



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

HIANNE CRISTINNE DE MORAIS MEDEIROS

ANÁLISE DO EFEITO QUIMIOPROTETOR DA *Carmellia sinensis* (L.) Kuntze (CHÁ VERDE) SOBRE MODELO EXPERIMENTAL DE INDUÇÃO CARCINOGENÉTICA EM RATOS

**Campina Grande-PB
2014**

HIANNE CRISTINNE DE MORAIS MEDEIROS

ANÁLISE DO EFEITO QUIMIOPROTETOR DA *Carmellia sinensis* (L.) Kuntze (CHÁ VERDE) SOBRE MODELO EXPERIMENTAL DE INDUÇÃO CARCINOGENÉTICA EM RATOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Odontologia, pelo curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB – Campus I – Campina Grande-PB.

Orientadora: Prof^a Dr^a Daliana Queiroga de Castro Gomes

Campina Grande-PB
2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

M488a Medeiros, Hianne Cristinne de Morais.
Análise do efeito quimioprotetor da *Carmellia sinensis* (L.)
Kuntze (Chá Verde) sobre modelo experimental de indução
carcinogênica em ratos [manuscrito] / Hianne Cristinne de Morais
Medeiros. - 2014.
34 p. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia)
- Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas
e da Saúde, 2014.
"Orientação: Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes,
Departamento de Odontologia".

1. *Carmellia sinensis*. 2. Câncer oral. 3. Chá verde. 4.
Neoplasias. I. Título.

21. ed. CDD 616.992

HIANNE CRISTINNE DE MORAIS MEDEIROS

ANÁLISE DO EFEITO QUIMIOPROTETOR DA *Carmellia sinensis* (L.) Kuntze (CHÁ VERDE) SOBRE MODELO EXPERIMENTAL DE INDUÇÃO CARCINOGENICA EM RATOS

Aprovado em 16/07/2014

BANCA EXAMINADORA


Profª Drª Daliana Queiroga de Castro Gomes (UEPB)
(Orientadora)


Profª Drª Edja Maria Melo de Brito Costa
(1ª Examinadora)


Prof. Dr. Cassiano Francisco Weege Nonaka
(2º Examinador)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de conclusão de curso a minha Orientadora, Daliana Queiroga, pelo exemplo de profissionalismo e de humanidade com o qual me guiou até aqui. Dela faço meu espelho, reflexo dos passos que quero seguir para me tornar uma profissional diferenciada.

AGRADECIMENTOS

Acima de qualquer gratidão, está o agradecimento ao Pai, alimento da minha fé e fonte de todas as oportunidades que me trouxeram até aqui. Agradeço a minha mãe, Ana Cristina de Moraes Medeiros, pelo amor, cuidado, exemplo de integridade e senso de responsabilidade; Ao meu pai, Denildo Marinho de Moraes Medeiros, pelo empenho de sempre me proporcionar o melhor, fruto de amor incondicional. Aos meus pais, agradeço principalmente o incentivo e o voto de confiança, que fomentam o meu desejo de ser cada vez melhor, crescendo principalmente, em sabedoria e humildade.

À toda minha família, pelo apoio em todas as necessidades, e pelo colo, fonte indiscutível de renovação das minhas forças. Agradeço em especial, às minhas tias, exemplos de mulheres batalhadoras e sábias e grandes incentivadoras dos meus sonhos; À Rosimere Fernandes Evaristo, minha segunda mãe, que nunca deixou de orar em minha intenção e à quem eu tenho uma admiração sem medidas. À minha tia Dorinha, que se tornou luz, mas que foi peça fundamental na minha formação acadêmica, pois sei que todas minhas conquistas possuíam um toque de suas orações constantes, sempre para os outros e pouco para si. Saudades Eternas Titia.

Aos meus amigos e colegas de curso, pela amizade que esteve sempre presente nas horas necessárias e pelas fortes torcidas organizadas em todos os meus passos em direção aos meus objetivos; À Daiany Catão, minha dupla durante todo o curso, e companheira fiel; Á Deborah Ellen e Manuel Henrique, que participaram diretamente deste trabalho, sendo a importância desta ajuda de valor indiscutível. Ao meu namorado, Igor Emiliano, pelo companheirismo, paciência e cumplicidade, que também constituíram participação direta na conclusão deste trabalho.

