مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد(13) العدد(4)–(2013)
ISSN-1813-1646

الدور الوقائي للحامض الاميني الثيانين L-theanine في تقليل الاجهاد التأكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين في الجرذان البيض البالغة

فراس فارس رجا اللهيبي ، زيد محمد مبارك المهداوي

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت . صلاح الدين ــ العراق .

الكلمات الدالة:
ثيانين ، اجهـــاد تأكســـدي ، جرذان

للمراسلة:
فراس فارس رجا اللهيبي
قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت

الاستلام :
23-4-2013
القبول:
20-5-2013

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية معرفة مدى تأثير الحامض الاميني الثيانين L-theanine في تقليل الإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين من خلال رفع تركيز بعض مضادات الاكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية وتقليل مستوى بيرو كسدة الدهون في مصل الجرذان البيض *Rattus norvegicus* بعمر 3-5 أشهر ، استخدم في هذه الدراسة 20 جرذاً من الجرذان البيض ، قسمت عشوائيا إلى خمسة مجاميع بواقع (4 جرذ / مجموعة) و كانت على التوالي ، المجموعة الأولى : أعطيت عليقه قياسية وماء مقطر (لغرض الشرب) وعدت مجموعة السيطرة . المجموعة الثانية : أعطيت عليقه قياسية و ماء مقطر(لغرض الشرب) يحتوي على بيرو كسيد الهيدروجين بتركيز 0.5 % يوميا لمدة 30 يوما . المجموعة الثالثة : أعطيت عليقه قياسية و ماء مقطر (لغرض الشرب) وجرعت بالثيانين تركيز 6 مغم /كغم وزن الجسم لمدة 30 يوما . المجموعة الرابعة : أعطيت عليقه قياسية و ماء مقطر (لغرض الشرب) يحتوي بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5 % وجرعت بالثيانين تركيز 6 مغم /كغم وزن الجسم لمدة 30 يوما ،و عوملت المجموعة الخامسة بنفس معاملة المجموعة الرابعة لكن استخدم الثيانين بتركيز 3 مغم / كغم .أظهرت نتائج المعاملة ببيرو كسيد الهيدروجين ارتفاع معنوي في فعالية أنزيم ناقل أمين الالنين ALT ، أنزيم ناقل أمين الاسبارتيت AST و أنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP و تركيز المالوندايلديهايد MDA و جذر البيروكسي $ONOO^-$في مصل الجرذان مقارنة مع مجموعة السيطرة ، و اظهرت انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثيون GSH و فعالية أنزيم السوبر اوكساید دسميوتيز SOD مقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين أوضحت نتائج الدراسة أن المعاملة بالحامض الاميني الثيانين أدت إلى انخفاض معنوي في فعالية أنزيمات ALT ،و AST و ALP وتركيز MDA و جذر $ONOO^-$ في مصل الجرذان المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين أدت المعاملة بالثيانين إلى ارتفاع في تركيز GSH و فعالية أنزيم SOD مقارنة مع مجموعة السيطرة ، مما يدلل على دور الحامض الاميني كأحد مضادات الاكسدة الجيدة .

The Protective Role of The Amino Acid L-theanine in Reducing Induced Oxidative Stress Mediated by Hydrogen Peroxide in Rats

Firas F. Rija AL-Lhabi and Zaid M. Mubark AL-Mahdawi
College of Science - Biology Department -University of Tikrit -Iraq

KeyWords:
Antioxidant , theanine

Correspondence:
Firas F. Rija AL-Lhabi
College of Science -Biology Department - University of Tikrit

Received:
23-4-2013
Accepted:
20-5-2013

Abstract

The current study included the knowledge of the effect of the amino acid L-theanine in reducing oxidative stress induced mediated by hydrogen peroxide by raising concentration levels of some antioxidants enzymatic and non-enzymatic reduce lipid peroxidation level in the sera of rats *Rattus norvegicus* in 3-5 months of age, This study used , 20 white rats, were randomly divided into five groups by (4 mice / group) and were, respectively, the first group: given a standard diet and distilled water (for drinking) and promised the control group. the second Group: given a standard diet and distilled water (for drinking) contains hydrogen peroxide concentration of 0.5% daily for 30 days. The third Group: given a standard diet and distilled water (for drinking) and theanine concentration of 6 mg / kg body weight for 30 days. The fourth Group: given a diet and distilled water (for drinking) contains hydrogen peroxide concentration of 0.5% and theanine concentration of 6 mg / kg body weight for 30 days, and treated fifth group the same manner as the fourth set but use theanine concentration of 3 mg / kg . Results of treatment by H_2O_2 showed a significant increase in the effectiveness of enzymes Aspartate aminotransferase (AST) ,Alanine aminotransferase (ALT) , Alkaline phosphatase (ALP), and Malondialdehyde(MDA) and Peroxynitrite radical($ONOO^-$) in the sera of rats compared with the control group, the results also showed the same treatment group reduced significantly in the concentration of glutathione GSH and the effectiveness of the enzyme superoxid dismutase SOD compared with the control group, while the result showed that the treatment acid amino theanine led to a significant decrease in the effectiveness of the enzymes ALT, AST and ALP and the concentration of MDA and the $ONOO^-$ in the sera of rats treatment compared with the control group, while the treatment with theanine led to a rise in the concentration of GSH and effectiveness of SOD enzyme compared with the control group, which demonstrates the role of theanine as good antioxidant

