

اثر عصاره تام و فراکسیون های هیدرومتانولی حاصل از چای سیاه ایرانی بر استرس اکسیداتیو در رت های دیابتی نوع ۱

بیتا... علیپور^{۱*}، عباس دل آذر^۲، علیرضا استاد رحیمی^۳، سرور علیپور آذیری^۴، مهران مسکری^۵

چکیده

مقدمه: استرس اکسیداتیو، آشکارا با دیابت و عوارض آن در ارتباط است. احتمالاً ترکیبات موجود در چای، بافت های بدن را در مقابل آسیب های اکسیداتیو محافظت می کند. بر این اساس اثر عصاره تام چای سیاه و فراکسیون های حاصل از آن بر استرس اکسیداتیو رت های دیابتی مطالعه شد.

روش ها: در این مطالعه، ۵۶ رت نر سه ماهه در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انتخاب و به طور تصادفی به ۸ گروه ۷ تایی تقسیم و به مدت یک ماه مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه های اول و دوم سالم غیر دیابتی و بقیه گروه ها توسط استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. به گروه های هشت گانه به ترتیب: ۱- حامل (کنترل)، ۲- عصاره تام+ حامل (کنترل)، ۳- حامل (دیابتی، کنترل)، ۴- عصاره تام+ حامل (دیابتی) و فراکسیون های متانولی+ حامل ۵-۲۰٪ (دیابتی) ۶- ۴۰٪ (دیابتی)، ۷- ۶۰٪ (دیابتی)، ۸- ترکیب ۸۰ و ۱۰۰٪ (دیابتی) به صورت داخل صفاقی روزانه تزریق شد. در پایان مطالعه از رت ها خون گیری و پارامترهای استرس اکسیداتیو اندازه گیری گردید و داده ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه و نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: در این مطالعه، عصاره تام باعث افزایش آنتی اکسیدانت تام ($P=0/001$)، سوپر اکسید دیسموتاز ($P=0/010$)، گلوتاتیون پراکسیداز ($P=0/000$) و گلوتاتیون ($P=0/002$) در رت های سالم و دیابتیک و کاهش مالون دی آلدید ($P=0/01$) در رت های دیابتیک شد. همچنین فراکسیون ۲۰٪، باعث بیشترین افزایش در میزان های تام آنتی اکسیدانت ($P=0/009$)، سوپر اکسید دیسموتاز ($P=0/002$)، گلوتاتیون پراکسیداز ($P=0/001$) و گلوتاتیون ($p=0/001$) و بیشترین کاهش در میزان مالون دی آلدید ($P=0/01$) در رت های دیابتیک گردید.

نتیجه گیری: تجویز عصاره تام چای سیاه و فراکسیون ۲۰٪ حاصل از آن، بر استرس اکسیداتیو رت های دیابتیک تاثیر مثبت دارد.

واژگان کلیدی: دیابت، رت، چای سیاه، استرس اکسیداتیو

۱- گروه علوم تغذیه، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲- دپارتمان فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۳- گروه علوم تغذیه دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۴- معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۵- مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

***نشانی:** گروه علوم تغذیه، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۵۷۵۸۰

نمبر: ۰۴۱۱-۳۳۴۰۶۳۴، پست الکترونیک: balipoor@yahoo.com

مقدمه

دیابت، شایع‌ترین بیماری متابولیکی است که با افزایش قند خون ناشی از کمبود مطلق یا نسبی انسولین مشخص گردیده و در دراز مدت با عوارض چشمی، کلیوی، قلبی - عروقی و عصبی همراه می‌باشد [۱-۳]. تعداد افراد دیابتیک به دلایل افزایش جمعیت سالمندی، شهرنشینی، چاقی، عدم تحرک جسمانی و رژیم غذایی نامناسب رو به افزایش است. افزایش شیوع دیابت در حال حاضر و در آینده، برنامه‌ریزی صحیح جهت کنترل این بیماری را می‌طلبد [۴ و ۵].

استرس اکسیداتیو که عبارت از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو بدن می‌باشد، به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است [۶]. نامنظم شدن متابولیسم سلولی در دیابت، موجب به هم خوردن تعادل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو بدن می‌شود [۷] بطوری که در چند مطالعه نشان داده شده که طی فرایند بیماری دیابت، استرس اکسیداتیو در خون افزایش یافته و درمان با آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین E و فلاوونوئیدها منجر به کاهش عوارض دیابت می‌شود [۸ و ۷].

