اکسیداتیو بازی می‌کنند فلاوونوئیدها گروهی از ترکیبات پلی‌فنولی هستند که در چای وجود دارند. این مواد با رادیکال های آزاد واکنش داده و آنها را خنثی می سازند. در این مطالعه اثر آنتی اکسیدانی چای سیاه روی کبد، متعاقب تزریق تیواستامید در موش های سوری نر از نژاد Albino مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه ۴۰ سر موش در ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه شاهد، گروه دریافت کننده ی تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/kg، گروه دریافت کننده ی تیواستامید با دوز ۱۵۰ mg/kg، گروه دریافت کننده ی تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/kg متعاقب با دریافت چای سیاه با دوز ۵ گرم درصد و گروهی که تیواستامید با دوز ۱۵۰mg/kg متعاقب دریافت چای سیاه به دوز ۵ گرم درصد دریافت نمودند. تیمار حیوانات با تیواستامید به صورت تزریق درون صفاقی انجام شد. سپس به مدت ۳۰ روز با چای ۵gr/۱۰۰ml به عنوان تنها منبع آشامیدنی و غذای مناسب تغذیه شدند. پس از آن میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز سنجش شد.*

یافته ها: *افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در گروهایی که چای سیاه را با تیواستامید دریافت کرده اند در مقایسه با گروه تیواستامید مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).*

نتیجه گیری: *افزایش فعالیت این دو آنزیم در گروه دریافت کننده چای نشان دهنده اثر آنتی اکسیدانی چای سیاه می باشد که می توان این خاصیت را به کاتچین های چای نسبت داد.*

واژه های کلیدی: *آنتی اکسیدان، تیواستامید، چای سیاه، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز*

آدرس مقاله:
شریفی ا، نقش ن، رزمی ن" تاثیر آنتی اکسیدانی چای سیاه(Camellia Sinesis) بر آنتی بادی های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به دنبال مصرف تیواستامید در موش های نر" مجله علوم آزمایشگاهی، زمستان۱۳۹۲، دوره هفتم(شماره۴): ۱۸-۱۳

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان طیف وسیعی از بیماری ها به سرعت در حال توسعه می باشد. توجه ویژه ای به اثرات محافظتی آنتی اکسیدان های با منشاء طبیعی در برابر مسمومیت های ناشی از عوامل شیمیایی شده است(۱). امروزه چای به عنوان منبعی با فعالیت های بیولوژیک و فارماکولوژیک مفید برای سلامتی انسان مورد توجه قرار گرفته است(۲). چای از برگ گیاه *Camellia Sinesis* گرفته شده است (۳). چای ارزش غذایی و دامنه ی وسیعی از درمان را در کاهش قند خون، لیپیدهای خون، فشار خون، کاهش بیماری های قلبی و عروقی و کاهش ضربان قلب داشته و اثراتی از قبیل ضد انعقاد خون، ضد تومور، ضد HIV و افزایش ایمنی غیر اختصاصی بدن نشان می دهد(۴). بیشترین توجه بر روی تاثیرات حفاظتی آنتی اکسیدان‌های طبیعی بر علیه مسمومیت ناشی از مصرف داروها به ویژه هنگامی که رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند معطوف شده است(۵ ،۶). فلاوونوئیدها نقش حفاظتی مهمی در واکنش-های غیرآنزیمی در برابر استرس اکسیداتیو بازی می کنند(۷،۸). فلاوونوئیدها گروهی از ترکیبات پلی‌فنولی می-باشند که به طور گسترده در میوه، سبزیجات و چای وجود دارند (۹،۱۰). برگ های تازه چای غنی از مونومرهای فلاونول هستند که شناخته شده‌ترین آن‌ها کاتچین‌ها مانند اپی‌کاتچین‌ها است(۱۱). تیواستامید آنالوگ ساختاری استامینیوفن است که با توجه به مصرف بالای این دارو در پزشکی و امکان خنثی سازی آن ضرورت انجام این پروژه را توسط ترکیبات چای نشان می دهد. تیواستامید به عنوان یک ماده ی ضد قارچ استفاده می شود یک ماده ی اکسید کننده قوی است که توسط آنزیم cytP450B میکروزوم های سلول های کبدی به متابولیت فعال و سمی تیواستامید اکسید می شود. این ماده پروتئین ها و لیپید های غشا را مورد حمله قرارداده و موجب تجزیه ی پروتئین ها و پراکسیداسیون لیپید ها و در نهایت استرس اکسیداتیو(oxidative stress) می شود(۱۲). آسیب های وارده به کانال های یونی و لیپید های غشایی موجب تبادل کنترل نشده ی یون های کلسیم و دیگر یون ها و باعث مهار فسفوریلاسیون اکسیداتیو درون سلولی می شود. همچنین حجم هسته و هستک ها افزایش یافته و در نهایت منجر به نکروز کبدی می شود(۱۳). درشرایط طبیعی بدن گونه های فعال اکسیژن ROS (Reactive Oxygen Species) و آنتی اکسیدان ها در یک حالت متعادل باقی می مانند. زمانیکه این تعادل در جهت افزایشROS مختل گردد باعث ایجاد فشار اکسیداتیو(Oxidative OS) در فرد می شود(۱۵،۱۴). آنتی اکسیدان های آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز(CAT) مسئول محافظت های داخل سلولی بوده وملکول های غیرآنزیمی مثل αتوکوفرول وکاروتنوئیدها نیز در دفاع خارج سلولی نقش دارند(۱۶). ترکیبات پلی فنلی گیاهی درون سلول ها می توانند به عنوان دهنده های الکترون عمل کرده و به دو روش آنزیمی و غیر آنزیمی اثرات آنتی اکسیداتیو و آنتی پراکسیدانی ازخود نشان دهند.