المقدمة

يعد الثيانين الحامض ألأميني الأوحد unique الموجود في نبات الشاي و المكون المسؤول عن المذاق المميز للشاي الأخضر ، لأنه لا يماثل العشرون حامضا الامينيا ألمعروفه و التي تصنف بصورة عامة إلى أساسية essential و غير الأساسية nonessential الموجودة في مختلف الأغذية البروتينية (Kakuda و اخرون ، 2000) . وينتج الثيانين في نبات الشاي الأخضر من جنس *Camella sinensis*. فقط ، بالإضافة إلى بعض الأنواع من الفطر mushroom ، *Xerocomus badius* ، و يوجد بهيئة حامض أميني حر free amino acid (غير بروتيني) و بصورة دائمية حيث يشكل حوالي 50% من العدد الكلي للاحماض الامينية الحرة الموجودة في الشاي الأخضر (Juneja و اخرون ، 1999) . اكتشاف الثيانين في أوراق الشاي الأخضر كان في عام 1949 , الذي يمتلك الصيغة الكيميائية γ-ethylamino -L-glutamic acid (Goto ; Graham, 1992 و اخرون ، 1996). وبسبب التركيب الكيميائي القريب الشبه بين الثيانين و الحامض الاميني الكلوتاميت Glutamate لذلك فهنالك إمكانية لتحويله في داخل الخلايا إلى الكلوتاميت و أن الأخير هو احد مكونات الكلوتاثيون الذي هو ببتيد مكون من ثلاثة أحماض أمينية وهي السستين Cysteine , كلوتاميت Glutamate والكلايسين Glycine (Gadothو Göbel ، 2011) .و الذي يمكن تكوينه في الجسم من الأحماض الأمينية (السستين والكلايسين والكلوتامين) وعملية تكوينه بشكل رئيس في الكبد و إن الخطوة الأولى في بناء الكالوتاثيون تعتمد على فعالية أنزيم Y-glutamylcysteinyl synthetase (Y-GCS) و هو أنزيم محدد ، ويعد تركيز الكلوتاميت كمادة أساس ضرورية لبناء الكلوتاثيون (Sadzuka و اخرون 2001 ; Sugiyama وSadzuka ، 2004) . الفعالية المضادة للأكسدة للثيانين قد درست في ما يختص بأكسدة LDL-cholesterol ، دراسة في الزجاج *in vitro* التي استخدمت Malondialdehyde (MDA) كمؤشر لبيروكسدة الدهون أثبتت تثبيط عملية بيروكسدة LDL-c بوجود الثيانين ، مع إن التأثير كان اضعف من التأثير الفعال المضاد للأكسدة لفينولات الشاي الأخضر (Yokozawaو Dong 1997) . مختلف الدراسات التي أجريت على الحيوانات قد أشارت إلى حقيقة إن الثيانين كذلك له تأثيرات مضادة للسرطان anti cancer (Sugiyama و اخرون ، 2000) من أمثلة تلك التأثيرات تتضمن زيادة الموت المبرمج apoptosis أو الانتحار الخلوي cellular suicide بوساطة الخلايا المتضررة ، منع التكاثر أو التضاعف الخلوي لخلايا السرطان و تحسين جهاز المناعة . فضلا عن ذلك وجد إن الثيانين يعمل بصورة متآزرة synergistically مع الإشعاع و العلاج الكيميائي لتقليل الآثار الجانبية غير المرغوب فيها بالإضافة إلى تحسين التأثير القاتل لعلاجات السرطان مثل doxorubicin (Sadzuka و اخرون ، 2001).

المواد و طرائق البحث

استخدمت في هذه الدراسة الجرذان البيض البالغة *(Rattus norvegicus)*التي تراوحت أعمارها بين (3-5) أشهر وأوزانها بين (150-350)غم والتي تم الحصول عليها من المركز الوطني للبحوث و الرقابة الدوائية / بغداد ,وضعت الحيوانات في أقفاص معدنية من الألمنيوم ذات أبعاد (40×40×60) سم ذات أرضية مفروشة بنشارة الخشب وقد روعي جانب العناية بنظافة الأقفاص وتعقيمها مع تبديل نشارة الخشب كل يومين.وقد خضعت الحيوانات لظروف مختبريه من دورة ضوئية انقسمت إلى 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام وثبتت درجة الحرارة على (25±2) درجة مئوية.تركت الحيوانات لمدة أسبوع للتأقلم مع الظروف الجديدة وللتأكد من خلوها من الأمراض ، وغذيت الحيوانات على العليقة المركزة و المحضرة وفقا للمتطلبات التغذوية و الفسلجية التي اقرها مجلس الأبحاث التغذوية الأمريكي وهي عبارة عن علف مركز مكون من الحنطة العلفية و الذرة الصفراء وفول الصويا و بروتين بسبة 10 % ، ثم قسمت الحيوانات عشوائيا إلى مجاميع .

بعد تأقلم الجرذان ، قسمت إلى خمسة مجاميع بصورة عشوائية ، بواقع 4 جرذان / مجموعة و وضعت بأقفاص منفصلة و عوملت على النحو التالي :

1- مجموعة السيطرة : تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقه قياسية مع ماء مقطر (لغرض الشرب) في قناني حجميه خاصة لمدة 30 يوما .

2- المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5 % : تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقه قياسية مع ماء مقطر (لغرض الشرب) مضافا إليه بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5 % في قناني حجميه خاصة لمدة 30 يوما .

3- المجموعة المعاملة بالثيانين تركيز 6 مغم / كغم وزن الجسم : تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقه قياسية مع ماء مقطر (لغرض الشرب) في قناني حجميه بالإضافة إلى تجريعها الثيانين وذلك عن طريق التغذية الأنبوبية يوميا لمدة 30 يوم .

4- المجموعة المعاملة بالثيانين تركيز 6 مغم / كغم وزن الجسم و بيروكسيد الهيدروجين 0.5 %: تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقه قياسية مع ماء مقطر (لغرض الشرب) في قناني حجميه مضافا إليه بيروكسيد الهيدروجين ، بالإضافة إلى تجريعها الثيانين وذلك عن طريق التغذية الأنبوبية يوميا لمدة 30 يوم .

5- المجموعة المعاملة بالثيانين تركيز 3 مغم / كغم وزن الجسم و بيروكسيد الهيدروجين 0.5 %: تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقه قياسية مع ماء مقطر (لغرض الشرب) في قناني حجميه مضافا إليه بيروكسيد الهيدروجين ، بالإضافة إلى تجريعها الثيانين وذلك عن طريق التغذية الأنبوبية يوميا لمدة 30 يوم .

جمع الدم و الحصول على المصل

بعد معاملة الجرذان و انتهاء الفترة المحددة للتجربة ، جمع 5 مل دم عن طريق الطعنة القلبية Cardiac puncture ، و وضع في أنابيب بلاستيكية محكمة جافة و خالية من أيه مادة مانعة للتخثر ، و تركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة لحين تخثر الدم . ثم أجريت لها عملية طرد مركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق لغرض الحصول على مصل الدم لإجراء الفحوصات المختلفة (Tietz, 1999) .