فلاوونوئیدها خاصیت آنتی‌اکسیداتیو دارند و چای یکی از منابع مهم فلاوونوئید می‌باشد [۹] و احتمالاً دریافت منظم چای در بهبود وضعیت آنتی‌اکسیداتیو بدن مفید واقع می‌شود [۱۰] و از طرفی چای یکی از نوشیدنی‌های عمده پس از آب در میان مردم است و بیش از دو سوم جمعیت دنیا چای می‌نوشند [۹]. ایران با جمعیتی حدود یک درصد از جمعیت کل جهان، حدود ۴ تا ۴/۵ درصد از مصرف کل چای تولیدی دنیا را به خود اختصاص داده و مصرف سرانه چای در ایران چهار بار بیشتر از مصرف سرانه جهانی است [۱۱]. با وجود این که حدود ۸۰٪ چای مصرفی جهان از نوع سیاه می‌باشد، ولی تحقیقات بیشتر بر روی چای سبز متمرکز بوده و مضافاً ترکیبات چای مناطق مختلف بر حسب واریته، فصل، سن، آب و هوا و پروسه فرآوری، متفاوت می‌باشد؛ بنابراین تعیین اثر چای سیاه و فراکسیون‌های حاصل از آن بر روی سلامتی ضروری است [۱۰، ۱۲، ۱۳].

لذا با مد نظر قرار دادن این که تا کنون در راستای شناسایی فراکسیون موثر چای بر سلامتی مطالعه‌ای انجام نیافته

است و همچنین تاثیر چای سیاه ایرانی و فراکسیون‌های مختلف حاصل از آن بر روی استرس اکسیداتیو مورد بررسی قرار نگرفته است، این مطالعه طراحی شد.

روشها

حیوانات

در این مطالعه تجربی، تعداد ۵۶ سر رت نر سه ماهه ۲۵۰- گرمی از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و به محل مطالعه یعنی حیوانخانه مرکز تحقیقات کاربردی - دارویی منتقل شدند. رت‌ها به منظور سازگاری با محیط به مدت دو هفته تحت رژیم پایه قرار گرفتند؛ سپس به طور تصادفی این رت‌ها به ۸ گروه ۷ تایی تقسیم و به مدت یک ماه در شرایط نگهداری استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی با تهویه مناسب) مطالعه شدند. گروه‌های اول و دوم غیر دیابتی و سوم دیابتی به عنوان شاهد انتخاب و گروه‌های سوم تا هشتم توسط استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kgw) دیابتیک شدند؛ بعد از ۷۲ ساعت از تزریق استرپتوزوتوسین، قند خون ناشتا با استفاده از کیت پارس آزمون به صورت اتوماتیک توسط دستگاه اتوآنالیزور Alcyon Abbot اندازه‌گیری شد و رت‌های با قند خون بالای ۲۵۰ mg/dl به عنوان دیابتی نوع ۱ در مطالعه وارد شدند [۱۴، ۱۵].

تهیه عصاره تام چای سیاه و فراکسیون‌های آن

ابتدا چای سیاه توسط آسیاب مکانیکی کاملاً پودر گردید و سپس توسط حلال هیدرومتانولی ۷۰٪، به روش ماسراسیون در دفعات مکرر عصاره‌گیری شد. عصاره‌ها پس از صاف نمودن بوسیله دستگاه روتاری اوپوراتور تحت خلا و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. ۲ گرم از عصاره خشک به Sep-pack منتقل گردید و فراکسیون‌های مختلف آن توسط ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال‌ها با قطبیت فزاینده (مخلوط‌های آب و متانول به ترتیب با نسبت‌های ۸۰-۲۰، ۶۰-۴۰، ۴۰-۶۰، ۲۰-۸۰ و ۸۰-۰) شستشو گردیدند. فراکسیون‌های حاصله توسط دستگاه روتاری اوپوراتور خشک شدند [۱۶].

پلاسمای با استفاده از دستورالعمل کیت راندوکس به صورت اتوماتیک توسط دستگاه اتوآنالیزور Alcyon Abbot ساخت کشور فرانسه انجام گرفت. اندازه‌گیری گلوکتاتیون پلاسمای با استفاده از دستورالعمل کیت cayman (LOT:170286) stat fax 2100 chemical توسط دستگاه الیزا مدل ۲۱۰۰ stat fax کمپانی Awarness ساخت کشور آمریکا انجام شد [۱۸]. داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه و نرم‌افزار SPSS به صورت جدولی ارائه شد.