Agradeço ainda a todos os outros participantes diretos e indiretos neste projeto, pois o trabalho em equipe é o que define o sucesso no final da caminhada. À Seu Paulino, que sempre teve prestação incondicional e sem o qual a realização deste trabalho não poderia ser feita; Ao CNPq e UEPB, pelo financiamento e apoio a esta pesquisa; À minha orientadora, a quem dediquei este trabalho; À Ana Luzia e Denise, do laboratório de patologia, sempre solícitas a nos ajudar. E ao professor Cassiano Nonaka, pela disposição de seu auxílio durante a obtenção dos resultados desta pesquisa.

Muito Obrigada!

RESUMO

O objetivo desta pesquisa consistiu na análise do efeito quimioprotetor do chá verde sobre modelo experimental de indução carcinogênica em ratos pela 4-Nitroquinolina-N-óxido (4NQO). A amostra do estudo foi composta de 36 ratos wistar divididos em 3 grupos de acordo com a duração da indução pela 4NQO e 4 subgrupos de acordo com o início da aplicação tópica do chá verde. Foi utilizada 4NQO diluída a 0,05% em propilenolol no dorso da língua dos ratos, com o auxílio de um pincel. O procedimento foi realizado quatro vezes por semana, e, de acordo com o intervalo de tempo 5, 6 e 7 meses, foi classificado respectivamente nos subgrupos: A, B e C. Quanto ao extrato glicólico do chá verde, foi utilizado em uma concentração de 5%, e aplicado na mucosa lingual sob a forma de gel com frequência semanal e intervalos de tempo semelhantes aos da 4NQO. Após análise macroscópica, observou-se que as lesões leucoplásicas foram mais frequentes em todos os grupos, seguidas das lesões pigmentadas, eritematosas e ulceradas. A incidência de alterações clínicas aumentou de maneira progressiva e teve relação diretamente proporcional ao aumento tempo de indução carcinogênica pela 4NQO, porém sem diferença quanto ao tempo de aplicação do chá verde. Do universo de 35 ratos, 18 (51,4%) desenvolveram algum tipo de lesão. No entanto, os grupos que apresentaram maior número absoluto e relativo de lesões, foi o C. Após análise descritiva da avaliação clínica neste estudo, foi possível concluir que a aplicação do extrato glicólico de chá verde não influenciou na indução destas lesões; a 4NQO possuiu ação sobre o tecido capaz de ocasionar alterações clinicamente detectáveis e a frequência da incidência destas foi diretamente relacionada ao aumento do seu tempo de indução.

Palavras-chave: *Carmellia sinensis*; Câncer Oral; 4-Nitroquinolina-N-óxido (4NQO)

LISTA DE ABREVIATURAS

4NQO: 4-nitroquinoline-1- óxido.....	13
<i>Carmelia Sinensis:</i> Chá Verde.....	13
CCE: Carcinoma de Células Escamosas.....	14
DBMA: 7,12 dimetilbenzoantraceno.....	13
DNA: Ácido desoxirribonucleico.....	13
EC: Epicatequina.....	17
EGC: Epigallocatequina.....	17
EGCG: 3-galato- epigallocatequina.....	17
FCM: Faculdade de Ciências Médicas.....	20
HPA: Hidrocarboretos Policíclicos Aromáticos.....	28
HPV: Papiloma Vírus Humano.....	12
INCA: Instituto Nacional do Câncer.....	12
UEPB: Universidade Estadual da Paraíba.....	22
UFCG: Universidade Federal de Campina Grande.....	20

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Divisão dos grupos de acordo com a aplicação do chá verde..... 20

Quadro 2: Subdivisão dos grupos de acordo com a duração da indução carcinogênica pela 4NQO..... 21

Quadro 3: Composição do gel a base de extrato glicólico de chá verde..... 21

Quadro 4: Composição do óxido de nitroquinolina..... 22

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas nos casos com 5 meses de indução carcinogênica (Grupo A)..... 24
- Tabela 2.** Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas nos casos com 6 meses de indução carcinogênica (Grupo B)..... 25
- Tabela 3.** Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas nos casos com 7 meses de indução carcinogênica (Grupo C)..... 25
- Tabela 4.** Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas em todos os grupos..... 27
- Tabela 5.** Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas de acordo com a aplicação de chá verde..... 27