تقدير فعالية انزيمات الكبد

تم تقدير فعالية إنزيم ناقل أمين الالنين ALT و ناقل أمين الاسبارتيت AST بالاعتماد على طريقة (Tietz, 1999) باستخدام عدة التحليل الجاهزة (Kit) و المجهزة من شركة (BIOLABO) الفرنسية ، و تقدير فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP بالاعتماد على الطريقة اللونية باستخدام عدة التحليل الجاهزة (Kit) و المجهزة من شركة Bio Merieux الفرنسية .

تقدير تركيز بيروكسدة الدهون في مصل الدم

قدر تركيزالمالونداليديهايد MDA في المصل باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين (Guidetو Shah ، 1989).

تقدير تركيز جذر البيروكسي نتريت في مصل الدم

تم تقدير تركيز جذر بيروكسي نتريت Peroxynitrite radical باستخدام الطريقة المحورة للباحثين (Vanuffelen و اخرون 1998).

تقدير تركيز بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية و غير الإنزيمية

قدرت فعالية أنزيم السوبر اوكسايد دسميوتيز SOD (بوصفة من مضادات الأكسدة الأنزيمية) بالاعتماد عل طريقة قدرة أنزيم SOD على تثبيط أكسدة الابينفرين (1989, Fridovich)، كما قدر تركيز الكلوتاثيون GSH (بوصفة من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية) في المصل باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين (Sedlak و Lindsay 1968 Tietz, 1999).

التحليل الإحصائي

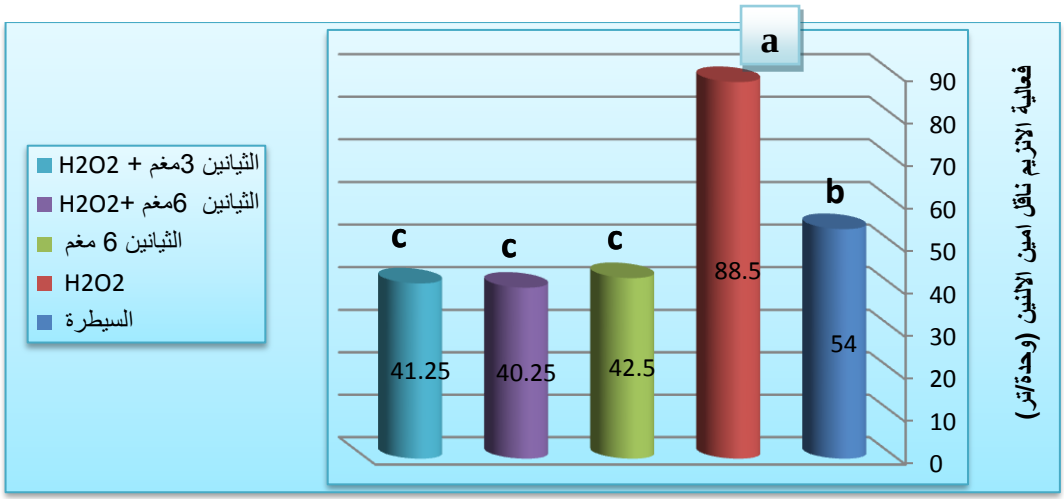
تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام برنامج (SAS,2001)ووفق تحليل التباين باتجاه واحد One-way analysis of varianceواختبرت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود Duncun multiple range بمستوى معنوية ($P<0.05$)لتحديد الاختلافات المعنوية Significantly differences الخاصة بين المجاميع (Duncan ، 1955) .

النتائج و المناقشة

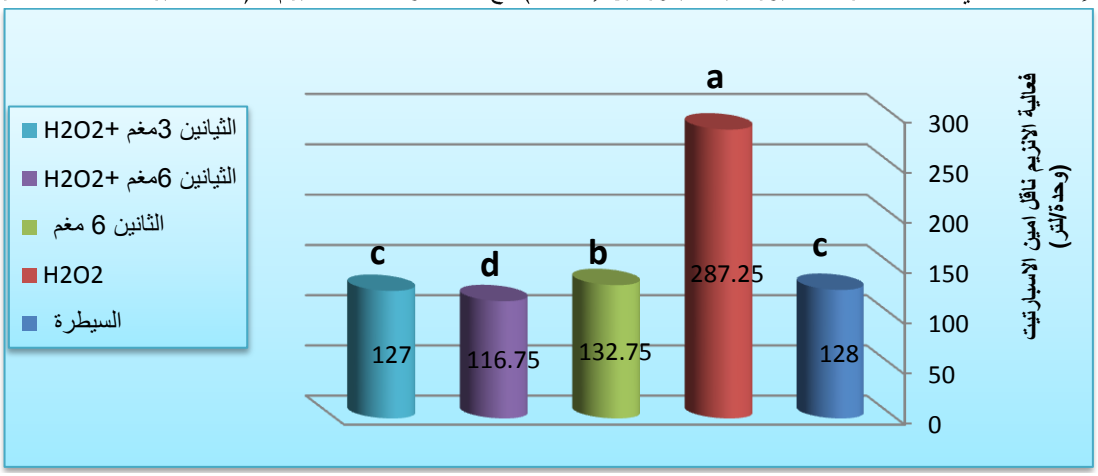
أظهرت النتائج ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية أنزيم ALT و AST الشكل (1) و (2) على التوالي في مجموعة الحيوانات المعرضة للإجهاد ألتأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين. وتتفق هذه النتيجة مع النتائج التي توصل إليها Fusheng و اخرون (2010) في الفئران المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين والتي سجلت زيادة معنوية في تركيز أنزيم ALT وAST مقارنة بمجموعة السيطرة. وقد يعزى سبب هذا الارتفاع إلى تحطم معظم أغلفة الخلايا الكبدية نتيجة الإجهاد التأكسدي الناتج عن بيروكسدة الدهون وزيادة مستوى الجذور الحرة الناتجة عن بيروكسيد الهيدروجين مما يؤدي إلى تسريب الأنزيمات الكبدية إلى مصل الدم (Dong و اخرون ، 2003).