یافته‌ها

در این مطالعه عصاره تام حاصل از چای سیاه باعث افزایش آنتی‌اکسیدانت تام ($P=0/001$)، سوپراکسید دیسموتاز ($P=0/010$)، گلوکتاتیون پراکسیداز ($P=0/001$) و گلوکتاتیون ($P=0/002$) در رت‌های سالم و دیابتیک و کاهش مالون دی‌آلدید ($P=0/010$) در رت‌های دیابتیک شد (جدول ۱). فراکسیون ۲۰٪ حاصل از چای سیاه باعث بیشترین افزایش در میزان‌های پلاسمایی آنتی‌اکسیدانت تام ($P=0/009$)، سوپراکسید دیسموتاز ($P=0/002$)، گلوکتاتیون پراکسیداز ($P=0/001$) و گلوکتاتیون ($P=0/001$) و بیشترین کاهش در میزان مالون دی‌آلدید ($P=0/001$) رت‌های دیابتیک گردید (جدول ۲).

نحوه تجویز عصاره‌ها به گروه‌های مختلف رت‌ها

به گروه‌های هشت گانه به ترتیب: ۱- حامل (سالم)، ۲- عصاره تام + حامل (سالم)، ۳- حامل (دیابتی)، ۴- عصاره تام + حامل (دیابتی) و فراکسیون‌های متانولی + حامل: ۵- ۲۰٪ (دیابتی)، ۶- ۴۰٪ (دیابتی)، ۷- ۶۰٪ (دیابتی) و ۸- ترکیب ۸۰ و ۱۰۰٪ (دیابتی) به میزان ۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن رت‌ها عصاره تام و فراکسیون‌ها با دوزهای کمتر (بر حسب درصد بازدهی هر فراکسیون از عصاره تام توسط Sep-pack) به صورت روزانه در حلال مناسب (دی‌متیل سولفوکساید به عنوان حامل) حل و به میزان ۰/۳ میلی‌لیتر به هر رت به صورت داخل صفاقی روزانه توسط سرنگ انسولین تزریق شد [۱۴].

روش‌های اندازه‌گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو

مالون دی‌آلدید (MDA)

اندازه‌گیری مالون دی‌آلدید پلاسمای بر پایه واکنش با تیوباربیتریک اسید، استخراج با بوتانل نرمال، اندازه‌گیری جذب با روش فلوریمتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد صورت گرفت [۱۷].

اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدانت تام (Lot:213NX)، سوپراکسید دیسموتاز (Lot:211RD)، گلوکتاتیون پراکسیداز (LOT:273RS)

جدول ۱- اثر تجویز عصاره تام چای سیاه بر پارامترهای استرس اکسیداتیو رت‌های سالم و دیابتیک

گروه				
متغیر	گروه ۱- کنترل (سالم + حامل)	گروه ۲- کنترل (سالم + عصاره تام)	گروه ۳- کنترل (دیابتی + حامل)	گروه ۴ (دیابتی + عصاره تام)
آنتی‌اکسیدانت تام (mmol/L)	۰/۳±/۰/۴	* ↑ ۰/۷±/۰/۴	۰/۳±/۰/۴	* ↑ ۰/۷±/۰/۵
مالون دی‌آلدید (nmol/L)	۳/۸±/۰/۴	۳/۳±/۰/۴	۳/۷±/۰/۵	* ↓ ۱/۶±/۰/۲
سوپراکسید دیسموتاز (V/gHb)	۳۴۴۲/۹±۱۳۱/۵	* ↑ ۳۶۷۴/۹±۶۴/۵	* ↓ ۲۳۸۰/۲±۲۵۷/۷	* ↑ ۳۱۰۴/۳±۱۷۴/۶
گلوکتاتیون پراکسیداز (V/gHb)	۲۸/۶±/۶۵	* ↑ ۳۶/۴±۲/۴۵	* ↓ ۲۷/۲۶±/۱۹	* ↑ ۳۱/۲±/۱/۲
گلوکتاتیون (mmol/L)	۱۵/۸±/۱/۶	* ↑ ۱۸/۱۶±/۱/۵۳	* ↓ ۵/۴۱±/۱/۶۴	* ↑ ۱۴/۲±/۱/۶

* مقایسه مابین گروه ۳ و ۴ همچنین ۲ و ۱ صورت گرفته است. $P \leq 0/02$ (آنالیز واریانس یک طرفه)، نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است ($n=7$).