روش بررسی

در این پژوهش از چای سیاه احمد ۵ گرم درصد استفاده شد. ۵۰گرم چای سیاه در یک لیتر آب جوش با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد ریخته شد و بعد از گذشت تقریبا ۲ دقیقه چای آماده از صافی عبور داده شده و پس از سرد شدن در ظروف آب موش ها به عنوان تنها منبع نوشیدنی ریخته شد(۱۷). تعداد ۴۰ سر موش نر از نژاد آلبینو با وزن تقریبی ۴۵±۱۵۰ از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند و در درجه حرارت ۲ ± ۲۳ درجه سانتیگراد و دوره ی نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت کافی نگهداری شدند. ابتدا موش ها به طور تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی تقسیم و هر گروه در قفس جداگانه نگهداری شدند. گروه اول به عنوان گروه شاهد که در طول ۳۰ روز آب و مواد غذایی عادی به همراه سرم فیزیولوژی دریافت کردند. گروه دوم موش هایی بودند که تیواستامید با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم را طی یک روز از طریق تزریق درون صفاقی دریافت کردند.گروه سوم موش هایی بودند

که تیواستامید با دوز ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم را طی یک روز از طریق تزریق درون صفاقی دریافت کردند. گروه چهارم موش هایی که دم کرده ی چای سیاه را به میزان ۵ گرم در صد به مدت ۳۰ روز بعد از گذشت یک روز تزریق درون صفاقی تیواستامید با دوز ۱۰۰میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان تنها منبع نوشیدنی دریافت کردند. گروه پنجم موش هایی که دم کرده ی چای سیاه را به میزان ۵ گرم در صد به مدت ۳۰روز بعد از گذشت یک روز از تزریق درون صفاقی تیواستامید با دوز ۱۵۰میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان تنها منبع نوشیدنی دریافت کردند. ۱۲ ساعت قبل از خونگیری، آب و غذای موش ها قطع شد و موش ها در شرایط ناشتا قرار گرفتند. به منظور خونگیری، موش ها با کلروفرم بیهوش شدند و خونگیری از قلب انجام شد. خون های جمع آوری شده به مدت ۲۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم آنها به منظور اندازه گیری آنزیم کاتالاز جدا شد. مقداری از خون گرفته شده از بطن موش ها در لوله های حاوی EDTA برای بخش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز ریخته شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم CAT سرم از روش Abei بر اساس میزان تجزیه شدن پر اکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰nm استفاده شد(۱۸). براین اساس ml ۰/۵ از محلول mmol/L H_2O_2 ۳۰ در بافر فسفات ۵۰mmol/ L ریخته شد و ۵۰ میکرولیتر نمونه ی سرم به آن اضافه شد. جذب نوری در طول موج ۲۴۰nmدر همان لحظه و ۲ دقیقه بعد از آن خوانده شد. ضریب خاموشی ۴۳/۶molar/cm در نظر گرفته شد. تفاوت جذب نوری به عنوان فعالیت آنزیم کاتالاز با واحد U/ml اندازه گیری شد فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از