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Língua sem presença de alterações clínicas..... 26
- Figura 2:** Mácula leucoplásicas associada à erosão na região anterior da língua... 26
- Figura 3:** mácula pigmentada em região anterolateral..... 26
- Figura 4:** Úlcera na região lateral da língua..... 26

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. CÂNCER ORAL	14
2.2 INDUÇÃO CARCINOGENICA	15
2.3 CHÁ VERDE (<i>Carmellia sinensis</i> (L.) Kuntze)	17
3 OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4 METODOLOGIA	20
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	20
4.2 POSICIONAMENTO ÉTICO DA PESQUISA	20
4.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO E AMOSTRA	20
4.4 PADRONIZAÇÃO DO CHÁ VERDE E DA NITROQUINOLINA	21
4.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	22
4.6 ANÁLISE DOS DADOS	23
5 RESULTADOS	24
6 DISCUSSÃO	28
7 CONCLUSÃO	30
8 REFERÊNCIAS	31

ANEXO

1 INTRODUÇÃO

A modernização da condição de vida da população mundial, consequência do intenso desenvolvimento tecnológico e da industrialização, tem como agravante a maior exposição dos indivíduos aos fatores de risco relacionados a doenças. A utilização de agrotóxicos, pesticidas e aditivos alimentares, o aumento da poluição ambiental e os hábitos tabagistas, são exemplos que, associados ao aumento progressivo da expectativa de vida, contribuem para a mudança no perfil de morbimortalidade, provocando um aumento nas doenças crônico-degenerativas, dentre elas, o câncer (BRASIL, 2014).

As altas taxas de incidência e mortalidade são responsáveis pela caracterização do câncer como problema de Saúde Pública mundial, sendo esta patologia responsável por mais de seis milhões de óbitos por ano, tanto em países desenvolvidos quanto nos países em desenvolvimento. Estes índices ocorrem devido a hábitos como etilismo e tabagismo, além da exposição ao Papilomavírus Humano (HPV) e à radiação solar. A região de cabeça e pescoço é o local mais frequentemente acometido, correspondendo a mais de 10% da totalidade de neoplasias malignas no mundo. Os tumores malignos, nesta área, podem apresentar crescimento exagerado e provocar disfunções na respiração, fonação e alimentação do paciente, além de comprometimento estético, resultando em sequelas psicossociais para estes (ZANDONAL *et al.*, 2010; BRASIL, 2012; FERREIRA *et al.*, 2012).

Em relação ao câncer de boca, no Brasil, em 2012 foram notificados 14.170 casos, sendo 9.990 homens e 4.180 mulheres. Estima-se que, na região Nordeste, este tipo de câncer atinja o 5º lugar nos índices de mortalidade nas próximas décadas. Além disso, o câncer oral é mais prevalente em uma faixa etária relativamente jovem, entre 40 e 60 anos de vida, elucidando a importância do estudo desta patologia enquanto problema a ser solucionado (BORGES, 2009; INCA, 2013; SILVA *et al.*, 2013)

Com o objetivo de entender melhor a carcinogênese e sua associação com fatores externos, vários estudos utilizando modelos *in vitro* de indução carcinogênica estão sendo realizados. Este processo consiste na utilização de compostos químicos sobre tecido animal ou cultura de células humanas, a fim de produzir alterações celulares de origem neoplásica, desde hiperkeratoses e displasias, até carcinomas

invasivos. Atualmente, as substâncias mais utilizadas para indução do câncer oral são o 7,12 dimetilbenzoantraceno (DBMA) e o 4-nitroquinoline-1- óxido (4NQO). Vários estudos elucidaram vantagens do 4NQO em relação ao DBMA, especialmente na capacidade de resultar em lesões neoplásicas verdadeiras e não em processos inflamatórios (MONGUETTI *et al.*, 2006; FARIA, 2006; HENRIQUES *et al.*, 2011).

O índice de mortalidade pelo câncer de boca corresponde a menos de 30% dos casos novos, o que significa um prognóstico razoável. A sobrevida média, a qual possui estimativa mundial de cinco anos, representa aproximadamente 46% dos indivíduos que possuem esta patologia. Tais dados reforçam a necessidade de desenvolvimento de ações de prevenção do câncer oral e capacitação dos cirurgiões dentista quanto ao diagnóstico precoce, visando um prognóstico mais favorável para os pacientes (FOSP, 2008; INCA, 2013; BULGARELI *et al.*, 2013)

A *Carmelia Sinensis* (chá verde) é constituída por substâncias que apresentam funções anticarcinogênicas e antineoplásicas. Os mecanismos complexos de interação entre os componentes do chá e das células resultam em proteção frente à liberação de radicais livres prejudiciais ao ácido desoxirribonucleico (DNA) celular. Além disto, quando ocorre falha nesta proteção resultando em mutação genética, o chá verde atua na indução da apoptose celular, evitando o crescimento tumoral (SCHMITZ *et al.*, 2005).