↑: افزایش فاکتور مورد نظر ↓: کاهش فاکتور مورد نظر

جدول ۲- اثر تجویز فراکسیون‌های مختلف چای سیاه بر پارامترهای استرس اکسیداتیو رت‌های دیابتی

گروه

شاخص	گروه ۳- کنترل (دیابتی + حامل)	گروه ۵ (دیابتی + فراکسیون ۲۰٪)	گروه ۶ (دیابتی + فراکسیون ۴۰٪)	گروه ۷ (دیابتی + فراکسیون ۶۰٪)	گروه ۸ (دیابتی + ترکیب فراکسیون ۸۰٪ و ۱۰۰٪)
آنتی اکسیدانت تام (mmol/L)	۰/۳±۰/۰۴	*۰/۵±۰/۰۰۲ ↑	۰/۴±۰/۰۰۴	۰/۳±۰/۰۰۵	۰/۳±۰/۰۰۳
مالون دی آلدئید (nmol/L)	۳/۷±۰/۰۵	*۱/۲±۰/۰۱ ↓	۳/۹±۰/۰۵	۴/۴±۰/۰۶	۴/۱±۰/۰۳
سوپراکسید دیسموتاز (V/gHb)	۲۳۸۰/۲±۲۵۷/۶	*۳۳۰۶/۷±۱۵۸/۱ ↑	۲۳۸۶/۹±۲۰۵/۵	۲۳۶۱/۶±۱۲۵/۶	۲۳۱۸/۴±۱۳۱/۳
گلو تاتیون پراکسیداز (V/gHb)	۲۷/۲±۱/۹	*۳۱/۱±۰/۰۷ ↑	۲۷/۴±۰/۰۷	۲۷/۳±۰/۰۸	۲۷/۵±۰/۰۶
گلو تاتیون (mmol/L)	۵/۴±۱/۶	*۱۵/۶±۰/۰۸ ↑	۱۲/۲±۰/۰۷	۱۰/۴±۱/۸	۹/۴±۱/۹

*مقایسه مابین گروه ۵ و سایر گروه‌ها صورت گرفته است $P \leq 0/009$ (آنالیز واریانس یک طرفه)، نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار ($n=7$) بیان شده است. ↑: افزایش فاکتور مورد نظر ↓: کاهش فاکتور مورد نظر

بحث

تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌های بدن تحت کنترل دقیقی است و تولید اضافی آنها در طی اختلالات متابولیسم از قبیل دیابت و سایر بیماری‌های تحلیل برنده، منجر به صدمه سلولی می‌گردد [۲۰، ۱۹]. نامنظم شدن متابولیسم سلول در دیابت، موجب به هم خوردن تعادل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن می‌شود و در نهایت استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد [۷] و ممانعت از ایجاد استرس اکسیداتیو در دیابت، در پیشگیری از عوارض آن مهم است [۲۱]. در مطالعه حاضر نیز دیابت موجب کاهش عوامل آنتی اکسیدانی از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، گلو تاتیون پراکسیداز و گلو تاتیون سرم شده و دریافت عصاره تام چای سیاه باعث افزایش آنتی اکسیدانت تام، سوپراکسید دیسموتاز، گلو تاتیون پراکسیداز و گلو تاتیون و کاهش مالون دی آلدئید در رت‌های دیابتیک گردید (جدول ۱).

نتایج چندین مطالعه [۲۲-۲۷] نشان داد که مصرف چای سیاه توسط افراد بر روی وضعیت آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو سرم تأثیر نداشت ولی گزارش‌های دیگر [۳۲-۲۸]، تأثیر مثبت مصرف چای بر روی پارامترهای آنتی اکسیدانی، استرس اکسیداتیو و مالون دی آلدئید سرم افراد

را نشان دادند. همچنین در مطالعات حیوانی، نتایج تحقیقات برخی پژوهشگران [۱۲، ۱۵، ۴۱-۳۳] نشان داد که تجویز خوراکی عصاره چای به رت‌ها موجب تأثیرات مثبت در وضعیت آنتی اکسیدانی از قبیل: آنتی اکسیدانت تام، سوپراکسید دیسموتاز و گلو تاتیون شده و باعث تعدیل استرس اکسیداتیو می‌گردد ولی Sabu در تحقیق خود دریافت که تجویز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازاء کیلوگرم وزن بدن، پلی فنل‌های چای به رت‌ها تأثیری بر روی کاتالاز و گلو تاتیون پراکسیداز سرم ندارد [۱۴].