کیت شرکت بایورکس اندازه گیری شد. پس از استخراج داده ها و تجزیه و تحلیل برای اثبات تبعیت داده ها آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Duncan Post hoc برای مقایسه میانگین ها و تفاوت گروه های آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج به صورت Mean ± SE گزارش شد. برای آنالیز داده ها از نرم افزار آماری SPSS۱۵ استفاده شد. سطح معنا دار بودن داده ها $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه کنترل ۶۳/۲۸ ± SE U/ml بود، این میزان در گروه دریافت کننده تیواستامید ۱۰۰میلی گرم بر کیلوگرم ۱۶/۵ ± SE U/ml بود که کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد($p<۰/۰۰۱$). گروه دریافت کننده ی چای سیاه با میزان ۲۹/۶۵ ± SE U/ml افزایش معناداری را نسبت به گروه تیواستامید ($p<۰/۰۵$) نشان می دهد. میزان این آنزیم در گروه دریافت کننده ی تیواستامید با دوز ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ۳/۲۳ ± SE U/ml است که کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل نشان می دهد($p<۰/۰۰۱$). این میزان در گروه دریافت کننده ی چای سیاه۱۴/۷۸ U/ml± SE بود که افزایش معناداری را نسبت به گروه تیواستامید ($p<۰/۰۵$) نشان می دهد (جدول ۱). میانگین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه شاهد U/g hemoglobin ± SE ۱۰۰/۸۷ است که میزان آن U/g hem ۱۳/۹۲ ± SE در تیواستامید با دوز ۱۰۰ mg/Kg بود که کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل را نشان می دهد ($p<۰/۰۰۱$). گروه دریافت کننده ی چای سیاه U/g hem ۵۵/۸۰ ± SE میزان فعالیت گلوتاتیون را نشان می دهند که در مقایسه با گروه تیواستامید افزایش معناداری را نشان می دهد($p<۰/۰۵$). برای تیواستامید با دوز ۱۵۰mg/Kg یافته ها بدین شرح است که میزان فعالیت آنزیم GPx در گروه دریافتی سم ۱۷/۱۶ ± SE۱۶ U/g hem بود که نسبت به گره کنترل کاهش معناداری را نشان می دهد($p<۰/۰۰۱$). در گروه گیرنده ی چای سیاه نیز میزان فعالیت آنزیم ۴۱/۴۵U/g hem ±SE GPx است که این میزان افزایش معناداری را نسبت به گروه تیواستامید نشان می دهد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱- مقایسه ی میانگین کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز گروه های شاهد، گروه دریافت کننده ی سم تیواستامید با دوز ۱۰۰(TAA ۱۰۰ mg/kg)، گروه دریافت کننده ی سم با همین دوز به همراه تیمار با چای سیاه (TAA 100+BT) ، گروه دریافت کننده ی سم تیواستامید با دوز ۱۵۰mg/kg(TAA 150) ،گروه دریافت کننده ی سم با همین دوز به همراه تیمار با چای سیاه (TAA 150+BT)

گروه ها	تعداد	میانگین کاتالاز	میانگین گلوتاتیون پراکسیداز	P_value
کنترل	۸	۶۳/۲۸۷۵	۱۰۰/۸۷۵۰	
TAA100	۸	۱۶/۵۰۰۰	۱۳/۹۲۵۰	
TAA100+BT	۸	۲۹/۶۵۰۰	۵۵/۸۰۰۰	۰/۰۰۰
TAA150	۸	۳/۲۳۰۰	۱۷/۱۶۲۵	
TAA150+BT	۸	۱۴/۷۸۷۵	۴۱/۴۵۰۰	P_value

