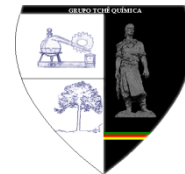




## VITAMINA C E O EFEITO PROTETOR EM CAMUNDONGOS SWISS TRATADOS COM INFUSÕES DE CHÁ VERDE



## ASCORBIC ACID AND THE PROTECTIVE EFFECT IN SWISS MICE TREATED WITH GREEN TEA INFUSIONS

BACKES, Luana Taís Hartmann<sup>1</sup>; BERTOLIN, Telma Elita<sup>2</sup>; ROMAN, Silvana Souza<sup>3</sup>; PAIVA, Janaine de Oliveira<sup>4</sup>; MANFREDINI, Vanusa<sup>5</sup>; CALIL, Luciane Noal<sup>6</sup>; FATURI, Daliane Paula<sup>7</sup>; MEZZARI, Adelina<sup>8\*</sup>

<sup>1,2,3</sup>Universidade de Passo Fundo – UPF, Programa de Pós Graduação em Envelhecimento Humano no PPGEH, Faculdade de Educação Física e Fisioterapia, Campus I - BR 285, Bairro São José - Passo Fundo/RS, CEP 99052-900 (fone: +55 54 9926 1469).

<sup>4,7</sup>Universidade de Passo Fundo – UPF. Faculdade de Educação Física e Fisioterapia, Campus I - BR 285, Bairro São José - Passo Fundo/RS, CEP 99052-900 (fone: +55 54 9926 1469).

<sup>5</sup> Universidade Federal do Pampa Campus Uruguaiana – UNIPAMPA, Curso de Especialização em Ciências da Saúde, Rua Pedro Álvares Cabral, 35, Bairro Centro – CEP 99700-000, Erechim/RS (fone +55 54 3426 1052)

<sup>6,8</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises, Avenida Ipiranga, 2752 - CEP: 90610-000, Porto Alegre - Rio Grande do Sul (fone +55 51 3308 2105).

\* Autor correspondente

e-mail: [mezzari@ufrgs.br](mailto:mezzari@ufrgs.br)

Received 10 February 2015; received in revised form 1 May 2015; accepted 1 May 2015

### RESUMO

O uso de plantas medicinais é expressivo devido aos seus efeitos benéficos, porém as dosagens muitas vezes não são adequadas. O presente estudo teve como objetivo investigar a toxicidade do chá verde e o efeito protetor da vitamina C. Foram utilizados 36 camundongos swiss, distribuídos em 6 grupos (n=6): Controle, 1 ml/kg de solução salina 0,9%; Experimental 1, extrato de *Camellia sinensis* na concentração de 0,5%; Experimental 2, extrato de *Camellia sinensis* na concentração de 10%; Experimental 3, extrato de *Camellia sinensis* na concentração de 0,5% associado à vitamina C na concentração de 40mg/mL; Experimental 4, extrato de *Camellia sinensis* na concentração de 10% associado à vitamina C na concentração de 40mg/mL e Experimental 5, solução de vitamina C na concentração de 40 mg/mL. Os resultados obtidos foram estatisticamente significativos para peso corporal e órgãos (fígado, rins, baço e cérebro) no grupo de maior concentração de chá verde e nos grupos onde a vitamina C estava associada, sugerindo uma toxicidade leve nos grupos que receberam esses tratamentos.

**Palavras-chave:** *Camellia sinensis*, Histologia, Toxicologia.

### ABSTRACT

The use of medicinal plants is expressive because it's beneficial effects, however the dosages some times are not adjusted. The study had for objective to investigate the toxicity of the green tea and the protective effect of vitamin C. Had been used 36 mice swiss, distributed in 6 groups (n=6): Control group with 1 ml/kg of saline solution 0.9%; Experimental group 1 with extract of *Camellia sinensis* in 0,5% concentration; Experimental group 2 with extract of *Camellia sinensis* in 10% concentration; Experimental group 3 with extract of *Camellia sinensis* in 0,5% concentration associate with vitamin C in 40mg/mL concentration; Experimental group 4 with extract of *Camellia sinensis* in 10% concentration associate with vitamin C in 40mg/mL concentration and Experimental group 5 with vitamin C solution in 40mg/mL concentration. The results had been significant for corporal weight and agencies (liver, kidneys, dull and brain) in the group of bigger concentration of green tea and in the groups where vitamin C was associated, allowing itself to suggest a light toxicity in the groups that had received these treatments.