Com base nas informações apresentadas, esta pesquisa tem como objetivo a análise morfológica do efeito quimioprotetor da *Carmelia Sinensis* (Chá Verde) sobre modelo de indução carcinogênica pelo Óxido de Nitroquinolina

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CÂNCER ORAL

O câncer é responsável por 11,4% das mortes registradas no Brasil, o que o torna um problema de saúde pública nacional. Tumores da cavidade oral representam 4% das doenças neoplásicas, ocupando o 8º lugar entre os cânceres nos homens e o 11º em mulheres. Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), a estimativa para taxa de incidência do câncer oral no Brasil no ano de 2014 é de 11,54 novos casos a cada 100 mil homens e 3,92 a cada 100 mil mulheres. O carcinoma de células escamosas (CCE) representa de 90% a 95% dos casos de câncer oral registrados, sendo a neoplasia de cabeça e pescoço mais comum. Este tipo de câncer acomete mais a língua e assoalho oral e está fortemente relacionado ao tabagismo (SPARA, SPARA, COSTA, 2005; OLIVEIRA *et al.* 2008; WÜNSCH *et al.*, 2010; BRASIL, 2014).

Em geral, as lesões são detectadas apresentando aproximadamente 2,0 cm de diâmetro e são caracterizadas por ulcerações endurecidas, de aspecto invasivo, sem sintomatologia dolorosa, de crescimento lento e progressivo. A intervenção cirúrgica associada à radioterapia é o tratamento mais eficaz para as neoplasias malignas localizadas na região de cabeça e pescoço, podendo ou não ser associada à quimioterapia ou imunoterapia como medidas complementares (ANGELIS *et al.* ,2000; OLIVEIRA *et al.*, 2005; BRASIL, 2012; HUANG; O'SULLIVAN, 2013).

O diagnóstico tardio do câncer oral está associado à ausência de sintomas, à falta de informação da população e à frequente confusão de profissionais de saúde não especialistas, em diagnosticar lesões neoplásicas malignas como lesões de origem inflamatória. Geralmente, lesões diagnosticadas tardiamente possuem maior crescimento, acarretando comprometimento da estética e das funções vitais, como alimentação, fonação e respiração. Desta forma, as consequências do tratamento mutilador pode ter influência direta na auto percepção do indivíduo quanto ao seu papel social e resultar em graves sequelas psicossociais, como ansiedade e depressão (OLIVEIRA *et al.*, 2005; BRASIL, 2012; SILVA *et al.*, 2014; COSTA; CHAVES, 2014)

A conscientização quanto à exposição aos fatores de risco e a elaboração de políticas que visem o diagnóstico precoce da doença são medidas práticas que favorecem a prevenção ou a um melhor prognóstico do câncer oral. No Brasil, os

programas preventivos visam à capacitação da população pelos cirurgiões dentistas para realização do autoexame da boca, objetivando identificação de lesões iniciais, além de campanhas antitabagismo e antielitismo, fatores amplamente associados à etiologia deste tipo de neoplasia (ANTUNES *et al.*, 2007; WÜNSCH *et al.*, 2010; FRANÇA *et al.*, 2010).

2.1 INDUÇÃO CARCINOGENICA

Os mecanismos envolvidos na etiologia do câncer ainda não são completamente conhecidos. Devido a isto, vários estudos estão sendo realizados visando à obtenção de modelos de carcinogênese *in vivo*, de forma a permitir melhor análise da cronologia, características moleculares e aspectos genéticos envolvidos neste processo (TANG *et al.*, 2004; FARIAS, 2006; HENRIQUES *et al.*, 2011; MARTÍNEZ, 2012; LI *et al.*, 2013).