بحث

در این مطالعه کاهش معنا داری در سطوح آنزیمی کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در گروه های دریافت کننده ی تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/kgو۱۵۰mg/kgدر مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد که نشان دهنده ایجاد استرس اکسیداتیو است.در مقابل، در گروه های دریافت کننده ی تیواستامید متعاقب دریافت چای سیاه میزان این آنزیم ها افزایش یافت که نشان دهنده ی خاصیت آنتی اکسیدانی چای سیاه است. زیرا هر دوی این آنزیم ها نشان دهنده ی فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی در بدن است و هر چه میزان آن ها بالا باشد سیستم دفاعی بدن در مقابله با عوامل اکسید کننده پایدارتر می باشد.که می توان ایجاد این خاصیت را به کاتچین ها در چای سیاه نسبت داد.Guo و همکاران نشان دادند کاتچین های موجود در چای غلظت رادیکال‌های آزاد لیپیدی را کاهش داده و باعث پایان بخشیدن آغاز و گسترش پراکسیداسیون لیپیدها می شود(۱۹). Paquay و همکاران نیز اثبات کرده اند که اپی کاتچین ها کاهش دهنده های موثر اکسیژن و واکنشگر های فعال فیزیولوژیکی و نیتروژن درگیر درسوپر اکسید، رادیکال های پراکسی نیتریت و هیپوکلروس‌اسید هستند(۲۰). Azam و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند اپی کاتچین‌ها به عنوان شلاته‌کننده ی یون های Fe و Cu به ترتیب بازدارنده‌ی تولید رادیکال-های هیدروکسیل و از بین برنده‌ی هیدروپراکسیداز لیپید هستند(تشکیل آلدئید فعال را باعث می‌شود) (۲۱).

علاوه بر این متابولیت گلوکورونید کاتچین که تشکیل B-ring o methylated catechins را می‌دهد فعالیت آنتی-اکسیدانی کم دارد که وابسته به کاهش ویژگی‌های دهنده-ی هیدروژن می‌باشد(۲۲) اما می‌تواند بدن را به طور موثر در برابر ویژگی سیتوتوکسیته به عنوان ترکیب مادر حفاظت کند (۲۳) بنابراین کاتچین‌ها و متابولیت‌های فعال آن‌ها ممکن است در قسمت‌های مختلفی فعالیت کنند و در واکنش های متفاوتی مانند حذف رادیکال های آزاد درگیر شوند.. عصاره ی چای سبز شامل پلی فنل های کاتچین، اپی کاتچین، اپی گالوکاتچین، گالات تئین، کافئین و پیرلوکینولین (ویتامین تازه شناخته شده) می باشد(۲۴). بررسی نشان داد که تیواستامید در هر دو دوز القای اکسیداتیو کرده است و مقایسه ی بین گروهی نشان می دهد که این القا وابسته به دوز نمی باشد (Dose independent) چون در گروه هایی که میزان گلوتاتیون پراکسیداز بررسی شد، گروه های مسموم شده با تیواستامید با دوز کمتر در مقایسه با دوز بیشتر به ترتیب القای استرس بیشتر و نزدیک به یکدیگر داشتند که شواهد تاکید کننده ی مطلب ذکر شده می باشد. باید توجه داشت که هر چه میزان سم دریافتی بیشتر باشد نیاز به کاتچین ها به عنوان آنتی اکسیدان نیز افزایش می یابد. زیرا در گروه هایی که دوز بیشتری از تیواستامید متعاقب چای دریافت کرده اند، در مقایسه با دوز کمتر متعاقب با چای افزایش سطوح آنتی اکسیدانی کمتری داشتند.

نتیجه گیری

افزایش فعالیت این دو آنزیم در گروه دریافت کننده چای نشان دهنده اثر آنتی اکسیدانی چای سیاه می باشد که می توان این خاصیت را به کاتچین های چای نسبت داد.

تشکر و قدردانی

نـویسندگان این مقاله از کلیه کارکـنان آزمایشگاه هشـت بهشت اصـفهان مخـصوصا" آقـای دکتـر مـحمد رضـا آقـای قـزوینـی کمـال تـشـکر را دارنـد.

References

1. Juránek I, Bezek S. *Controversy of free radicals hypothesis: Reactive oxygen species cause or consequence of fissue injury?* Gen physiol Biophys. 2005; 24(3): 263-78.

2. Luximon-Ramma A, Bahorun T, Crozier A, Zbarsky V, Datla KP, Dexter DT, et al. *Characterization of antioxidant function of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas.* Food Research International. 2005; 38(4): 357-367.

3. Ryan P, Hynes MJ. *The kinetics and mechanism of the complex formation polyphenols EGCG and ECG with iron (III).* J Inorg Biochem. 2007; 101(4): 585-93.