كما تشير النتائج الى وجود انخفاض معنوي في فعالية انزيمات ALT و AST في الشكل (1) و (2) على التوالي في الجرذان المعاملة بالثيانين، حيث تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Li و اخرون (2011) الذين استخدموا الثيانين في تقليل الاجهاد التاكسدي المستحث بوساطة الايثانول في الزجاج , و الذي ساهم في خفض فعالية الانزيمان ALT وASTوالذين اقترحو ان الثيانين يقوم بمنع اهم المسالك المؤدية الى الموت المبرمج للخلايا الكبدية ، مثل تثبيط شطر pro-caspases-3 و PARP و فقدان جهد غشاء المتقدرات و تحرر السايتوكروم C من المايتكوندريا .

كما ان الثيانين يقلل من ضرر اصناف الاوكسجين الفعالة ROS والتي تتسبب في تعجيل الموت المبرمج للخلايا الكبدية (Kurose و اخرون ، 1997) او من خلال دور الثيانين في التقليل من عملية بيروكسد الدهون و انتاج MDA وكذلك من خلال رفع تركيز مضادات الاكسدة الانزيمية مثل (SOD)سوبر اوكسايد دسميوتيز وغير الانزيمية الكلوتاثيون GSH (Sun ، 1990) .

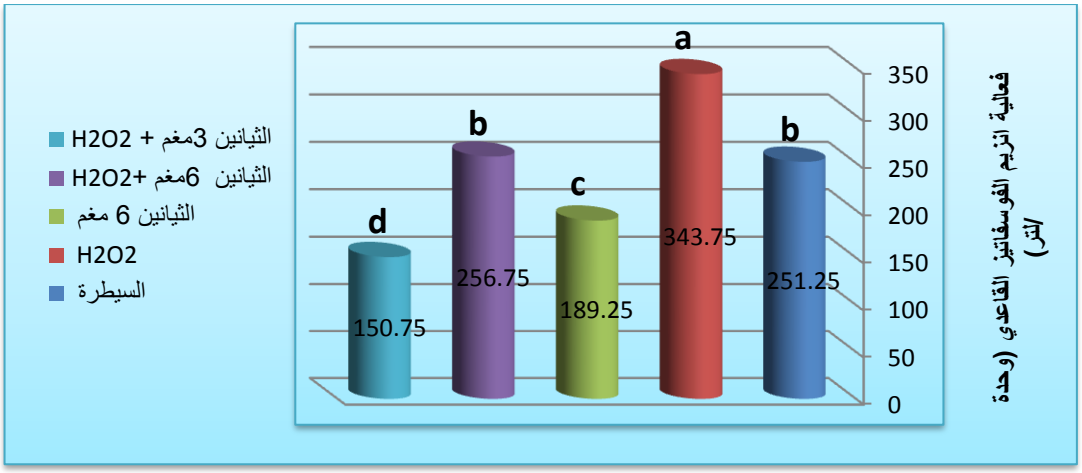


الشكل (1) :تأثير المعاملة بالثيانين تركيز (3 و6 مغم /كغم وزن الجسم) في فعالية إنزيم ناقل أمين الالنين في امصال الجرذان المعرضة للإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة 30 يوم . (عدد الحيوانات 4 لكل مجموعة) .



الشكل (2) :تأثير المعاملة بالثيانين تركيز (3 و6 مغم /كغم وزن الجسم) في فعالية إنزيم ناقل أمين الاسبارتيت في امصال الجرذان المعرضة للإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة 30 يوم . (عدد الحيوانات 4 لكل مجموعة) .

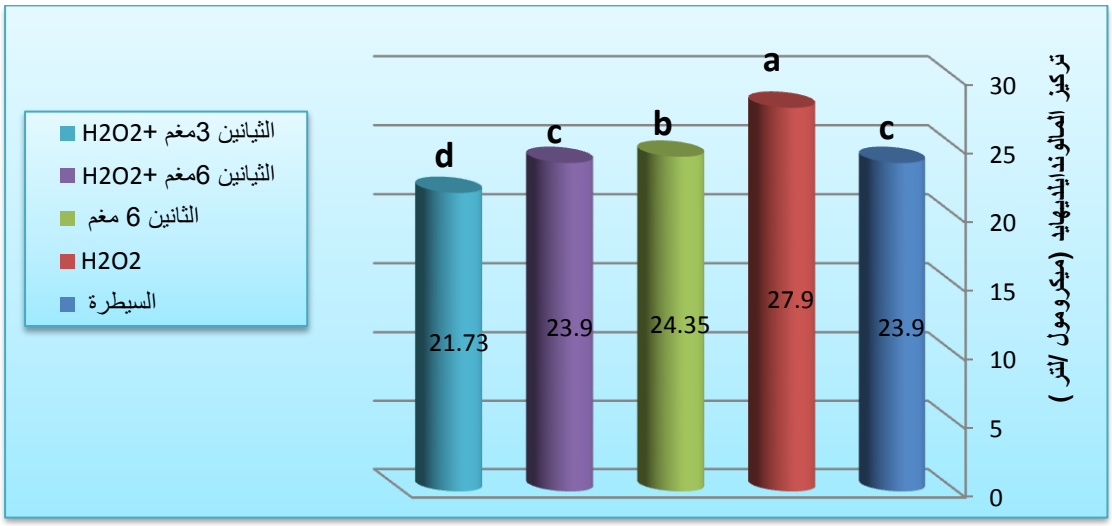
تشير النتائج الشكل (3) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في مجموعة الحيوانات المعرضة الى الاجهاد التاكسدي ببيروكسيد الهيدروجين فقط مقارنة مع السيطرة السليمة وجات هذه النتيجة متوافقة مع دراسة الدوري (2012) في ذكور الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين والتي سجلت زيادة معنوية في تركيز ALP مقارنة بمجموعة السيطرة ويعزى هذا الارتفاع في فعالية انزيم ALP ، والتغير في نسبته بما يسببه بيروكسيد الهيدروجين من إجهاد تأكسدي يؤدي إلى تغيرات تركيبية ووظيفية ضارة في الخلية الكبدية وإلى تأثر نفوذية الغشاء وحدوث خلل أو تعطيل في نقل المتأيضات , وان تلف خلايا الكبد ينتج عنه اطلاق هذا الإنزيم منها إلى مجرى الدم ومن المعروف إنّ هذا الإنزيم يوجد أساسا مرتبطا بالغشاء البلازمي لخلايا الكبد (Ray و اخرون ، 2001 ; Lee و اخرون ، 2006) .او قد يعود الى الضرر التاكسدي المستحث بالبيروكسيد على العظام حيث يفرز القدر الاكبر من هذا الانزيم من قبلهما ويعد الانزيم مؤشر للضرر الحاصل فيهما (AL-Hamadani ، 2010)