مرور مطالعات گذشته، نشان می‌دهد که تجویز چای و پلی فنل‌های آن در مدل‌های حیوانی، مطابق مطالعه حاضر اکثراً باعث تغییرات مثبت در پارامترهای استرس اکسیداتیو و سیستم آنتی اکسیدانی بدن می‌شود؛ ولی این تغییرات مثبت در مطالعات با مدل انسانی کم و اکثراً ضد و نقیض هستند و این تفاوت نتایج در مدل‌های انسانی و حیوانی، ممکن است ناشی از دو عامل باشد: اولاً محدود بودن متغیرهای ژنتیکی حیوان نسبت به انسان ممکن است باعث تغییرات بیشتر مثبت در پاسخ‌دهی ژنی به تجویز چای باشد. انسان با دارا بودن متغیرهای ژنی بیشتر، تنوع پاسخ‌دهی ژنی نسبت به تجویز چای از خود نشان می‌دهد. ثانیاً هرچند در مطالعات اکثراً چای با غلظت‌ها و میزان‌های یکسان برحسب کیلوگرم وزن بدن برای انسان و حیوان تجویز

تجویز صفاقی چای در این مطالعه توانسته است غلظت مواد مؤثر در استرس اکسیداتیو را سریعاً در خون و ارگان‌های مختلف بالا ببرد و نتایج مثبت‌تر مطالعه حاضر از این طریق نیز قابل تفسیر است.

همچنین در این مطالعه فراکسیون ۲۰٪ حاصل از چای سیاه، باعث بیشترین تغییرات مثبت در وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم نسبت به سایر فراکسیون‌ها در رت‌های دیابتیک شد (جدول ۲). که این اثر ممکن است ناشی از تجمع مواد مؤثر در این فراکسیون و حذف اثر آنتاگونیستی سایر مواد که در فراکسیون‌های دیگر تجمع یافته‌اند باشد. با توجه به این که تا کنون مطالعه‌ای بر روی تأثیر فراکسیون‌های مختلف چای بر روی پارامترهای استرس اکسیداتیو صورت نگرفته است، لذا یافته فوق از لحاظ فرمولاسیون ترکیب مؤثر چای، یافته‌ای جدید و نو تلقی می‌شود و توصیه می‌گردد با رعایت ملاحظات اخلاقی، اثر این فراکسیون به صورت خوراکی بر روی افراد دیابتی و غیر دیابتی انجام گیرد.

سپاسگزاری

بودجه تحقیقاتی پژوهش حاضر از محل اعتبار پژوهشی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز (طرح با کد ۸۵/۱۰۷) تامین شده که بدینوسیله تشکر می‌شود.

می‌شود، ولی در مدل حیوانی با وجود آسان و دقیق بودن کنترل، معمولاً میزان دریافتی بالا می‌باشد و کنترل سایر شرایط دخیل بر مطالعه نیز در حیوان آسان است؛ لذا تغییرات در نتایج مدل‌های انسانی نسبت به حیوان می‌تواند از این دو عامل منشاء گیرد [۴۲] و از طرفی در مطالعه حاضر اثر چای با تجویز به طریق داخل صفاقی بر روی پارامترهای استرس اکسیداتیو در مقایسه با نتایج سایر مطالعات در مدل‌های انسانی و حیوانی با تجویز خوراکی مثبت‌تر و جامع‌تر می‌باشد. دلیل این اثر مثبت می‌تواند ناشی از تفاوت ترکیب، میزان مصرف و مسیر تجویز چای و مدت مطالعه باشد. ترکیبات چای مناطق مختلف برحسب وارسته، فصل، سن، آب و هوا و فرآیند فرآوری متفاوت است [۱۰، ۱۲، ۱۳]. نتایج مطالعات متعدد در مرور صورت گرفته توسط Yung، حاکی از وابستگی اثرات عصاره چای به مدت، میزان و مسیر مصرف می‌باشد؛ تا جایی که اثرات چای با مصرف زیاد و در مدت زمان طولانی بهتر است و بسته به مسیر تجویز اثرات آن متفاوت است [۱۳]. میزان مواد مؤثر چای در خون و ارگان‌های مختلف بدن در تجویز خوراکی چای نسبت به تجویز صفاقی در حد خیلی پایین گزارش شده است [۴۳]. حداکثر غلظت کاتچین‌های چای در پلاسما در تجویز صفاقی، ۲۴ mmol/L و در تجویز خوراکی، ۰/۰۴۳ mmol/L است؛ لذا غلظت پلاسمایی کاتچین‌ها در تجویز صفاقی حدود ۵۵۸ برابر غلظت آنها در تجویز خوراکی می‌باشد [۴۴]؛ بنابراین