## INTRODUÇÃO

As plantas vêm sendo utilizadas milenarmente para fins terapêuticos, onde são empregadas em diversas formas; como pomadas, xaropes, cataplasmas, decocção, infusão, tinturas, banhos e chás.

O chá surgiu em 2.375 A.C, na China, durante o império de Sheng Nung, e acabou se tornando uma das bebidas mais populares em todo mundo, principalmente por serem ricos em compostos biologicamente ativos que contribuem para prevenção de várias doenças (Trevisinato, 2000).

A espécie *Camellia sinensis* é um arbusto ou árvore de pequeno porte, de origem asiática, pertencente à família Theaceae. Apresenta folhas simples, alternas, inteiras, com margem serrada e textura coriácea (Lorenzi, 2002). É designado genericamente como chá-da-índia ou chá-verde, *oolong* e chá-preto; em referência ao produto resultante do preparo diferencial das folhas. As folhas recém-coletadas e imediatamente estabilizadas caracterizam o chá-verde e, quando submetidas à fermentação, rápida ou prolongada, constituem o tipo *oolong* e o chá-preto, respectivamente (Weisburger, 1997).

O chá de *Camellia sinensis* é um dos mais difundidos tendo várias de suas propriedades terapêuticas comprovadas. Atualmente o chá verde é considerado um alimento funcional que, quando consumido cotidianamente, pode trazer benefícios fisiológicos à saúde, graças aos seus componentes ativos (Saigg, 2009). Sua composição química é muito variada, contendo água, proteínas, carboidratos, vitaminas (principalmente a vitamina C e K), sais minerais, metilxantinas, cafeína, teofilina, teobromina, tanino, flúor, flavonoides e as catequinas, os quais são os principais responsáveis pelos efeitos benéficos do chá (Hernandez, 2004).

Segundo Kassim (2009), os flavonoides apresentam ação antioxidante, anti-inflamatória, antialérgica, anticarcinogênica e têm a capacidade de se complexar com macromoléculas como as proteínas e

polissacarídeos. As catequinas, que correspondem à aproximadamente 26,7% dos compostos presentes no chá verde; além de serem potentes antioxidantes, são também sequestradores de radicais livres, quelantes de metais reduzindo sua absorção e também inibidores de lipoperoxidação (Schimitz, 2005).

Embora muitos estudos *in vivo* tivesse atribuído à *Camellia sinensis* propriedades fisiológicas, os resultados ainda são controversos em relação ao uso benéfico do chá verde (Nishiyama, 2010). Os polifenóis presentes neste chá, por exemplo, têm uma forte afinidade por metais, sendo assim considerados poderosos quelantes de ferro e cobre, principalmente quando ingeridos simultaneamente, impedem a absorção desses metais. Esse efeito do chá verde e de seus componentes pode levar à deficiência desses minerais (Valenzuela, 2004) no organismo humano.

Segundo Smith (2002) altas doses de chá verde podem causar efeitos adversos pela presença da cafeína que, quando consumida em grandes quantidades pode induzir alterações no sistema nervoso central, sistema cardiovascular, pressão arterial, homeostase do cálcio, qualidade do sono e no controle motor, incluindo a irritabilidade.

O elevado consumo de chá em todo o mundo tem despertado o interesse da comunidade científica quanto as suas propriedades terapêuticas. Porém algumas plantas são produtoras de várias substâncias tóxicas, as quais servem aparentemente para sua defesa contra vírus, bactérias, fungos e animais predadores. Entretanto, são poucos os estudos toxicológicos e genotóxicos envolvendo essas substâncias (Fonseca, 2004). A população em geral ingerem as substâncias “naturais” sem o devido conhecimento de sua composição química e toxicidade. Desta forma, permanece ainda o escasso conhecimento sobre seus efeitos colaterais, especialmente sobre o material genético, podendo assim desencadear várias doenças e alterações metabólicas (Varanda, 2006).

A vitamina C ou Ácido Ascórbico (AA) atua como um excelente antioxidante sobre os radicais livres e efeito protetor contra danos celulares. É uma vitamina hidrossolúvel e termolábil, essencial para o organismo humano, pois participa de diversos processos metabólicos e fisiológicos (Barbosa, 2010). Elimina diretamente radicais livres de oxigênio e de óxido nítrico bem como está envolvida na reciclagem de  $\alpha$ -tocoferil em  $\alpha$ -tocoferol. Embora sua função antioxidante seja bem reconhecida, não há evidências claras do real efeito benéfico sobre a imunidade. A vitamina C também pode também ter efeito pró-oxidante onde a mistura ferro/ácido ascórbico é conhecida por gerar radicais OH-induzindo a peroxidação lipídica (Isidório, 2008).

