

## تأثير مستخلص الشاي الأخضر في بعض وظائف الكبد ومستوى الكلوتاثيون بيروكسيديز

وعنصر المغنيسيوم في الفئران *Mus Musculus*

رشيد محمد رشيد\*، حسين فاضل حسن\*\* ومریم جمال حمید\*

\*كلية العلوم/ جامعة الأنبار

\*\*كلية العلوم/ جامعة كركوك

## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى التحري عن تأثير المستخلص الكحولي لنبات الشاي الأخضر *Camellia sinensis* في بعض الجوانب الفسلجية في الفئران التجريبية *Mus musculus* تم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع لكلية العلوم/ جامعة كركوك. استخدمت في التجربة 50 فأراً ذكراً بمعدل عمر يتراوح ما بين 8-12 أسبوعاً وبمعدل وزن 20-25 غم. قسمت الحيوانات إلى خمسة مجاميع بواقع 10 حيوانات لكل مجموعة، اعتبرت المجموعة الأولى مجموعة السيطرة وأعطيت الماء المقطر وجرعت المجموعة الثانية 100 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم وجرعت المجموعة الثالثة 250 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم بينما جرعت المجموعة الرابعة 500 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم وأخيراً المجموعة الخامسة تم تجريعها 1000 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم، قتلت الحيوانات بعد انتهاء المدة المقررة 16 يوم وأخذت العينات المطلوبة لأجراء الاختبارات اللازمة وتم قياس مستوى أنزيمات الكبد AST، ALT بالمصل ومستوى أنزيم الكلوتاثيون بيروكسيديز GPX ومستوى عنصر المغنيسيوم Mg بالمصل. أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي عند مستوى احتمال ( $P < 0.05$ ) في أنزيمات ALT، AST مع زيادة تركيز المستخلص ووجد ارتفاع معنوي في مستوى الأنزيم المضاد الأكسدة GPX ومستوى عنصر المغنيسيوم Mg تزامناً مع ارتفاع تركيز المستخلص. نستنتج من ذلك أن الشاي الأخضر ليس له أي دور سمي على الكبد ويعتبر مضاد أكسدة قوي بسبب تأثيره في ارتفاع مستوى GPX وزيادة تركيز المغنيسيوم الذي له دور في المحافظة على مستوى مضادات الأكسدة في الجسم.

الكلمات المفتاحية: مستخلص الشاي الأخضر، وظائف الكبد، مستوى الكلوتاثيون بيروكسيديز، المغنيسيوم، الفئران *Mus Musculus*.  
e-mail: maryam\_jamal60@yahoo.com

### The effect of green tea extract in some liver functions, glutathione peroxidase and magnesium level in *Mus Musculus*

R. M. Rasheed\*, H. F. Hassan\*\* and M. J. Hameed\*

\*College of Science/ University of Anbar

\*\*College of Science/ University of Kirkuk

## Abstract

The current study aimed an investigating the potential effect of the alcoholic extract of green tea *Camellia sinensis* in some physiological aspects in experimental mice *Mus musculus*, obtained from the animal house of the Faculty of Science/ University of Kirkuk in. The experiment used 50 male mice with an average age of 8-12 Week and at a weight of 25-20 gm. The animals were divided into five groups of 10 animals per group. The first group considered the control group, the distilled water was harvested, the second group had given 100 mg of the extract/g from body weight as well as the third group 250 mg of the extract. While the fourth group 500 mg of the extract have been dosed/g from body weight and finally the fifth group had 1000 mg dosage of the extract/ g from body weight, animals killed after the end of the prescribed period 16 days, the samples are taken to make required and necessary tests. The level of serum

enzymes ALT, AST, serum glutathione peroxidase (GPX) and serum magnesium (Mg) were measured. The results showed a significant decrease in the level of P <0.05 in enzymes ALT, AST with increased concentration of the extract and elevated level of antioxidant enzyme GPX and Mg level significantly coincided with the high concentration of the extract. We conclude that green tea does not play any toxicity role on the liver and is a strong antioxidant because of its effect to increase the level of GPX enzyme and elevated the concentration of magnesium, which has the role of maintaining the level of antioxidants in the body.

Key words: green tea extract, liver functions, glutathione peroxidase, magnesium, *Mus Musculus*.