مآخذ

1. Ferdinando C, Ornella C, Roberto M. Cardio Vascular risk factors and disease management in type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2006; 29 : 498-503.
2. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin – induced diabetes mellitus. *Life science* 2003; 73 : 1907-16.
3. Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci* 2000; 23(11): 542-549.
4. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, Hilary K. Global prevalence of diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(5): 1046-52.
5. Raynuld B, Jun Y, John W. PPAR Agonism prevents the onset of type2 Diabetes in ZDF rats. *Endocrinol.* 2006; 10: 1210-15.
6. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Jl Spor Scie Med* 2002; 1:1-14.
7. Andrea M, Vincent W. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Revi* 2004; 25:612 – 628.
8. Baydas G, Cantanl L, Turkoglu A. comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamine E on streptozocin – induced diabetes mellitus. *J Pineal Res* 2002; 32(4) :225-30.
9. Gupta S, saha B, Giri AK. Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of

- green tea and black tea: *Muta Reaserch* 2002;512 :37-65.
10. Amitabye TR, Theeshan B, Alan C, Vivginia Z. Characterization of the antioxidant function of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Resea Internal* 2005; 38:357-367.
 ۱۱. اخوت، سید محمود. وکیلی، دانش. چای (کاشت، داشت و برداشت)، انتشارات فارابی، تهران، ۱۳۷۷، ۵۷-۱۶.
 12. Kuan L, Meng S, Chun T. Comparative Studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of Oolong, Black, Pu-erh, and green tea leaves in rats. *J Agric Food Chem* 2005; 53:480-489.
 13. Yung H, Hsin H. Tea, Obesity, and Diabetes. *Mol Nutr Food Res* 2006; 50:188-210.
 14. Sabu M, Smitha K, Ramadasan K. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *J Ethno Pharmacol* 2002; 83(1-2): 109-116.
 15. Pon V, Kuruvimalai E, Chennam S. Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico Biological Interac* 2006; 162: 114 – 120.
 16. Delazar A, Asl BH, Mohammadi O, Afshar FH, Nahar L, Modarresi M, et al. Evaluation of analgesic activity of *Eremostachys laciniata* in mice. *J Natur Remedi* 2009;9(1):1-7.
 17. Del Rio D, Pellegrini N, Colombi BBianchi M, Serafini M, Torta F, et al. Rapid fluorometric method to detect total plasma malondialdehyde with mild derivatization conditions. *Clin Chem* 2003; 49(4):690-692.
 18. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MK, Copinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993; 84: 407-412.
 19. Andersson U, Leighton B, Young ME, Blostrand E. Inactivation of aconitase and oxoglutarate dehydrogenase in skeletal muscle in vitro by superoxide anions and of nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 249: 512 – 516.
 20. Ghafourifar P, Bringold U, Klein SD, Richter C. Mitochondrial nitric oxide synthase, oxidative stress and apoptosis. *Biol Signals Recept.* 2001; 10: 57 – 65.
 21. Haixia C, Zhishuang Q, Lingling F, Peng D, Xin Z. Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3 polysaccharides from green tea, oolong tea, and black tea. *J Food Sci* 2009; 00:1-6.
 22. Hof KH, Wiseman SA, Yang CS, Tijburg LB. Plasma and lipoprotein levels of tea catechins following repeated tea consumption. *Experil Biolo Medi* 1999; 220; 203-209.
 23. Mcanlis GT, Mceneny J, Pearce J, Young IS. Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. *Eur J clin Nutr* 1998; 52(3)202-6.
 24. Freese R, Basu S, Hietanen E. Green tea extract decreases plasma malondialdehyde concentration but does not affect other indicators of oxidative stress, nitric oxide production, or hemostatic factors during a high-oleic acid diet in healthy females. *Eur J Nutr* 1999; 38:149-157.
 25. Michael J, Joseph T, David J, Beverly A. David R. Black tea consumption reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolemic adults. *J Nutr* 2003; 133: 3298s – 3302s.
 26. Susanne M, Yantao N, Nicolas H, Gail D, Rosario R. Bioavailability and antioxidant activity of flavanols after consumption of green tea, Black tea, or a green tea extract supplement. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1558-64.
 27. Michael E, Widlansky J, Duffy M, Hamburg N, Beverly A. Effects of black tea consumption on plasma catechins and markers of oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease. *Free Radic Biolo Med* 2005; 38: 499 – 506.
 28. Nakagawa K, Ninomiya M, Okubo T, Aoi N, Juneja LR. Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipids hydroperoxidation in plasma of humans. *J Agric Food. Chem* 1999; 47(10): 3967-73.
 29. Langley – Evans SC. Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *J Food SCI Nutr* 2000; 51(5):309-15.
 30. Leenen R, Roodenburg AJ, Tijburg LB, Wiseman SA. A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54(1): 87 – 92.
 31. Reiko O, Rie T, Yukihiko M, Hiroaki T, Atsushi Y, Seiichi T. Green tea consumption and serum malondialdehyde modified LDL concentration in healthy subjects. *J Am Coll Nutr* 2005; 24(5): 342 – 346.
 32. Tomonori N, Yumiko K, Satoko S, Shinichi M. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde modified LDL in men. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 122 – 9.
 33. Sikandar G, Khan K, Katiyar A, Hasan M. Enhancement of antioxidant and phase II enzymes by oral feeding of green tea polyphenols in drinking water to SKH – 1 hairless mice: possible role in cancer chemoprevention. *Cancer Resea* 1992; 52: 4050 – 4052.
 34. Sohn OS, Surace A, Fiala ES, Richie JP, Colosimo S. Effects of green and black tea on hepatic xenobiotic metabolising systems in the male F344 rat. *Xenobiotica* 1994; 24(2): 119 – 27.
 35. Durate J, Galisteo M, Ocete MA, Perez F, Zarzuelo A. Effects of chronic quercetin treatment on hepatic oxidative status of