Na cavidade oral, a indução carcinogênica foi relatada pela primeira vez por Salley (1954). Este processo envolve três etapas: iniciação, promoção e progressão. A primeira resulta da resposta celular à exposição ao carcinógeno, em que os agentes iniciadores irão agir no DNA celular, resultando em mutações genéticas irreversíveis. Na segunda etapa, ocorre a atuação dos promotores sobre o crescimento tumoral, por meio da estimulação das células modificadas pelos agentes iniciadores. Por fim, há persistência da proliferação celular, desregulamentação do crescimento, podendo ainda resultar em crescimento autônomo (MARTÍNEZ, 2012).

As substâncias mais utilizadas para indução do câncer oral é o 7,12 dimetilbenzoantraceno (DBMA) e o 4-nitroquinoline-1-óxido (4NQO). Alterações neoplásicas aparecem simultaneamente à necrose tecidual quando o DBMA é aplicado, dificultando a distinção das alterações epiteliais. Em contrapartida, a aplicação de 4NQO, além de não resultar em necrose, produz alteração neoplásica com diferenciação celular semelhante à observada nos humanos (TANG *et al.*, 2004; MONGUETTI *et al.*, 2006; FARIA, 2006; HENRIQUES *et al.*, 2011).

A carcinogênese induzida pela 4NQO é produzida sequencialmente, incluindo fases de hiperkeratose, hiperplasia, displasia em diversos graus, carcinoma *in situ* e CCE. Isto ocorre devido às reações da substância com os tecidos, resultando em estresse oxidativo, liberando peróxidos e superóxidos que atuam no DNA, causando

alterações irreversíveis (KANOJIA, VAIDYA, 2006; HENRIQUES *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2013).

O processo da carcinogênese é melhor estudado em ratos e camundongos, devido a semelhança da mucosa oral destes animais à mucosa oral humana, especialmente no palato e na língua. Nos ratos, as lesões malignas são acompanhadas por infiltrado inflamatório, que pode contribuir para o desenvolvimento das neoplasias, e concomitantemente para o efeito antagônico de proteção para malignidade. Sendo, portanto, os carcinomas induzidos em ratos, lesões malignas com menos potencial invasivo e melhor diferenciação (MACDONALD, 1981; NAUTA *et al.*, 1996; SILVEIRA *et al.*, 2010).

Li *et al.*(2013) realizaram um estudo em ratos BALB/c, utilizando 4NQO como indutor carcinogênico, com o objetivo de desenvolver CCE e analisar fator de tempo associado à metástases linfonodais nas lesões induzidas. Os ratos foram expostos ao óxido de nitroquinolina diluído em água durante 20 semanas, depois acompanhados para observação da progressão das lesões. A partir da 26ª semana, foram realizados acessos aos linfonodos metastáticos regionais. A incidência de carcinoma epidermóide na cavidade oral foi de 68,8% entre a 25ª e a 32ª semana e de 100% entre a 33ª e 40ª semana. Quanto à presença de metástase regional nestes mesmos intervalos, as taxas de incidência foram 12,5% e 100%, respectivamente. Através deste estudo, foi possível concluir que a 4NQO é um agente carcinogênico capaz de simular o desenvolvimento de CCE.

Em 2011, Henriques *et al.* realizaram um estudo experimental com ratos wistar, por meio do qual concluíram que o 4NQO possui ação carcinogênica capaz de simular sequencialmente o processo que envolve a carcinogênese oral. Este efeito foi associado ao tempo de exposição dos tecidos orais ao agente, como demonstrado no estudo de Li *et al.* (2013). Os ratos, que possuíram maior tempo de exposição, apresentaram alterações clínicas mais significativas que os demais ratos. Desta forma, os resultados permitiram afirmar que os modelos experimentais de indução do câncer oral em ratos por 4 NQO são eficazes na simulação dos estágios iniciais da carcinogênese, sendo de grande relevância para facilitar os estudos desenvolvidos nesta área.