O chá verde é uma bebida acessível, de fácil preparo e tem sido considerado de grande importância na prevenção e tratamento de câncer. No entanto, faz-se necessário mais estudo para melhor compreender seus mecanismos de ação sobre as células de diferentes órgãos.

O presente estudo visa avaliar possíveis efeitos maléficos do chá verde e também investigar o provável efeito protetor da vitamina C, contribuindo com o conhecimento tanto da comunidade científica como da população em geral, visto que o uso de infusões como tratamento alternativo de doenças e como prevenção faz parte da cultura popular.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparação dos extratos aquosos de *Camellia sinensis*

Os extratos aquosos de *Camellia sinensis* foram obtidos por infusão do pó das folhas da planta, adquirido comercialmente pela Indústria Farmacêutica Laboratório Cangeri Ltda, Porto Alegre. Os extratos foram preparados nas concentrações 0,5% e 10% onde foram utilizadas 0,5 g e 10 g do pó do chá, respectivamente e homogeneizados em 100 ml de água destilada. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar, no abrigo da luz. As dosagens utilizadas foram testadas previamente, *in vitro*.

## Delineamento experimental

Este projeto foi submetido à avaliação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada URI - Campus Erechim, RS, com o número 014/TCA/09. Os experimentos seguiram as normas éticas de experimentação animal determinadas pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (CONEP/CNS/MS), atendendo aos padrões éticos da Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

Para o desenvolvimento do estudo foram testados 36 camundongos fêmeas da linhagem Swiss, com 60 dias de idade, pesando entre 25 e 35 gramas, procedentes do Laboratório de Experimentação Animal da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim-RS.

Antes do início dos experimentos os animais foram mantidos nas condições normais do biotério, com foto período de 12 horas de claro e escuro, ruídos mínimos, temperatura ambiente  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade mantida por ar condicionado ( $55 \pm 3^\circ\text{C}$ ). Os animais tiveram livre acesso à alimentação e água.

Os animais foram divididos aleatoriamente em seis grupos, com seis animais em cada grupo, Tabela 1.

### **Tabela 1. Grupos de animais e seus respectivos tratamentos**

Durante 14 dias, os animais de cada grupo foram pesados diariamente para posterior cálculo de peso corporal corrigido e receberam 1 mL/kg das soluções por gavagem conforme os tratamentos determinados para seus grupos. Após 24 horas do último tratamento os camundongos foram eutanasiados em câmara de  $\text{CO}_2$  e a seguir colocados em decúbito dorsal, onde por meio de uma incisão com bisturi na região ventral, abdome, se realizou a remoção dos rins, fígado, cérebro e baço para serem pesados e realizado o cálculo de peso absoluto e relativo. No fígado e nos rins, que são os órgãos alvo de toxicidade, foi realizada a análise histológica.

## Análise histológica

Para essa análise os fígados e rins coletados foram fixados em solução de formol tamponado 10% para que as células não sofressem autólise e os tecidos ficassem mais endurecidos, facilitando assim às etapas subsequentes. Após se realizou a desidratação dos tecidos com banhos sucessivos em álcool, etanol, de teor crescente 70%, 80%, 95% e 100% bem como a diafanização com xilol. Posteriormente as peças foram incluídas em parafina e cortadas em fatias com 4µm de espessura, estas foram colocadas em lâminas histológicas. A seguir as lamínas histológicas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e recobertas com lamínulas para análise em microscopia de luz clara.

A análise microscópica do tecido hepático foi determinada pelos parâmetros patológicos de necrose, congestão vascular, megalocitose, infiltração celular, eosinofilia, vacuolização citoplasmática, hipercromasia, dilatação sinusoidal. Na avaliação do tecido renal foram considerados os parâmetros de tumefação celular, vacuolização citoplasmática, congestão vascular, dilatação tubular, células apoptóticas e espaço de filtração glomerular.

A avaliação das alterações teciduais e o grau de dano hepático e renal foram numerados gradualmente, seguindo escores que vão de 0 a 3, onde 0 indica ausência de dano, 1 indica dano baixo, 2 indica dano moderado e 3 dano intenso.

O número de animais foi organizado em tabelas de acordo com o escore a eles atribuído para posterior análise dos dados.

## Análise estatística

A análise do peso dos órgãos dos animais tratados e controles foram realizados pelo teste Mann Whitney do ANOVA e posteriormente foi utilizado o teste de Duncan para verificar as diferenças entre os grupos.