### المقدمة

يعد الشاي الأخضر من النباتات الطبية الذي يعود تأريخه إلى أكثر من 4000 سنة وحتى يومنا الحاضر يعتبر سلعه شعبية فاخرة يستخدم من قبل السكان لمذاقه ورائحته وفوائده الطبية (1). وهو مصدر غني بالفينولات المتعددة Polyphenols وخصوصا الفلافونويدات Flavonoids وتعد الكاتشينات Catechins أحد الفلافونيدات الفعالة في النبات تشكل حوالي (30-42)% من الوزن الجاف للشاي الأخضر حيث تحتوي الأوراق أربعة أنواع رئيسية من Catechins وهي EGC (Epigallocatechin) و ECG (Epicatechingallate) و EC (Epicatechin) و EGCG (Epigallocatechingallate) كما ويحتوي هذا النبات على بروتينات تشكل (15-20)% من وزنه الجاف، وتشكل الأحماض الأمينية نسبة (1-4)% مثل Lysine, Valin, Tyrosin, Serine, Glycin, Tryptophan, Glutamic acid فيما تشكل المعادن حوالي 5% من الوزن الجاف منها  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Mn^{+4}$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Na^{+1}$ ,  $P^{+5}$ ,  $Al^{+3}$  وغيرها من المعادن إضافة إلى الفيتامينات والزيوت (2، 3). تعد الكاتشينات catechins من مضادات الأكسدة القوية powerful antioxidants بسبب قدرتها على التصدي لجذور الأوكسجين الحرة (4) وأيضاً قدرتها على منع الأيونات المعدنية من المشاركة في تفاعلات الأكسدة وتقلل من أضرارها على الغشاء الدهني والبروتينات والأحماض النووية في الخلايا (5)، كما تخفض من نسبة المألوندهيد (Malondialdehyde) الذي يعتبر مؤشر للإجهاد التأكسدي في الجردان (6)، ويعود اللون الأخضر للشاي إلى تثبيط البولي فينول أوكسيديز من خلال معالجة أوراق الشاي الطازجة بواسطة البخار كما أن الأصباغ الموجودة في الشاي الأخضر هي بشكل أولي خضراء من الكلورفيل وبعضها احمر واصفر مشتقة من الانثوسيانين (Anthocyanins) وفلافونيدات. يقلل الشاي الأخضر من احتمالية الإصابة بالسرطان لكونه يمتلك فعالية مضادة للتطفر وهو مضاد جيد للسموم ويقي الجسم من تأثير التعرض للأشعة فوق البنفسجية (7، 8). كما أن له دور مهم في اختزال تركيز الكولستيرول الكلي في المصل ويقلل من مستوى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكولستيرول LDL-C في الأشخاص المصابين بأمراض القلب (9). كما يقلل من الإجهاد التأكسدي الذي يتعرض له مرضى المصابون بالأمراض القلبية مثل مرض الشرايين التاجية coronary artery disease الذبحة القلبية Angina pectoris أو أمراض وعائية مثل تصلب الشرايين Atherosclerosis. ووجد أن تناول مستخلص الشاي الأخضر يزيد من تركيز HDL-C ويخفض مستوى الدهون الثلاثية (10، 11).

### المواد وطرائق العمل

- الحيوانات المستعملة: جريت فئران مختبرية *Mus Musculus* تم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع لكلية العلوم/ جامعة كركوك. استخدمت في التجربة 50 فأراً ذكورياً بمعدل عمر يتراوح ما بين 8-12 أسبوعاً وبمعدل وزن 20-25 غم. وقد تم تربية الفئران في أقفاص خاصة معدة لهذا الغرض ذات أرضية مفروشة