- spontaneously hypertensive rats. *Mol Cell Biochem* 2001; 221(1-2): 155-60.
36. Skrzydlewska E, Ostrowska J, Farbiszewski R, Michalak K. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. *Phytomed* 2002; 9(3): 232 – 8.
37. Esma G, Tuna G, Zehra S, Mukaddes C. Chronic black tea administration protects plasma proteins, plasma, liver and kidney lipids against oxidation. *Med Sci Monit* 2006; 12(3): 102 – 105.
38. Mahaboob Khan S. Protective effect of black tea extract on the levels of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in liver of mice with pesticide-induced liver injury. *Cell Biochem Funct* 2006; 24: 327-332.
39. Kumaraguruparan R, Seshagiri PB, Hara Y, Nagini S. Chemoprevention of rat mammary carcinogenesis by black tea polyphenols: Modulation of xenobiotic-metabolising enzymes, oxidative stress, cell proliferation, apoptosis, and angiogenesis. *Mole Carci* 2007; 46: 797-806.
40. Asankur Sekhar D, Maitrayee M, Dolan D, Chandan M. Protective action of aqueous black tea (*Camellia sinensis*) extract (BTE) against ovariectomy-induced oxidative stress of mononuclear cells and its associated progression of bone loss. *Phytother Res* 2009; 10:1002-1009.
41. Zahir Raihan A K, Azad Chowdhury H, Rabbani M, Shawkat A, Lutfun D. Effect of aqueous extracts of black and green teas in arsenic-induced toxicity in rabbits. *Phytother Res* 2009; 10:1009-1014.
42. Balz F, Jane V. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr* 2003; 133: 3275s – 3284s.
43. Laishun C, Mao-Jung L, Chung S. Absorption, Distribution, and Elimination of tea polyphenols in rat. *Drug Metabol Dispo* 1997; 25(9): 1045-1050.
44. Swen W, Ying W, Frank T. Anti obesity effects of green tea: from bedside to bench. *Mol Nutr Food Rese* 2006; 50(2) : 176 – 187.

Archive of SID