As alterações histológicas foram avaliadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste Dunn do Bioestat. A diferença foi considerada significativa quando o  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Peso corporal e órgãos

Na análise do peso corporal corrigido foi verificado que ocorreu diminuição significativa no peso corpóreo dos animais dos grupos exp2, exp3, exp4 e exp5 em relação ao grupo controle e exp1, Tabela 2.

**Tabela 2. Peso corporal de animais tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.**

Foi observado que o peso relativo ao fígado apresentou um aumento significativo nos grupos exp3, exp4, exp5 em relação aos grupos controle e exp1, Tabela3.

Foi verificado que no peso de rim absoluto o grupo exp2 demonstrou diferença estatística na redução de peso em relação ao grupo controle, enquanto os grupos exp3 e exp5 apresentaram aumento significativo do peso de rim absoluto em comparação com o grupo exp2. O peso de rim relativo demonstrou aumento significativo de peso nos grupos exp3, exp4, exp5 quando comparados com os grupos controle, exp1 e exp2, Tabela 3.

O peso absoluto de baço demonstrou aumento significativo no grupo exp2 em relação ao grupo controle, já os grupos exp3, exp4 e exp5 apresentaram diminuição de peso absoluto em comparação ao grupo exp2. O peso relativo do baço no grupo exp2 teve um aumento significativo quando comparado aos grupos controle e exp1, Tabela 3.

Em relação ao cérebro, o peso absoluto foi significativamente menor nos grupos exp2 e exp4 em comparação ao grupo controle. Quanto ao peso relativo do cérebro, foi verificado que o grupo exp5 apresentou aumento significativo em relação aos grupos controle, exp1 e exp2, Tabela3.

**Tabela 3. Peso de órgãos dos animais tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.**

## **Análise histológica**

Na análise histológica realizada nos fígados e rins destes animais não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes grupos, Tabelas 4 e 5.

**Tabela 4. Análise histológica do tecido hepático dos grupos tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.**

**Tabela 5. Análise histológica do tecido renal dos grupos tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.**

## **DISCUSSÃO**

Apesar da comprovada eficiência terapêutica de muitas plantas, os prováveis efeitos tóxicos que as mesmas podem apresentar quando usadas inadequadamente ainda são desconhecidos ou, muitas vezes, ignorados. Com a crescente utilização dessas plantas, tem também aumentado a preocupação com o uso das mesmas, visto que na medicina tradicional, na maioria das vezes, não existem critérios quanto à forma de utilização quanto no preparo, bem como na dosagem e contra-indicações. Isto tem sido tradicionalmente considerado que o consumo de produtos naturais não é prejudicial à saúde.

A avaliação e o acompanhamento dos pesos corporais são importantes indicadores dos efeitos tóxicos das substâncias. O peso total dos órgãos exerce importante efeito no metabolismo corporal, onde uma diminuição ou um aumento no peso bruto dos órgãos poderá afetar as funções vitais do organismo humano ou de animais (Oliveira, 2006).

No presente estudo foi observado que o peso corporal diminuiu nos grupos em que havia maior concentração de chá verde e vitamina C. Essa consequente redução de peso comprova a atuação dos polifenóis quando presentes em grandes quantidades nos extratos da planta *Camellia sinensis*. Segundo Xu *et al.* (2004) os extratos do chá verde contendo 25% de galato-3-epigallocatequina é capaz de reduzir o apetite e

aumentar o catabolismo de gorduras. Em estudo semelhante, Chanadiri *et al.* (2005) verificaram o efeito das catequinas do chá verde no metabolismo lipídico, no *status* antioxidante e no excesso de massa corporal em ratos durante a administração de uma dieta hiperenergética por 7 semanas. Neste mesmo estudo um dos grupos experimentais que recebeu as catequinas, na quarta semana do experimento e no final do tratamento, apresentou diminuição na concentração de colesterol total, triglicérides, LDL (lipoproteína de baixa densidade) e de gordura visceral.

No presente estudo não foram observadas alterações microscópicas hepáticas e renais, porém foram verificadas alterações em relação ao peso do fígado, rins, baço e cérebro nos grupos exp2, exp3, exp4 e exp5.