- بنشارة الخشب. خضعت الحيوانات طوال فترة الدراسة لظروف مختبرية موحدة من حيث التهوية ودرجة الحرارة ( $1\pm 28$ ) ولفترة تمهيدية مدة 4 أيام لغرض التأقلم قبل البدء بالتجربة، وتمت تغذيتها باستعمال عليقة قياسية وبالمستخلص الخاص بالتجربة.
- **جمع وتحضير أوراق نبات الشاي الأخضر:** تم الحصول على أوراق نبات الشاي الأخضر المجففة من تركيا وحفظت الأوراق الجافة في علبة محكمة الغلق في ظروف خالية من الرطوبة وبعدها تم طحن الأوراق باستعمال مطحنة كهربائية لغرض الحصول على مسحوق أوراق النبات الذي تم استخدامه للحصول على المستخلص الكحولي.
  - **تحضير المستخلص الأيثانولي للنبات:** تم تحضير المستخلص كما ورد في (12).
  - **تحضير جرع المستخلص:** حضرت أربع جرع من المستخلص الكحولي لنبات الشاي الأخضر (100، 250، 500، 1000) ملغم حيث تم وزن الراسب بعد تجفيف المستخلص ثم إذابة وزن الراسب في 100 مل ماء مقطر وتجريره للفئران فمويا orally باستخدام حقنة خاصة معدة لهذا الغرض يوميا وبأوقات مختلفة ولمدة 16 يوم.
  - **تقسيم حيوانات التجربة:** تم تقسيم الحيوانات إلى خمسة مجاميع حيث تضمنت كل مجموعة 10 حيوانات ورتبت كما يأتي: المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة control) تم تجريعها الماء المقطر فقط، المجموعة الثانية: تم تجريعها (100 ملغم) من المستخلص/ غم من وزن الجسم. المجموعة الثالثة: تم تجريعها (250 ملغم) من المستخلص/ غم من وزن الجسم. المجموعة الرابعة: تم تجريعها (500 ملغم) من المستخلص/ غم من وزن الجسم. المجموعة الخامسة: تم تجريعها (1000 ملغم) من المستخلص/ غم من وزن الجسم. بعد فترة المعاملة لمدة 16 يوماً، جوعت الحيوانات لمدة 24 ساعة ثم خدرت باستخدام مادة kentanil ومادة xylazine وتم سحب الدم من القلب مباشرة وجمع الدم في أنابيب اختبار Gel & Clot Activator ثم بعد لك فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة وتم حفظ المصل بدرجة ( $20^{\circ}\text{C}$ ) لغرض إجراء الفحوصات الكيموحيوية الخاصة.
  - **الاختبارات:** تم إجراء تقدير مستوى أنزيمات الكبد ومستوى عنصر المغنيسيوم باستخدام نظام Roche/Hitachi cobas C 311 analyzer system الذي يقيس التركيز تلقائياً لكل عينة وبحسب طريقة (13، 14).
  - **تقدير فعالية إنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز في مصل الدم:** باستعمال الطريقة اللونية تم تقدير فعالية إنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز وبحسب طريقة (15).
  - **التحليل الإحصائي:** استعمل البرنامج الإحصائي Statistical Analysis System (16) في تحليل البيانات لدراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة وفق تصميم عشوائي كامل (CRD)، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (LSD).

### النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج (الجدول 1) وجود فروق معنوية في فعالية إنزيم GOT عند مستوى ( $P < 0.05$ ) إذ انخفضت فعالية الإنزيم بشكل معنوي في الجرعة المعاملة البالغة 100، 250، 500، 1000 ملغم/ مل مقارنة مع فعالية الإنزيم في مجموعة السيطرة كما أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في فعالية إنزيم AST عند مستوى ( $P < 0.05$ ) إذ انخفضت فعالية الإنزيم بشكل معنوي في الجرعة المعاملة البالغة 250، 500، 1000 ملغم/ مل بينما لم

تنخفض فعالية الأنزيم بشكل معنوي في الجرعة المعاملة البالغة 100 ملغم/ مل مقارنة مع فعالية الأنزيم في مجموعة السيطرة ويعود السبب إلى خصائص مكونات مستخلص الشاي الأخضر المضادة للأكسدة والتي تقلل من الإجهاد التأكسدي في خلايا الكبد وهذا يتوافق مع (17، 18) تحدث الجذور الحرة المؤكسدة ضرر في تركيب الخلايا الكبدية وعضياتها مما يؤدي إلى تحرر هذه الأنزيمات من سايتوبلازم ومايتوكوندريا الخلايا الكبدية إلى مصل الدم وبالتالي ارتفاع مستواها (19) حيث أن الجذور الحرة ترتبط تساهميا إلى الجزيئات الخلوية الكبيرة وتحث على أكسدة دهون غشاء الشبكة الأندوبلازمية الغني بالأحماض الدهنية غير المشبعة. وهذا يؤدي إلى حدوث بيروكسيد الدهون، والذي بدوره ينتج المألوندايديهيد التي تسبب ضررا وتدهور الغشاء الحيوي للخلايا وهو واحد من أسباب سمية الكبد(20).