2.3 CHÁ VERDE (*Carmellia sinensis* (L.) Kuntze)

A prevenção do câncer pode resultar em uma diminuição do alto índice de mortalidade e morbidade, além da redução dos custos hospitalares e da utilização de alternativas menos agressivas para o tratamento desta patologia. Com base nisso, inúmeros estudos estão sendo realizados com o objetivo de identificar potencial anticarcinogênico e antineoplásico em algumas substâncias, principalmente de origem natural, que possam auxiliar no tratamento da doença, bem como na redução dos efeitos colaterais causados por esta (TSAO *et al.*, 2009; LEE, CHOI, 2011; PINHEIRO *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2011)

A *Carmellia sinensis* (L.) Kuntze é uma planta perene do tipo arbustiva, possui origem asiática e é cultivada em mais de 30 países em todo o mundo há mais de 50 anos. No Brasil, seu cultivo ocorre principalmente na região do Vale do Ribeira no estado de São Paulo, onde é utilizado para fazer chá preto. A constituição fotoquímica de suas folhas é diretamente influenciada por fatores como: clima, estação do ano, práticas de cultivo, espécie e idade da planta. Popularmente, é mais pela produção de chá verde, possui destaque devido ao seu potencial, confirmado por alguns estudos, como quimioprotetor, dificultando a indução carcinogênica. Mais recentemente, o efeito modulador desta planta também está sendo avaliado com resultados positivos, este mecanismo consiste na apoptose das células neoplásicas e na prevenção de mutações no DNA celular. (SCHIMITZ *et al.*, 2005; TSAO *et al.*, 2009; LEE, CHOI, 2011; SILVA *et al.*, 2013).

A associação do chá verde com a prevenção do câncer é referida devido à sua constituição, que possui como base os flavonoides e as catequinas. Estes primeiros apresentam propriedades medicinais importantes, como ação antioxidante, antiinflamatória, antialérgica e anticarcinogênica. Por sua vez, as catequinas estão subdivididas em epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC) e galato-3-epigallocatequina (EGCG), as quais correspondem, aproximadamente, 26,7% dos compostos presentes neste chá. Dentre estas, a EGCG e ECG apresentam maior eficiência no potencial quimioprotetor e antioxidante. A EGCG, além de possuir as mesmas funções dos flavonoides, apresentam ainda efeito antineoplásico e antiangiogênico, induzindo apoptose das células cancerígenas, inibindo as metaloproteinases envolvidas na invasão do tumor e metástases, ativando os inibidores específicos do ciclo celular e a ainda inibindo a transcrição do DNA com

mutações (RICE-EVANS et al., 1996; SCHMITZ et al., 2005; KUZUHARA et al., 2006; LEE, CHOI, 2011).

Em um estudo clínico randomizado, Tsao *et al.*, 2009 acompanharam grupos de pacientes que apresentavam lesões pré-malignas, os quais receberam durante 12 semanas, três doses diárias de placebo ou de chá verde em diferentes concentrações. Os resultados demonstraram que 28,5% dos usuários de chá verde não apresentaram evolução das lesões, sendo superior a taxa de resposta clínica do grupo placebo, em que 18,2% não evoluiu. Além disso, os autores puderam concluir que o chá verde possui efeito dose-dependente, tendo em vista que os pacientes submetidos a maiores concentrações do chá, obtiveram melhor resposta clínica do que os submetidos à menores concentrações.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito quimioprotetor do chá verde sobre modelo experimental de indução carcinogênica em ratos pela 4-Nitroquinolina-N-óxido (4NQO) durante intervalos de tempo variáveis

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar clinicamente as alterações produzidas pela 4NQO nos intervalos de 5,6 e 7 meses;
- Avaliar os resultados obtidos quando há aplicação tópica de chá verde prévio a indução carcinogênica;
- Avaliar os resultados obtidos, quando há aplicação simultânea do chá verde e do indutor carcinogênico;
- Analisar os efeitos do chá verde sobre as alterações clinicamente detectáveis.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental *in vivo*, analítico-quantitativo, por meio da avaliação clínica da indução carcinogênica pela 4NQO em ratos, e sua associação com a aplicação do extrato glicólico de *Carmellia sinensis* (L.) Kuntze (chá verde).

4.2 POSICIONAMENTO ÉTICO DA PESQUISA

O presente estudo foi encaminhado ao Comitê de Ética e Experimentação em Animais da Faculdade de Ciências Médicas (FCM), em Campina Grande, e aprovado em 26 de dezembro de 2012, registrado no protocolo: 0025/26122012 (Anexo 1).