Sendo o fígado o principal órgão para a metabolização de drogas e detoxificação, a hepatotoxicidade em estudos pré-clínicos é um desafio para o uso terapêutico de novas drogas, uma vez que as lesões neste órgão vital inviabilizam a adoção de novas terapias (Folgueira, 2004). Os dados encontrados no presente estudo referentes à análise do peso relativo de fígado apresentaram aumento do peso desse órgão nos grupos que receberam vitamina C. Nos grupos da associação do chá verde com a vitamina C apresentaram valores maiores indicando um aumento da atividade hepática para metabolizar o composto. Sugere também que a vitamina C pode ter causado toxicidade e ainda, quando associada ao chá verde possivelmente potencializou sua ação tóxica, atuando como pró-oxidante. O fígado é, portanto um dos órgãos mais afetados por lesões provocadas pelas drogas, devido a sua importante participação em reações do metabolismo e na biotransformação de substâncias químicas no organismo (Brasileiro, 2000).

Os rins são órgãos responsáveis pela excreção dos resíduos metabólicos e o controle da homeostase, a qual regula o volume extracelular, metabolismo do cálcio, balanço eletrolítico e o controle do balanço ácido-básico. Lesões severas nestes órgãos levam a hipotensão e a falência irreversível dos órgãos (Middendorf, 2000). No presente estudo, o aumento do peso relativo do rim reforça a

possibilidade de que a dosagem de ácido ascórbico já existente no extrato de chá verde e esta, associada à dose de 40 mg de vitamina C pode ter contribuído para o acréscimo de peso desses órgãos. Na medida em que ocorre o aumento da concentração plasmática de vitamina C, a capacidade dos túbulos renais em reabsorver o ácido ascórbico alcança um valor máximo e, conseqüentemente, o ácido ascórbico não reabsorvido é excretado na urina (NRC, 2000).

Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que a vitamina C pode se tornar tóxica quando ingerida em excesso e o seu uso prolongado juntamente com doses elevadas pode produzir precipitação de cálculos de oxalato no trato urinário. Os sintomas como diarreia, cefaleia, dores renais, náuseas, vômitos e gastralgias podem surgir em doses elevadas de vitamina C (Fiorucci, 2003).

O grupo 10% chá verde, apresentou um valor muito alto, Tabela 3, para o peso absoluto e relativo de baço em relação aos demais grupos, demonstrando assim uma possível toxicidade do extrato de chá verde em concentrações mais elevadas. O baço atua como importante reservatório de sangue, podendo, quando solicitado e sob a ação das catecolaminas, elevar o hematócrito em até 10% do seu valor normal. Ele também atua como a maior unidade do sistema mononuclear fagocitário (SMF), envolvida em todas as inflamações sistêmicas, quando geralmente aumenta de tamanho, sendo nestes casos denominado baço ativado (Cotran, 1996). Para este órgão a vitamina C agiu com efeito antioxidante sendo, portanto benéfica, pois não foram observadas diferenças significativas de peso para os grupos exp 3, exp 4 e exp 5.

O peso relativo maior de cérebro apresentado no grupo vitamina C, demonstra que este grupo não sofreu alterações no apetite e no catabolismo de lipídios como ocorreram nos demais grupos que foram tratados com chá verde. Cozzolino (2001) refere que o peso do cérebro tende a diminuir em animais desnutridos de proteínas e, ou de calorias. Este comportamento do peso absoluto e relativo foi também atestado por Monteiro (1995), em trabalho utilizando Dieta Básica Regional (DBR), obtendo pesos cerebrais absolutos menores e pesos relativos maiores, tornando claros os

efeitos visíveis resultantes de uma dieta não balanceada, o que ocasiona uma desproporção entre o organismo e a cabeça do experimento.

No presente estudo foi observado que os grupos onde a vitamina C estava associada ao extrato foram os que apresentaram resultados significativos para toxicidade de fígado e rim, ao passo que o grupo somente da vitamina C, por si só, já demonstrou esse resultado. Entretanto a toxicidade ocorrida pode ser considerada leve, pois não houve alterações nos tecidos hepáticos e renais. A vitamina C atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação dos lipídeos. Por outro lado, estudos *in vitro* verificaram que essa vitamina na presença de metais de transição, tais como o ferro, pode atuar como uma molécula pró-oxidante e gerar os radicais  $H_2O_2$  (peróxido de

hidrogênio) e  $OH^-$  (hidróxido de hidrogênio) (Pereira, 2008).

O uso da vitamina C tem sido, há muito tempo, motivo de grandes controvérsias. A recomendação diária de vitamina C é de apenas 60 mg/dia, o que representa uma ingestão diária de menos de cerca de 1mg de vitamina C/kg de peso corpóreo/dia (Johnston, 2005)<sup>(27)</sup>, mas ainda não se sabe com certeza qual a dosagem ideal, para a saúde.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo verificou-se que a concentração 0,5% de chá verde não apresenta efeito tóxico, no entanto a concentração 10% causa alterações no peso de baço e cérebro no grupo de camundongos testados.