4. Yang CS, Lambert JD, Ju J, Lu G, Sang S. *Tea and cancer prevention: Molecular mechanisms and human relevance.* Toxicol Appl Pharmacol. 2007; 224(3): 265-73.

5. Frei, B, Higdon, JV. *Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies.* J Nutr. 2003; 133(10): 3275-3284.

6. Okada K, Wangpoengtrakul C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K, Osawa T. *Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stressinduced renal injury in mice*. J Nutr. 2001; 131(5): 2090-2095.

7. Babich H, Gold T, Gold R. *Mediation of the in vitrocytotoxicity of green tea and black tea polyphenols by cobalt chloride*. Toxicol Lett. 2005; 155(1): 195-205.

8. Arts IC, Hollman PC, Kromhout D. *Chocolate as asource of tea flavonoids*. Lancet. 1999; 354(9177): 488.

9. Bearden M, Pearson D, Rein D, Chevaux KA, Carpenter DR, Keen CL. *Potential cardiovascular health benefits of procyanidins present in chocolate and cocoa; in Caffeinated Beverages*. ACS Symposium Series. 2000; 754: 177-186.

10. Matito C, Mastoraku F, Centelles JJ, Torres JL, Cascante M. *Antiproliferative effect of antioxidant polyphenols from grape in murine Hep1c1c7.* Eur J Nutr. 2003; 42(1): 43-49.

11. Graham HN..*Green tea composition, consumption and phenol chemistry.* Prev Med. 1992; 21(3): 334-350.

12.Bruck R, Shirin H, Aeed H, Matas Z, Hochman A, Pines M, et al. *Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers*. J Hepatology. 2001; 35(4): 457-464.

13. Zaragoza A, Andrés D, Sarrión D, Cascales M. *Potentiation of thioacetamide hepatotoxicity by Phenobarbital pretreatment in rats, inducibility of FAD monooxygenase system and age effect.* Chemico-Biological Interactions. *2000;* 124(2): 87-101.

14. Attaran M, Pasqualotto E, Falcone T, Goldberg JM, Miller KF, Agarwal A, et al. *The effect of follicular fluid reactive oxygen specieson the outcome of in vitro fertilization*. Int J Fertil Women's Med. 2000; 45(5): 314-20.

15. Pierce JD, Cackler AB, Arnett MG. *Why should you care about free radicals?* RN. 2004; 67(1): 38-42.

16. Halliwell B. *Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special referenceto atherosclerosis*. Br J Experiment Pathol. 1989; 70(6): 737–57.

17. Peterson J, Dwyer J, Jacques P, Rand W, Prior R, Chui K. *Tea variety and brewing techniques influence flavonoid content of black tea*. Journal of Food Composition and Analysis. 2004; 17(3–4): 397–405.

18. Aebi H. *Catalase in vitro*. Methods Enzymol. 1984; 105: 121-126.

19. Guo Q, Zhao B, Shen S, Hou J, Hu J, Xin W. *ESR study on the structure-antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers*. Biochem Biophys Acta. 1999; 1427(1): 13-23.

20. Paquay JB, Haenen GR, Stender G, Wiseman SA, Tijburg LB, Bast A. *Protection against nitric oxide toxicity by tea*. J Agri Food Chem. 2000; 48(11): 5768-5772.

21. Azam S, Hadi N, Khan NU, Hadi SM. *Prooxidantproperty of green tea polyphenols, epicatechin and epicatechin-3-gallate: implications of anticancer properties*. Toxicol In Vitro. 2004; 18(5): 555-61.

22. Harada M, Kan Y, Naoki H, Fukui Y, Kageyama N, Nakai M, et al. *Identification of the major antioxidative metabolites in biological fluids of the rat with ingested (+)-catechin and (-)-epicatech.* Biosci Biotechnol Biochem. 1999; 63(6): 973-7.

23. Schroeter H, Spencer JP, Rice-Evans C, Williams RJ. *Flavonoids protect neurons from oxidized low-density-lipoprotein-induced apoptosis involving c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun and caspase-3.* J Biochem. 2001; 358(3): 547-57.

24. Khan SA, Priyamvada S, Arivarasu NA, Khan S, Yusufi AN. *Influence of green tea on enzymes of carbohydrate metabolism' antioxidant defense' and plasma membrane in rat tissues.* Nutrition. 2007; 23(9): 687-695.