### جدول (1) تأثير المعاملات المدروسة في AST و ALT و GPx و Mg.

المتوسط ± الخطأ القياسي				المعاملة
Mg	الكلوتاثيون	ALT	AST	
3.1 ± 0.06 B	263.9 ± 14.92 D	68.00 ± 2.17 A	253.00 ± 19.64 A	السيطرة (ماء مقطر)
3.85 ± 0.13 A	326.12 ± 17.31 C	64.00 ± 2.40 A	210.00 ± 17.52 AB	تجريب 100 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم
4.3 ± 0.09 A	333.55 ± 15.84 C	59.00 ± 3.07 AB	200.00 ± 17.82 AB	تجريب 250 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم
4.3 ± 0.06 A	393.60 ± 21.55 B	49.00 ± 2.94 AB	193.00 ± 22.74 AB	تجريب 500 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم
4.0 ± 0.06 A	529.12 ± 29.63 A	47.00 ± 2.71 B	183.00 ± 18.62 B	تجريب 1000 ملغم من المستخلص/ غم من وزن الجسم
0.728 *	41.617 *	13.821 *	64.791 *	قيمة LSD
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها				

أشار (21) في دراسة أجريت لتحديد دور مستخلص الشاي الأخضر في حماية الخلايا الكبدية حيث تم إعطاء 2500 ملغم/ كغم يوميا لجرذان لمدة 6 أسابيع ولم يلاحظ أي تغييرات في مستوى أنزيمات GOT, GPT وهذا يدل على أن الشاي الأخضر ليس له أي تأثير سمي على الخلايا الكبدية كما أشار (22، 23) إلى دور الكاتشينات الموجودة في مستخلص الشاي الأخضر وخصوصا مركب EGCG في حماية الخلايا الكبدية من مسارات الأكسدة وبالتالي تقلل من مستوى بيروكسيد الدهون التي لها دور في تحطيم تركيب الخلايا الكبدية وعضياتها. الكيتشينات وخاصة الأبيبيكيتشينات تمنع فقدان مضادات الأكسدة  $\alpha$ -توكوفيرول الذائبة في الدهون، وبالتالي فإنه قد يقلل من تركيز الجذور الحرة الذائبة في الدهون ومنع بيروكسيد الدهون والكاتشينات مواد فعالة لمكافحة جذور الأوكسجين الفعالة مثل جذر البيروكسيل وجذر السوبرأوكسيد وجذر بيروكسي نترت حيث أشير إلى أن إبيكاتشينات يمكن أن تتفاعل مع جذر السوبرأوكسيد عبر آلية نقل الإلكترون أو عن طريق آلية فقدان الهيدروجين أو قد ترتبط الكيتشينات بأيونات المعادن، وخاصة الحديد والنحاس، والتي بدورها تمنع توليد جذور الهيدروكسيل وتقلل بيروكسيد الدهون التي تتسبب في تكوين الأدهايد(24). GSH يلعب دورا وقائيا في الأنسجة في إزالة سموم الأجسام الغريبة وهو أمر ضروري للحفاظ على سلامة وظائف الخلية النقصان الواضح في مستوى GSH في كبد الجرذان المعاملة بمستخلص الشاي الأخضر في هذه الدراسة قد يكون راجعا إلى تعزيز استخدامه كمادة أساس في التفاعلات من قبل أنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز. في الواقع هناك علاقة مباشرة بين انخفاض تركيز GSH وارتفاع مستوى بيروكسيد الدهون وقد لوحظ انخفاض كبير في مستوى بيروكسيد الدهون للجرذان المعاملة بمستخلص الشاي