A associação da vitamina C não foi eficaz contra a toxicidade do chá verde para o rim e o fígado, mas desenvolveu um efeito tóxico no organismo dos grupos dos camundongos em que ela se fez presente atuando como pró-oxidante. A vitamina C, no entanto para o baço apresentou efeito protetor, agindo como antioxidante e tendo como consequência o peso desse órgão não ter sido alterado após o tratamento com o extrato da *Camellia sinensis* na concentração de 0,5% e

10%.

## REFERÊNCIAS

1. Barbosa, K.B.F., Costa, N.M.B., Alfenas, R.C.G., De Paula, S.O., Minim, V.P.R., Bressan, J. Stresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr. Campinas*, **2010**, 23,629-643.
2. Bogliolo, L., Brasileiro, G.F. Bogliolo patologia. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **2000**. 1488p.
3. Chanadiri, T., Sanikidze, T., Esaishvili, M., Chkhikvishvili, I., Datunashvili, I. Effectiveness of green tea catechines for the correction of the alimentary obesity in the experiment. *Georgian Med. News*, **2005**, 126, 61-3.
4. Cotran, R.S., Kumar, V., Robbins, S.L. Doenças dos leucócitos, linfonodos e baço. *In: \_\_\_\_\_*. Robbins patologia estrutural e funcional. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **1996**. cap.15, p. 557-597.
5. Cozzolino, S.M.F., Colli, C. Novas recomendações de nutrientes - interpretação e utilização. *In: International life sciences institute do Brasil, usos e aplicações das dietary reference intakes*. São Paulo: ILSI, **2001**. p.4-15.
6. Fiorucci, A.R., Soares, M.H.F.B., Cavalheiro, E.T.G. A importância da vitamina C na sociedade através dos tempos. *Quím. Nova Esc*, **2003**, 17, 3-7.
7. Figueira, M.A.A.K., Brentani, M.M. Câncer de mama. *In: Ferreira, C.G., Rocha, J.C. Oncologia molecular*. São Paulo: Atheneu, **2004**. p.135-144.
8. Fonseca, C.A., Pereira, D.G. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. *Infarma*, **2004**, 16, 51-54.
9. Hernandez, T.T.F., Rodriguez, E.R., Sanchez, F.J.M. El te verde, una buena elección para la prevención de enfermedades cardiovasculares. *Arch. Latinoam. Nutr*, **2004**, 54, 380-394.
10. Isidório, M.S., Silveira, L.R. Modulação do balanço redox em crianças atletas: possíveis efeitos do exercício e da suplementação antioxidante. *Rev. Bras. Nutr. Cli*, **2008**, 23, 127-34.
11. Johnston, C.S., Hale, J.C. Oxidation of ascorbic acid in stored orange juice is associated with reduced plasma vitamin C concentrations and elevated lipid peroxides. *J. Am. Diet. Assoc.*, **2005**, 105, 106-109.
12. Kassim, A.L.O., Fernandes, C., Rodrigues, K. Efeitos da suplementação de chá verde em indivíduos praticantes de atividade física. *Rev. Bras. Nutr. Esportiva*, **2009**, 3, 442-467.
13. Lorenzi, H., Matos, F.J.A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, **2008**. 544p.
14. Middendorf, P.J., Williams, P.L. Nephrotoxicity: toxic responses of the kidney. *In: Williams, P.L., James, R.C., Roberts, S.M. Principles of toxicology: environmental and industrial applications*. New York: A Wiley-Interscience Publication, **2000**. p.129-145.
15. National Research Council (NRC). Dietary reference intakes: for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. Washington: National Academy Press, **2000**. 506p.
16. Nishiyama, M.F., Costa, M.A.F., Costa, A.M., Sousa, C.G.M., Bôer, C.G., Bracht, C.K., Peralta, RM. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Ci. Tecnol. Alim.*, **2010**, 30(supl.1), 191-196.
17. Oliveira, D.H.U., Silva, K.D. Alterações glicêmicas e do peso de órgãos em camundongos recebendo dietas a base de farinha de frutas. *Rev. Nutr.*, **2006**, 15,