الشكل (3) :تأثير المعاملة بالثيانين تركيز (3 و6 مغم /كغم وزن الجسم) في فعالية إنزيم ناقل أمين الاسبارتيت في امصال الجرذان المعرضة للإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة 30 يوم . (عدد الحيوانات 4 لكل مجموعة) .

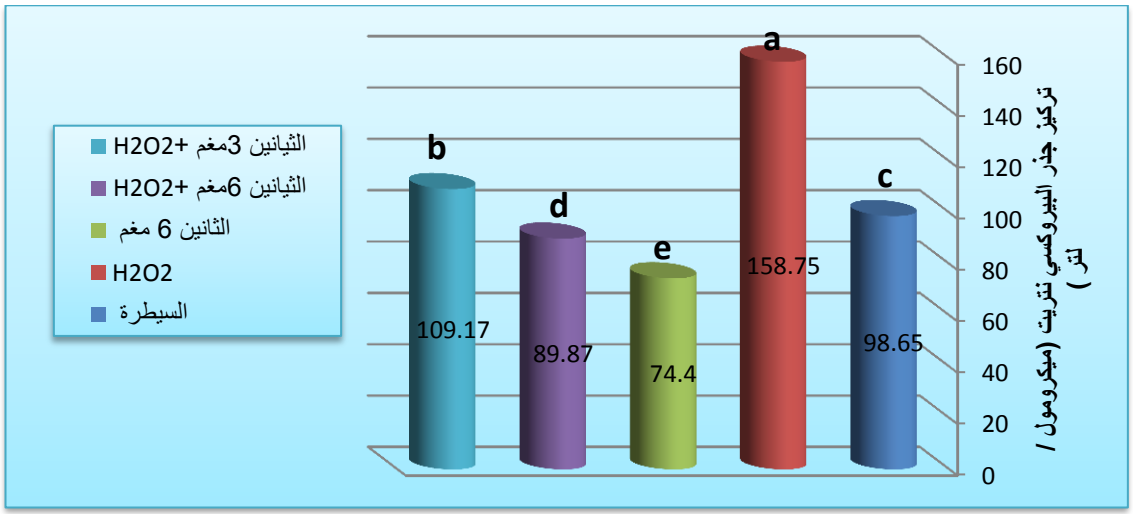
كما نلاحظ وجود انخفاض معنوي في فعالية انزيم ALP في المجاميع المعاملة بالثيانين الشكل (3) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة . وقد يعود هذا الانخفاض الى دور الثيانين في رفع مستوى مضادات الاكسدة مما يؤدي الى تقليل الضرر التاكسدي الناتج عن بيروكسيد الهايدروجين.

وتبين النتائج حدوث ارتفاع معنوي في تركيز MDA في مجموعة الحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين الشكل (4) وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل إليه عبد الوهاب (2010), وبالإمكان اعتبار السبب الرئيس لارتفاع تركيز المالونداليديهايد MDA في هذه الحالة هو أن المعاملة بـــH_2O_2 تؤدي إلى زيادة تكوين الجذور الحرة التي تهاجم الدهون ومركباتها في الجسم وخاصة في الأغشية الخلوية وتعمل على أكسدتها وتلفها وبالتالي بيروكسيدة الدهون والتي تؤدي إلى تكوين سلسلة من النواتج الخطرة أهمها MDA (Atalay و EL-Aaksonen ، 2002) .



الشكل (4) :تأثير المعاملة بالثيانين تركيز (3 و6 مغم /كغم وزن الجسم) في تركيز الملونداليديهايد MDA في امصال الجرذان المعرضة للإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة 30 يوم . (عدد الحيوانات 4 لكل مجموعة) .

الشكل (4) يظهر دور الثيانين من خلال تنشيطه للانزيمات المضادة للاكسدة داخلية المنشا ومن اهمها انزيم الكاتاليز وسوبر اوكساید دسميوتيز وكلوتاثيون بيروكسيديز والتي تعمل جميعها على تثبيط أكسدة وبيركسدة الدهون وتمنع انتاج MDA وبالتالي تخفض تركيزه في أمصال دم حيوانات هذه المجاميع (Jemai و اخرون ، 2007 ; Cicerale و اخرون ، 2010) و تتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه Li و اخرون (2011) .



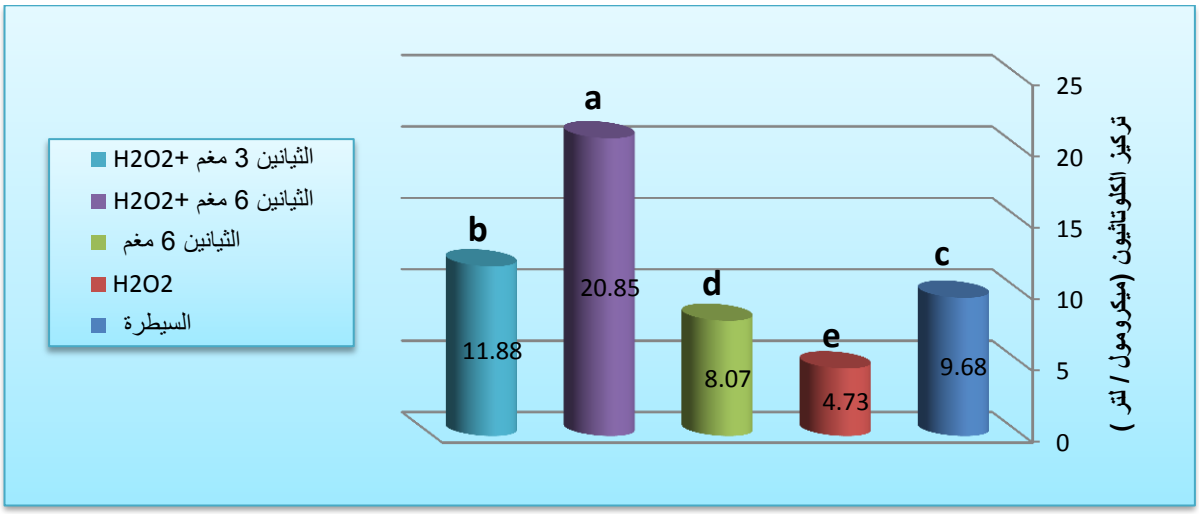
الشكل (5) :تأثير المعاملة بالثيانين تركيز (3 و6 مغم /كغم وزن الجسم) في تركيز جذر البيروكسي نتريت في امصال الجرذان المعرضة للإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة 30 يوم . (عدد الحيوانات 4 لكل مجموعة) .