الأخضر بينما ارتفع مستوى GSH الذي بدوره يساعد في الحفاظ على سلامة أنسجة الكبد وهذا يدل على خاصية المضادة للأكسدة للشاي الأخضر (19). من ناحية أخرى، الشاي الأخضر لا يمارس خصائصه المضادة للأكسدة فقط من قبل البوليفينول، L- ثيانين هومن الأحماض الأمينية الأساسية في الشاي الأخضر ويمثل 1-2% من الوزن الجاف للورقة، يتم تصنيعه في جذور الشاي الأخضر ويتركز في الأوراق. L- ثيانين له تركيب كيميائي يشبه حامض الكلوتاميك، والآخر هو مكون رئيسي ل- GSH. وقد أظهرت الدراسات أن L- الثيانين يحافظ على مستويات GSH الخلية في امراض السرطان وأمراض الخلايا العصبية (25). وبينت النتائج كما في (الجدول 1) وجود فروق معنوية في مستوى عنصر المغنيسيوم بين المجاميع المعاملة وبين مجموعة السيطرة عند مستوى ( $P < 0.05$ ) إذ ارتفع مستوى عنصر المغنيسيوم في الجرعات المعاملة البالغة (100، 250، 500، 1000) ملغم/مل مقارنة مع متوسط تركيز العنصر في مجموعة السيطرة ويعود السبب إلى محتوى الشاي الأخضر من عنصر المغنيسيوم (26) حيث تشكل المعادن ومنها المغنيسيوم 5% من الوزن الجاف للشاي الأخضر (2) ويحتوي راسخ مستخلص الشاي الأخضر على المغنيسيوم بنسبة 37% (27)، ووجد (28) أن محتوى المغنيسيوم في الشاي الأخضر يكون بمعدل 2.97- 5.66 ملغم/ لتر، ويعود وجود كمية كبيرة من محتوى المغنيسيوم في مستخلص الشاي الأخضر إلى تنشيط أنزيمات الأكسدة أثناء عملية التصنيع. أما مستوى أنزيم الكلوتاثيون بيروكسيداز أظهرت النتائج (الجدول 1) وجود فروق معنوية مرتفعة في أنزيم الكلوتاثيون بيروكسيداز عند مستوى ( $P < 0.05$ ) إذ ارتفع مستوى الإنزيم في جميع التراكيز المعاملة وبلغت أعلى قيمة في الجرعة العالية 1000 ملغم/مل مقارنة مع مجموعة السيطرة. ويعود سبب الارتفاع إلى خاصية مضادات الأكسدة لمركبات الفلافونيدات الموجودة في مستخلص الشاي الأخضر والتي تعمل على منع الإجهاد التأكسدي وزيادة مستويات أنزيمات الكلوتاثيون، الكاتالاز والسوبر أوكسيدديسموتيز (17، 29). وهذا يتوافق مع دراسة (30) الذي أشار إلى دور الشاي الأخضر في مكافحة الجذور الحرة فهذا يمكن أن يقلل من استخدام الكلوتاثيون وبهذه الطريقة تحصل زيادة في مستوى الكلوتاثيون للجردان المعاملة بمستخلص الشاي الأخضر مقارنة مع عينات مجموعة السيطرة. الكاتشينات قد تقلل أيضا الإجهاد التأكسدي لبعض الأيونات من خلال تكوين معقد ارتباطي (31) وعلاوة على ذلك، تسبب الكاتشينات انخفاض في امتصاص الحديد من الجهاز الهضمي ونتيجة لذلك، المستوى المنخفض من أيونات الحديد يسبب انخفاض تولد الجذور الحرة وتفاعلاتها مع مكونات الخلايا (6) حيث بوجود أيونات الحديد يتم إنشاء جذر بيروكسيد الهيدروجين وجذر السوبر أوكسيد ترتبط الجذور الحرة بسهولة مع مجاميع الأمين والسولفيدريل في جزيئات البروتين (32) وبالتالي يؤثر على بناء ووظائف جزيئة البروتين بما في ذلك الأنزيمات مما يؤدي إلى انخفاض كبير في نشاط جميع الإنزيمات المضادة للأكسدة (33). وبالإضافة إلى ذلك، الشاي الأخضر يحتوي على مكونات أخرى مثل الكاروتينات، توكوفيرولز، حمض الاسكوربيك، والمعادن مثل الكروم، منغنيز، والزنك، وبعض المركبات النباتية وهذه المكونات يمكن أن تزيد من خواص البوليفينول المضادة للأكسدة (34، 35). ويعود أيضا سبب الارتفاع إلى كون البوليفينولات التي يحتويها الشاي الأخضر تحتوي على العديد من العناصر منها عنصر السيلينيوم الذي يدخل في تركيب أنزيم الكلوتاثيون بيروكسيداز (36) ترتبط فعالية إنزيم GPX مع تركيز السيلينيوم في الدم والأنسجة المختلفة الأخرى وان انخفاض تركيز السيلينيوم ينتج عنه انخفاض فعالية إنزيم GPX (37). هذا يتفق مع (38) حيث أظهر أن epicatechin أحد مكونات مستخلص الشاي الأخضر تزيد من مستوى نشاط الكلوتاثيون بيروكسيداز في القلب والكبد والكلية عند تجريعها بتراكيز مختلفة للجردان كما أشار (39) إلى دور الشاي الأخضر في زيادة مستوى فعالية المضادة للأكسدة في الجردان المعاملة بمستخلص الشاي الأخضر لكونه مضاد أكسدة طبيعي وله القابلية في منع الإجهاد التأكسدي.