4.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO E AMOSTRA

A amostra consistiu de um total de 36 ratos *Wistar* reproduzidos em condições de temperatura e alimentação ideais no biotério da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) para finalidade de experimentação científica. Os ratos foram alocados em quatro grupos simétricos, de acordo com o período de aplicação do chá verde, como exposto no Quadro 1. Cada grupo foi ainda subdividido em três subgrupos de três ratos (A, B e C), de acordo com o tempo de indução carcinogênica pela 4NQO(Quadro 2)., o qual foi modificado do estudo de Henriques *et al*, 2011 com o objetivo de simular estágios mais avançados da carcinogênese. É relevante salientar que a amostra final foi composta de 35 ratos, tendo em vista que um rato do grupo B2 foi a óbito antes que o tempo de indução fosse completado.

Quadro 1: Divisão dos grupos de acordo com a aplicação do chá verde.

Grupo 1 (Controle)	Não houve aplicação do chá verde, apenas indução carcinogênica
Grupo 2	Aplicação do chá verde realizada 15 dias antes da indução carcinogênica
Grupo 3	Aplicação do chá verde simultânea a indução carcinogênica
Grupo 4	Aplicação do chá verde apenas após o aparecimento de lesões clínicas no grupo

Quadro 2: Subdivisão dos grupos de acordo com a duração da indução carcinogênica pela 4NQO.

Subgrupo A	Indução realizada por 5 meses
Subgrupo B	Indução realizada por 6 meses
Subgrupo C	Indução realizada por 7 meses

4.4 PADRONIZAÇÃO DO CHÁ VERDE E DO ÓXIDO DE NITROQUINOLINA

O chá verde foi obtido em farmácia de manipulação através da diluição do aristoflex avc e acido poliacrilico na agua purificada sob alta agitação, com posterior adição de metilparabeno em glicerina e incorporação do extrato glicólico de chá verde. A composição discriminada do gel utilizado encontra-se no Quadro 3.

Quadro 3. Composição do gel a base de extrato glicólico de chá verde.

COMPONENTE	CONCENTRAÇÃO	FUNÇÃO
Ácido Poliacrilico	5%	Polímero formador de gel e adesividade
Aristoflex Avc	3%	Polímero formador de gel
Glicerina	50%	Solubilizante
Metil Parabeno	0,1%	Conservante
Extrato Chá Verde	5%	Princípio ativo
Trietanolamina	QS	Alcalinizante ph=5
Água Purificada	100%	Veículo

A nitroquinolina foi pesada e triturada pra que houvesse posterior diluição em propilenoglicol, a fim de obter uma concentração de 0,05%. Por fim, a solução foi

homogeneizada e acondicionada em recipiente de vidro devidamente rotulado. A composição detalhada do óxido de nitroquinolina encontrasse em evidência no Quadro 4.

Quadro 4. Composição do óxido de nitroquinolina.

COMPONENTE	CONCENTRAÇÃO	FUNÇÃO
NITROQUINOLINA	0,05%	PRINCÍPIO ATIVO
PROPILENOGLICOL	QS	SOLUBILIZANTE/VEÍCULO

4.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O extrato glicólico do chá verde foi utilizado em uma concentração de 5% e, aplicado na mucosa lingual sob a forma de gel, para que houvesse maior tempo de contato. O início da aplicação do chá verde variou de acordo com os grupos apresentados na Tabela 1, sendo a frequência de aplicação de quatro vezes na semana. A indução carcinogênica teve metodologia adaptada do estudo realizado por Henriques *et al.* (2011). A 4NQO diluída a 0,05% em propilenoglicol foi aplicada no dorso da língua dos ratos, com o auxílio de um pincel. Este procedimento também foi realizado quatro vezes por semana durante intervalos de tempo variantes de acordo com os subgrupos (A, B ou C), aos quais os 36 ratos pertenciam (Tabela 2). Após a aplicação, os ratos eram privados de água por cinco horas para melhor difusão do agente carcinógeno pela mucosa oral.

Para eutanásia dos ratos, foi utilizada uma superdosagem de anestésico neuriléptico (5 ml de Acepran 0,2%). As biópsias foram realizadas da exérese completa das línguas, as quais foram submetidas ao exame macroscópico minucioso para identificação de lesões clínicas. Posteriormente, foram armazenadas em formol a 10% até que houvesse o processamento para confecção das lâminas. A inclusão em parafina e posterior microtomia, seguiram os protocolos preconizados pelo laboratório de patologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Por fim, realizou-se a coloração das lâminas histopatológicas utilizando hematoxilina e eosina, de acordo com o mesmo protocolo supracitado.