ويمكن تفسير سبب الارتفاع المعنوي الشكل (5) في تركيز جذر البيروكسي نتريت في مصل الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين إلى أن المعاملة بـــH_2O_2 تؤدي إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة وخاصة جذر السوبرأوكساید السالب($O_2^{\cdot-}$) بشكل مباشر والذي يتفاعل بدوره مع أوكسيد النتريك (NO) لينتج جذر($ONOO^-$) (Ceriello و اخرون ، 2001 ; Dukic ، 2003 ; Ferdinandy ، 2006).

اما الانخفاض الملاحظ في تركيز جذر $ONOO^-$ في المجاميع المعاملة بالثيانين قد يعزى الى دوره في تقليل تركيز جذر البيروكسي نتريت عن طريق الإزالة غير المباشرة لـــ($ONOO^{\cdot}$) من خلال تحفيز الإنزيمات المضادة للأكسدة ورفع تراكيزها في داخل الجسم وخاصة إنزيمي الكتاليز وسوبرأوكساید دسميوتيز(SOD)، إذ يعمل إنزيم(SOD) بالتنافس (Competition) مع أوكسيد النتريك(NO) على الارتباط بجذر السوبرأوكساید السالب($O_2^{\cdot-}$) وينتج عن هذا التفاعل بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 الذي يتم إزالته بوساطة إنزيم الكتاليز Szabo (و اخرون ، 2007 ; Jemai و اخرون ، 2007) .

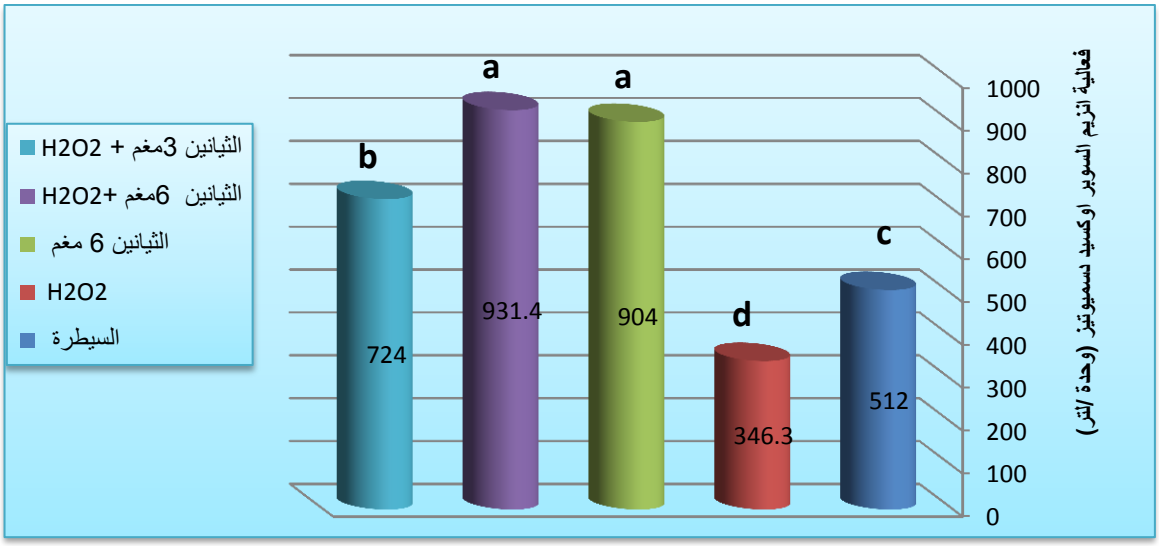
و نلاحظ من الشكل (6) حدوث انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثايون في مجموعة الحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي الناتج بسبب بيروكسيد الهيدروجين مقارنة بالسيطرة وهذه النتيجة متوافقة مع نتائج عبد الوهاب (2010), ويمكن أن يعزى سبب هذا الانخفاض في تركيز GSH في مصل الدم إلى أنه عند حدوث الإجهاد التأكسدي يدخل(30 %) من الكلوكوز مسار أيض الـــ Polyol والذي يعمل على استهلاك (NADPH) الناتج من مسار السكر الخماسي المفسفر(Pentose phosphate pathway) ويستهلك (NADPH) كعامل مساعد Co-Factor لإنزيمAldose reductase ليختزل الكلوكوز إلى سوربيتول Sorbitol وهذه العملية تؤدي إلى فقدان (NADPH) والذي يعد عاملا مساعدا ضروريا لإعادة بناء الكلوتاثايون المختزل GSH من الشكل غير الفعال(المؤكسد) للكلوتاثايون GSSG عن طريق تحفيزه لإنزيم كلوتاثايون ريدكتيز Devasagayam و اخرون ، 2004 ; Krishnamoorhy و اخرون ، 2007) .