## المصادر

1. Khokhar, S. & Magnusdottir, S. G. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J. Agric. Food Chem.*, 50(3): 565-570.
2. Adak, M. & Gabar, M. A. (2011). Green tea as a functional food for better health: A brief review. *RJPBCS.*, 2(2):645-664.
3. Gupta, V.; Bansal, P.; Niazi, J. & Kumar, S. (2010). Phytochemistry and pharmacology of *Camilla sinensis*- A Review. *Ann. Biol. Res.*, 1(2):91-102.
4. Wiseman, S. A.; Balentine, D. A. & Frei, B. (1997). Antioxidants in tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 37(8): 705-718.
5. Yang, C. S. & Landau, J. M. (2000). Effects of tea consumption on nutrition and health. *J. Nutr.*, 130(10): 2409-2412.
6. Crespy, V. & Williamson, G. (2004). A review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models. *J. Nutr.*, 134(12): 3431S-3440S.
7. Chan, C. C.; Koo, M. W.; Ng, E. H.; Tang, O. S.; Yeung, W. S. & Ho, P. C. (2006). Effects of Chinese green tea on weight, and hormonal and biochemical profiles in obese patients with polycystic ovary syndrome- a randomized placebo-controlled trial. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 13(1): 63-68.
8. Jung, Y. D. & Ellis, L. M. (2001). Inhibition of tumour invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea. *Int. J. Exp. Pathol.*, 82(6): 309-316.
9. Coimbra, S.; Santos-Silva, A.; Rocha-Pereira, P.; Rocha, S. & Castro, E. (2006). Green tea consumption improves plasma lipid profiles in adults. *Nutr. Res.*, 26(11): 604-607.
10. Cooper, R.; Morr , D. J. & Morr , D. M. (2005). Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. *J. Altern. Complement. Med.*, 11(3): 521-528.
11. Venables, M. C.; Hulston, C. J.; Cox, H. R. & Jeukendrup, A. E. (2008). Green tea extract ingestion, fat oxidation, and glucose tolerance in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 87(3): 778-784.
12. Redfern, J.; Kinninmonth, M.; Burdass, D. & Verran, J. (2014). Using soxhlet ethanol extraction to produce and test plant material (essential oils) for their antimicrobial properties. *J. Microbiol. Biol. Educ.*, 15(1): 45- 46.
13. Bakker, A. J. & Mücke, M. (2007). Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 45(9): 1240-1243.
14. Zumkley, H. & Spieker, C. (1991). *Die Magnesiumfibel*. Einhorn-Press- Verlag, Reinbek.
15. Floh , L. & G nzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*, 105: 114-121.
16. SAS. (2012). *Statistical Analysis System, User's Guide*. Statistical. Version 9.1<sup>th</sup> ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
17. Bakr, E. H. & Header, E. A. (2014). Effect of aqueous extract of green tea (*Camellia Sinensis L.*) on obesity and liver status in experimental Rats. *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol.*, 21(2): 53- 63.
18. Wondimnew, T. (2016). Effect of green tea (*Camellia Sinensis*) leaf extract on highly active anti-Retroviral therapy induced dyslipidemia and non alcoholic fatty liver disease in Albino Wistar Rats. A thesis submitted to School of Graduate Studies of Addis Ababa University.