- 83-93.
18. Pereira, V.R. *Ácido ascórbico: características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria de alimentos*. **2008**. Pelotas. 46p. Monografia (Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Bacharelado em Química de Alimentos), Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.
  19. Saigg, N.L., Silva, M.C. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. *Univ. Ci. Saúde*, **2009**, 7, 69-89.
  20. Santos-Monteiro, J. *Desnutrição, estimulação ambiental e desenvolvimento do sistema nervoso: um estudo eletrofisiológico*. **1995**. Recife. 87p. Dissertação mestrado, Universidade Federal de Pernambuco. Recife.
  21. Schimitz, W., Saito, A.Y., Estevão, D., Saridakis, H.O. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. *Semin. Ci. Biol. Saúde*, **2005**, 26, 119-130.
  22. Smith, A. Effects of caffeine on human behaviors. *Food Chem. Toxicol.*, **2002**, 40, 1243-1255.
  23. Trevisanato, S.I., Kim, Y.I. Tea and health. *Nutr. Rev.*, **2000**, 58, 1-10.
  24. Valenzuela, A.B. El consumo te y la salud: características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. *Rev. Chil. Nutr.*, **2004**, 31, 72-82.
  25. Varanda, E.A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. *Rev. Ci. Farm. Básica Apl.*, **2006**, 27, 1-7.
  26. Weisburger, J.H. Tea and health: a historical perspective. *Cancer Lett.*, **1997**, 114, 315-317.
  27. Xu, J.Z., Yeung, S.Y., Chang, Q., Huang, Y., Chen, Z.Y. Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. *Br. J. Nutr.*, **2004**, 91, 873-81.



**Tabela 1. Grupos de animais e seus respectivos tratamentos**

Grupo	Tratamento
Controle	Solução salina 0,9%
Experimental 1 (exp1)	Extrato aquoso de <i>Camellia sinensis</i> na concentração de 0,5%
Experimental 2 (exp2)	Extrato aquoso de <i>Camellia sinensis</i> na concentração de 10%
Experimental 3 (exp3)	Extrato aquoso de <i>Camellia sinensis</i> na concentração de 0,5% associado à solução aquosa de Vitamina C na concentração de 40mg/mL
Experimental 4 (exp4)	Extrato aquoso de <i>Camellia sinensis</i> na concentração de 10% associado à solução aquosa de Vitamina C na concentração de 40mg/mL
Experimental 5 (exp5)	Solução aquosa de vitamina C na concentração de 40 mg/mL

**Tabela 2. Peso corporal de animais tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.**

Parâmetros	Controle	Exp1	Exp2	Exp3	Exp4	Exp5
N° de animais tratados	6	6	6	6	6	6
Peso corporal (g)						
Dia 0	21,68 ± 3,33	23,51 ± 8,06	26,13 ± 3,36	29,18 ± 1,62	27,34 ± 2,70	30,96 ± 3,0
Dia 14	33,07 ± 3,7	33,77 ± 4,69	30,87 ± 3,4	31,84 ± 0,9	31,37 ± 2,42	31,88 ± 1,77
Peso corporal corrigido <sup>a</sup>	11,38 ± 1,31	12,68 ± 4,53	4,74 ± 1,14 *d	2,73 ± 1,51* <sup>d</sup>	4,02 ± 3,16* <sup>d</sup>	2,95 ± 1,47 *d

Os dados estão expressos em média ± desvio padrão; <sup>a</sup> Peso corporal corrigido: peso corporal dos animais no 14º dia menos o peso corporal do 1º dia; \* Diferença significativa em relação ao controle; <sup>d</sup> Diferença significativa em relação ao exp 1; <sup>e</sup> Diferença significativa em relação ao exp 2; <sup>f</sup> Diferença significativa em relação ao exp 3; <sup>g</sup> Diferença significativa em relação ao exp 4.