الارتفاع في تركيز الكلوتاثيون في مجاميع الحيوانات المعاملة بالثيانين الشكل (6) يعود الى امكانية تحويله في داخل الخلايا الى الكلوتاميت Glutamate و ان الاخير هو احد مكونات الكلوتاثيون الذي هو ببتيد مكون من ثلاثة أحماض أمينية وهي السستين Cysteine , كلوتاميت Glutamat والكلايسين Glycine (Gadoth و Göbel، 2011) .و الذي يمكن تكوينه في الجسم من الأحماض الأمينية (السستين والكلايسين والكلوتامين) وعملية تكوينه بشكل رئيس في الكبد و ان الخطوة الاولى في بناء الكالوتاثيون تعتمد على فعالية انزيم Y-glutamylcysteinyl synthetase (Y-GCS) و هو انزيم محدد ، ويعد تركيز الكلوتاميت كمادة اساس ضرورية لبناء الكلوتاثيون (Sadzuka و اخرون 2001 ; Sugiyama و Sadzuka ، 2004) وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل أليه Li و اخرون 2011 .



الشكل (6) :تأثير المعاملة بالثيانين تركيز (3 و6 مغم /كغم وزن الجسم) في تركيز الكلوتاثيون GSH في امصال الجرذان المعرضة للإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة 30 يوم . (عدد الحيوانات 4 لكل مجموعة) .

تشير النتائج الى وجود انخفاض معنوي في فعالية انزيم SOD في مجموعة البيروكسيد مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة . واتفقت هذه النتيجة مع نتائج جانكير(2011) إذ لاحظت حدوث انخفاض معنوي في فعالية انزيمSOD في ذكور الجرذان المعاملة بالرصاص ويعزى السبب إلى ارتفاع تركيز جذر السوبر اوكساید وبيروكسيد الهيدروجين الذي يؤدي إلى إنتاج أنواع أخرى من الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل($OH^{\cdot}$)، ومن ثم ارتفاع مستوى التأكسد وأكسدة الدهن والبروتينات والـــDNA، فضلا عن انخفاض مستوى الكلوتاثيون المختزلGSHفي بلازما الدم الذي هو السبب الرئيس في انخفاض فعاليةSODبوساطة التراكيز المتراكمة منH_2O_2، وأن H_2O_2 يعد من أخطر أصناف الأوكسجين الفعالة الذي لا يحتوي على الجذور وله القدرة على تحطيم الجزيئات الحيوية وإحداث الضرر مما سبب أذى وضرر لأنزيم سوبر أوكساید دسميوتيز من خلال استنزاف المواد الأولية الداخلة في بناء الإنزيم وبالتالي انخفاض فعاليته (Wenqing, 2001).



الشكل (7) :تأثير المعاملة بالثيانين تركيز (3 و6 مغم /كغم وزن الجسم) في فعالية انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز SOD في امصال الجرذان المعرضة للإجهاد التاكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة 30 يوم . (عدد الحيوانات 4 لكل مجموعة) .

وكما يشير الشكل (7) الى ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في فعالية انزيم SOD في المجاميع المعاملة بالثيانين و تتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه Li و جماعته (2011) و ان هذا الارتفاع ربما يكون من خلال دور الثيانين ومساهمته في تركيب الكلوتاثيون

فبذلك يلعب دوراً كبيراً في المحافظة على الخلية من الأذى التأكسدي إذ يقوم الكلوتاثيون مع وجود إنزيم (Gpx) باختزال (H_2O_2) إلى ماء باستمرار مع أكسدة الكلوتاثايون المختزل وتحويله إلى الشكل المؤكسد (Marinو Garcia ، 2008).وبذلك يساهم الثيانين في رفع مستوى مضادات الاكسدة الانزيمية وتشمل الأنزيمات مثل السوبر اوكسايد ديسميوتيز superoxide dismutase (SOD) وكاتاليز (CAT) catalase و كلوتاثيون بيروكسيديز Glutathion (GSH-px) peroxidase و كلوتاثيون ريدكتيز Glutathion (GSH-rd) reductase، وهذه الأنزيمات يكون تأثيرها على إزالة سمية الجذور الحرة وإرجاعها إلى مستواها الطبيعي بشكل مباشر أو غير مباشر من خلال سيطرتها على مستويات بعض الأيونات مثل الحديد والنحاس (Halliwell, 1995).

المصادر

جانكير ، منى حسين(2011). تأثير الرصاص على بعض مضادات الأكسدة وبيروكسدة الدهن في دم ذكور الجرذان البيض. مجلة علوم الرافدين–الموصل ، المجلد (23)، العدد (2): 55–69.

الدوري ، سرى سمير محمد (2012) . دراسة تاثير المستخلص المائي لنبات اللهانة على مستويات هرمونات الغدة الدرقية ، الاجهاد التاكسدي و عدد من المعايير البايولوجية في الارانب . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة تكريت .

عبد الوهاب, وجدان إبراهيم عباس (2010). تأثير زيت الزيتون في عدد من المعايير الفسلجية والكيموحيوية في الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي والمعرضة للكرب التأكسدي.رسالة ماجستير, كلية العلوم, جامعة تكريت.

Atalay,M. and El-Aaksonen,D.(2002).Diabetes oxidative stress and physical exercise. J. of Spo Sci and Med; 1: 1-14.

Al-Hamadani, I.H. (2010). "Alternations of Serum Calcium, Phosphorus and Alkaline Phosphatase in Postmenopausal Women". Tikrit J. ofPharmaceutical Sciences, University of Tirkrit-College of Pharmacy. Vol. (6), No (1), ISSN 1817-2716.

Ceriello, A.; Mcrcuri, F.; Quagliar, L.; Assaloni, R.; Motz, E.; Tonutti, L. and Taboga,C. (2001). Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. Diabetologia; 44(7): 834-838.

Cicerale, S.; Lucas, L. and Keast, R. (2010). Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. Deakin University, Int.J.Mol.Sci; 11: 458-479.

Devasagayam, T.B. A.; Tilak,J.C.; Boloor,K. K.; Sane,K. S.;Ghaskadbi,S. S. and Lele,R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future frospects. Bhabha Atomic Research Centre,Mumbai. JAPI; 52: 794-804.

Dong,G.N.; Wang,X.J.; Tang, L.i. and Xiong, Z. y.(2003)."effect of DTT on endurance,free radical in liver tissues and activity of serum GPT in trained mice".J shaanxi Normal university (Natural science Edition),31: 63-66.

Dukic,N.M.(2003).Antioxidants in health and diseases. Atherosclerosis; 15(2): 423-477.