19. Pari, L. & Karthikesan, K. (2007). Protective role of caffeic acid against alcohol-induced biochemical changes in rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 21(4): 355-361.
20. Ochanda, S. O.; Rashid, K.; Wanyoko, J. K.; Ngotho, M.; Faraj, A. K.; Onyango, C. A.; Wachira, F. N. & Maranga, D. N. (2016). Fortification of alcoholic beverages (12% v/v) with tea (*Camellia sinensis*) reduces harmful effects of alcohol ingestion and metabolism in mouse model. *BMJ Open Gastroenterol.*, 3(1): e000058.
21. Bun, S. S.; Bun, H.; Guédon, D.; Rosier, C. & Ollivier, E. (2006). Effect of green tea extracts on liver functions in Wistar rats. *Food Chem. Toxicol.*, 44(7): 1108-1113.
22. Hosnuter, M.; Melikoglu, C.; Aslan, C.; Saglam, G. & Sutcu, R. (2014). The protective effects of Epigallocatechin Gallate against distant organ damage after severe skin burns--experimental study using a Rat Model of Thermal Trauma. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 24(3): 409-417.
23. Matsumoto, Y.; Kaihatsu, K.; Nishino, K.; Ogawa, M.; Kato, N. & Yamaguchi, A. (2012). Antibacterial and antifungal activities of new acylated derivatives of epigallocatechin gallate. *Front. Microbiol.*, 3: 53.
24. Nada, A. S.; Ain-Shoka, A.; Abdel-Latif, H. A.; Amin, N. E. & Aziz, M. M. (2012). Green tea attenuates some biochemical disorders induced by  $\gamma$ -irradiation in male rats. *J. Rad. Res. Appl. Sci.*, 5(4): 885-901.
25. Pérez-Vargas, J. E.; Zarco, N.; Vergara, P.; Shibayama, M.; Segovia, J.; Tsutsumi, V. & Muriel, P. (2016). L-Theanine prevents carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via inhibition of nuclear factor  $\kappa$ B and down-regulation of transforming growth factor  $\beta$  and connective tissue growth factor. *Hum. Exp. Toxicol.*, 35(2): 135-146.
26. Avwioro, G.; Iyiola, S. & Aghoghovwia, B. (2010). Histological and biochemical markers of the liver of Wistar rats on subchronic oral administration of green tea. *N. Am. J. Med. Sci.*, 2(8): 376- 380.
27. Brzezicha-Cirocka, J.; Grembecka, M. & Szefer, P. (2016). Oxalate, magnesium and calcium content in selected kinds of tea: impact on human health. *Eur. Food Res. Technol.*, 242(3): 383-389.
28. Adnan, M.; Ahmad, A.; Ahmed, A.; Khalid, N.; Hayat, I. & Ahmed, I. (2013). Chemical composition and sensory evaluation of tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 45(3): 901-907.
29. Elsayed, A. S. I. (2016). Green tea antioxidants effects and its ameliorative role against many diseases. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.*, 7(1):73-94.
30. Gad, S. B. & Zaghloul, D. M. (2013). Beneficial effects of green tea extract on liver and kidney functions, ultrastructure, lipid profile and hematological parameters in aged male rats. *Global Veterinaria*, 11(2): 191-205.
31. Frei, B. & Higdon, J. V. (2003). Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J. Nutr.*, 133(10): 3275S-3284S.
32. Braun, K. P.; Cody, R. B. Jr.; Jones, D. R. & Peterson, C. M. (1995). A structural assignment for a stable acetaldehyde-lysine adduct. *J. Biol. Chem.*, 270(19): 11263-11266.
33. Zapora, E.; Holub, M.; Waszkiewicz, E.; Dabrowska, M. & Skrzydlewska, E. (2009). Green tea effect on antioxidant status of erythrocytes and on haematological parameters in rats. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 53(1): 139-145.

34. Augustyniak, A.; Waszkiewicz, E. & Skrzydlewska, E. (2005). Preventive action of green tea from changes in the liver antioxidant abilities of different aged rats intoxicated with ethanol. *Nutrition*, 21(9): 925-932.
35. Muhsin, D. A. & Latif, A. R. A. (2012). The possible protective effect of green tea extract against methotrexate-induced liver injury in male rats. *Med. J. Babylon*, 9(3): 650-655.
36. Jassem, H. M.; Ismaiel, H. K. & Jasem, A. Y. (2008). Effect of aqueous extract of green tea on sexual efficiency in adult male rats treated with alloxan. *Iraqi J. Vet. Sci.*, 22(2):75-82.
37. Banerjee, R.; Becker, D. F.; Dickman, M. B.; Gladyshev, V. N. & Ragsdale, S. W. (2008). *Redox Biochemistry*. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. Canada, PP. 201-209.
38. Haidari, F.; Omidian, K.; Rafiei, H.; Zarei, M. & Mohamad Shahi, M. (2013). Green tea (*Camellia sinensis*) supplementation to diabetic rats improves serum and hepatic oxidative stress markers. *Iran. J. Pharm. Res.*, 12(1): 109-114.
39. Vinoth Kumar, P.; Amala Bricey, A.; Veera thamari Selvi, V.; Sudheer Kumar, C. & Ramesh, N. (2010). Antioxidant effect of green tea extract in cadmium chloride intoxicated rats. *Adv. Appl. Sci. Res.*, 1(2): 9-13.