**Tabela 3.** Peso de órgãos dos animais tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.

Parâmetros	Controle	Exp1	Exp2	Exp3	Exp4	Exp5
Nº de animais tratados	6	6	6	6	6	6
Peso dos órgãos no dia 14 (g)						
Fígado(Absoluto) <sup>b</sup>	1,69 ± 0,32	1,81 ± 0,17	1,63 ± 0,26	1,64 ± 0,41	1,59 ± 0,09	1,56 ± 0,14
Fígado(Relativo) <sup>c</sup>	14,98 ± 2,79	15,98 ± 6,41	36,0 ± 8,86	70,25 ± 30,67 <sup>*d</sup>	76,64 ± 64,48 <sup>*d</sup>	69,60 ± 44,73 <sup>*d</sup>
Rim <sup>b</sup>	0,52 ± 0,06	0,42 ± 0,05	0,37 ± 0,03 <sup>*</sup>	0,47 ± 0,010 <sup>e</sup>	0,43 ± 0,09	0,48 ± 0,02 <sup>fe</sup>
(Relativo) <sup>c</sup>	4,64 ± 0,88	3,68 ± 1,27	8,19 ± 2,18	21,84 ± 11,52 <sup>*de</sup>	20,66 ± 16,45 <sup>*de</sup>	22,82 ± 16,73 <sup>*de</sup>
Baço <sup>b</sup>	0,17 ± 0,05	0,14 ± 0,018	0,41 ± 0,40 <sup>*</sup>	0,19 ± 0,08 <sup>e</sup>	0,14 ± 0,05 <sup>e</sup>	0,14 ± 0,03 <sup>e</sup>
(Relativo) <sup>c</sup>	1,56 ± 0,55	1,30 ± 0,52	9,86 ± 10,39 <sup>*d</sup>	7,50 ± 3,04	6,42 ± 6,47	6,42 ± 4,80
Cérebro <sup>b</sup>	0,43 ± 0,08	0,38 ± 0,09	0,28 ± 0,02 <sup>*</sup>	0,38 ± 0,06	0,30 ± 0,09 <sup>*</sup>	0,41 ± 0,07 <sup>g</sup>
(Relativo) <sup>c</sup>	3,83 ± 0,96	3,16 ± 0,74	6,23 ± 1,35	17,09 ± 8,24	16,08 ± 14,52	20,06 ± 15,56 <sup>*de</sup>

Os dados estão expressos em média ± desvio padrão; <sup>a</sup> Peso corporal corrigido: peso corporal dos animais no 14º dia menos o peso corporal do 1º dia; <sup>\*</sup> Diferença significativa em relação ao controle; <sup>d</sup> Diferença significativa em relação ao exp 1; <sup>e</sup> Diferença significativa em relação ao exp 2; <sup>f</sup> Diferença significativa em relação ao exp 3; <sup>g</sup> Diferença significativa em relação ao exp 4.

**Tabela 4.** Análise histológica do tecido hepático dos grupos tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.

Parâmetro	Grupos												Valor p						
	Controle			Exp1			Exp2			Exp3				Exp4			Exp5		
	0	1	2 3	0	1	2 3	0	1	2 3	0	1	2 3		0	1	2 3	0	1	2 3
Necrose	2	4	- -	3	2	- -	2	3	- -	4	2	- -	2	3	- -	5	1	- -	0,6271
Congestão Vascular	-	3	3 -	-	4	1 -	-	3	2 -	-	2	3 1	-	1	3 1	-	2	3 1	0,3423
Megalocitose	3	3	- -	3	2	- -	2	3	- -	4	2	- -	2	3	- -	2	4	- -	0,9008
Infiltração Celular	-	3	3 -	-	4	1 -	-	3	2 -	-	4	2 -	-	1	4 -	1	4	1 -	0,2694
Eosinofilia	6	-	- -	5	-	- -	4	1	- -	6	-	- -	5	-	- -	6	-	- -	0,9923
Vacualização citoplasmática	5	1	- -	5	-	- -	5	-	- -	6	-	- -	2	2	1 -	6	-	- -	0,4940
Hipercromatismo	6	-	- -	5	-	- -	5	-	- -	6	-	- -	5	-	- -	6	-	- -	1
Dilatação Sinusoidal	2	4	- -	2	3	- -	-	3	2 -	3	3	- -	2	2	1 -	4	2	- -	0,1882

Diferença considerada significativa quando  $p < 0,05$  pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

**Tabela 5.** Análise histológica do tecido renal dos grupos tratados com o extrato aquoso de *Camellia sinensis* nas doses de 0,5%; 10%; 0,5% associado à vitamina C; 10% associado à vitamina C e na vitamina C.

Parâmetro	Grupos												Valor p												
	Controle				Exp1				Exp2					Exp3				Exp4				Exp5			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Tumefação celular	2	4	-	-	1	3	1	-	2	3	-	-	1	5	-	-	1	4	-	-	3	3	-	-	0,7145
Vacuolização Citoplasmática	4	2	-	-	4	1	-	-	5	-	-	-	5	1	-	-	5	-	-	-	5	1	-	-	0,9357
Congestão vascular	-	6	-	-	5	-	-	-	-	4	1	-	-	6	-	-	1	4	-	-	-	5	1	-	0,2231
Dilatação tubular	5	1	-	-	5	-	-	-	3	2	-	-	5	1	-	-	4	1	-	-	4	2	-	-	0,9114
Células apoptóticas	6	-	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-	6	-	-	-	5	-	-	-	6	-	-	-	1
Espaço de filtração	3	3	-	-	2	2	1	-	1	3	1	-	1	5	-	-	-	5	-	-	2	4	-	-	0,6219