Duncan, D. B. (1955). Multiple range and F-test . Biomertic;11: 42.

Ferdinandy,P. (2006). Peroxynitrite: just an oxidative/nitrosative stressor or a physiological regulator as well. Br J Pharmacol; 148: 1-3.

Fridovich, I.(1989). Superoxide dismutases: an adaption to a paramagnetic gas. J, Biol. Chem. 264:7761– 7764.

Fusheng, Miao ; Wengian, Ya; Yaoguang, wang; Meijuan, wang ; xiangyan, Liu. and Fenglin, Li . (2010)."effect of corn peptides on exercise tolerance, free radical metabolism in liver and serum glutamic-pyruvic transaminase avtivity of mice ".African journal of pharmacy and pharmacology,vol:4 (4),:178-183.

Gadoth, N. and Göbel,H.(2011).Oxidative stress and free Radical Damage in Neurology. Oxidative stress in Applied Basic research and clinical practice .Humana Press.pp:323.

Goto, T.; Yoshida, Y.; Kiso, M. and Nagashima, H., (1996).Simultaneous analysis of 549 individual catechins and caffeine in green tea. J. Chromatogr. A 749, 295–299.

Graham, H.N. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol 551chemistry.Prev.Med.21,334–350.

Guidet, B. and shah, S. V. (1989). Am J. Physiol; 257(26):440. cited by Muslih,R. K., Al-Nimer,M. S and Al-Zamely,O. Y. (2002) . The level of Malondialdehyde after activation with H_2O_2 and $CuSO_4$ and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute Myocardial infarction. National J. of chemistry; 5: 139-148.

Halliwel, B.(1995).Antioxidant characterzation : methodology and mechanism" . Biochem. Pharmacol., 49:1341-1348.

microsomal cytochrom 450El-dependant aniline hydroxylation. Mol. Cell Biochem; 218:27-33.

Sadzuka Y.; Sugiyama T.; Suzuki T. and Sonobe T.(2001).Enhancement of the activity of doxorubicin by inhibition of glutamate transporter. Toxicol Lett ;123:159-167.

Sedlak,J. and Lindsay,R. H. (1968). Analytical biochemistry. pp: 192. Cited by Al-Zamyle(2001).

Sugiyama ,T.; Sadzuka ,Y. and Nagasawa, R. (2000) .Liver injury preventive effect of tea theanine In rats . Journal of food sciences , 65:30-33.

Sugiyama, T. and Sadzuka ,Y. (2004). Theanine, a specific glutamate derivative in green tea, reduces the adverse reactions of doxorubicin by changing the glutathione level. Cancer Lett;212:177-184.

Sun, Y. (1990). Free-radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. Free Rad. Biol. 635Med. 8, 583–599.

Szabo, C. ; Ischiropoulos, H. and Radi, R. (2007). Peroxynitrite: bioch-emistry, pathophysiology and development of therapeutic, Nature Publishing Group. Drug Discovery; 6: 662-680.

Tietz,N. W. (1999). Textbook of clinical chemistry. 3rded. C.A.Burtis. E.R. Ashwood, W.B.Saunders. pp: 819-861,1245-1250.

Vanuffelen, B. E.; VanDerzec, J. and Dekoster, B. M.(1998).Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidants status in the Serum of patients with acute myocardial infraction national. Biochem. J; 330.719. (Cited by Al-Zamely et al.,: 2001).

Wenqing,S. (2001).Reactive oxygen species and Breast Cancer carcinogenesis . Free radicals and radiation Biol. Program.Unive.oflowa. Free Radical in Biol.and Med.77:222.

Yokozawa, T. and Dong, E. (1997). Influence of green tea and its three major components upon lowdensity lipoprotein oxidation. Exp Toxicol Pathol;49:329-335.

Jemai,H.; Fki,I.; Bouaziz,M.; Bouallagui,Z.; EL-Feki,A.; Isoda,H. and Sayadi,S. (2007). Lipid lowering and antioxidant effects of hydroxytyrosol and its triacetylated derivative recovered from olive tree leaves in cholesterol-fed rats. J.Agric.Food Chem; 74: 440 452.

Juneja, LR.; Chu, D-C. and Okubo, T. (1999). L-theanine a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans. Trends Food Sci. Tech; 10:199-204 .

Kakuda, T.; Nozawa, A. and Unno ,T.(2000). Inhibiting effects of theanine on caffeine stimulation evaluated by EEG in the rat. Biosci Biotechno Biochem 2000; 64:287-293 .

Krishnamoorthy, P. ;Vaithinathan, S. ;Vimal,A. and Bhuvaneswari, A. (2007). Effect of *Terminalia chebula* fruit extract on lipid peroxidation and anti-oxidative system of testis of albino rats. African J. of Biot; 6: 1888-1891.

Kurose, I.; Higuchi, H.; Miura, S.; Saito, H.; Watanabe, N.; Hokari, R.; Hirokawa, M.; Takaishi, M.; Zeki, S.; Nakamura, T.; Ebinuma, H.; Kato, S. and Ishii, H., (1997).581 Oxidative stress-mediated apoptosis of hepatocytes exposed to acute ethanol582 intoxication. Hepatology 25, 368–378.

Lee, D.; Lim, B.-S.; Lee, Y.K.; and Yang, H.-C.(2006). Effects of hydrogen peroxide (H2O2) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines. Cell Biology and Toxocology. Volume 22,Number 1; pp.39-46(8).

Li , G. ; Ye , Y. ; Kang , J. ;Yao, X. ; Zhang , Y. ; Jiang , W. ; Gao, M. ; Dai , Y.; Xin , Y. ; Wang , Q. ; Yin , Z. and Luo, L. (2011) . L-theanine prevents alcoholic liver injury through enhancing the antioxidant capability of hepatocytes . Food and Chemical Toxicology .

Marin, D. and Garcia, P.(2008).New Research on Antioxidants.NOVA Bio medical Books,New York. P:300.

Ray, SD.; Parikh,H.; Hickey,E.; Bagchi,M.; and Bagchi, D.(2001).Differential effects of IH636 grape seed proanthocyanidin extract and DNA repair modulator 4-aminobenzamide on liver