4.6 ANÁLISE DOS DADOS

Até o momento da apresentação deste trabalho, a análise histopatológica não pode ser concluída. Os dados apresentados e discutidos foram baseados na análise macroscópica que ocorreu após as biópsias. A análise dos dados fundamentou-se apenas em estatística descritiva da frequência de lesões clínicas detectadas.

5 RESULTADOS

O grupo A, o qual foi submetido à indução durante 5 meses, apresentou clinicamente maior frequência de lesões maculosas leucoplásicas. O maior número de alterações clinicamente detectáveis foi encontrado no grupo A2 em que dois de três ratos apresentavam lesões em língua. O menor número foi representado pelo grupo A3, em que nenhum rato apresentou alterações (Tabela1).

Tabela 3. Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas nos casos com 5 meses de indução carcinogênica (Grupo A).

Grupo	Tipo de Lesão Clínica Detectada				
	Sem Lesão Clínica n(%)	Leucoplásica n(%)	Pigmentada n(%)	Ulcerada n(%)	Eritematosa n(%)
A1	2 (66,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (33,3)	0 (0,0)
A2	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)
A3	3 (10,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
A4	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	8 (66,7)	2 (16,6)	1 (8,3)	1 (8,3)	0 (0,0)

Com relação ao grupo em que a indução carcinogênica ocorreu durante 6 meses, grupo B, as lesões mais observadas consistiram em máculas leucoplásicas ou pigmentadas. No subgrupo de maior frequência de alterações, B4, observaram-se alterações clínicas em dois ratos, e no de menor frequência, o B2, não foram encontradas alterações visíveis, como demonstrado na Tabela 2.

No grupo C, que teve tempo de indução pela 4NQO de 7 meses, as lesões maculosas leucoplásicas foram mais frequentes e o número de ratos que não apresentou alterações clínicas foi bastante reduzido em relação aos outros grupos. A frequência de incidência de lesões detectadas encontra-se na Tabela 3.

Tabela 4. Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas nos casos com 6 meses de indução carcinogênica (Grupo B).

Grupo	Tipo de Lesão Clínica Detectada				
	Sem Lesão Clínica n(%)	Leucoplásica n(%)	Pigmentada n(%)	Ulcerada n(%)	Eritematosa n(%)
B1	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
B2	1 (50,0)	0 (0,0)	1(50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
B3	2 (66,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1(33,3)
B4	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	6 (54,5)	2 (18,2)	2 (18,2)	0 (0,0)	1(9,1)

Tabela 3. Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas nos casos com 7 meses de indução carcinogênica (Grupo C)

Grupo	Tipo de Lesão Clínica Detectada				
	Sem Lesão Clínica n(%)	Leucoplásica n(%)	Pigmentada n(%)	Ulcerada n(%)	Eritematosa n(%)
C1	1(33,3)	2 (66,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
C2	0 (0,0)	2 (66,7)	1(33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)
C3	1(33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (66,7)
C4	1 (33,3)	0 (0,0)	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0,0)
Total	3 (25,0)	4 (33,3)	2 (16,7)	1 (8,3)	2(16,7)

De forma geral, as lesões leucoplásicas (Figura 2) foram mais frequentes em todos os grupos, seguidas das lesões pigmentadas (Figura 3), eritematosas e ulceradas (Figura 4). A incidência de alterações clínicas aumentou de maneira progressiva e teve relação diretamente proporcional ao aumento tempo de indução carcinogênica através da 4NQO. Desta forma, os grupos que apresentam maior número absoluto e relativo de lesões, em ordem decrescente, foram C, B e A (Tabela 4), sendo que do universo de 35 ratos, 18 (51,4%), apresentaram algum tipo de lesão durante a realização da análise macroscópica.



Figura 2: Língua sem presença de alterações clínicas



Figura 2: Mácula leucoplásica associada à erosão na região anterior da língua



Figura 3: mácula pigmentada em região anterolateral



Figura 4: Úlcera na região lateral da língua

Tabela 4. Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas em todos os grupos.

Grupo	Frequência das lesões clínicas				
	Leucoplásica	Pigmentada	Ulcerada	Eritematosa	Total
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
A	2 (16,6)	1 (8,3)	1 (8,3)	0 (0,0)	4(33,3)
B	2 (18,2)	2 (18,2)	0 (0,0)	1(9,1)	5 (45,4)
C	4 (33,3)	2 (16,7)	1 (8,3)	2(16,7)	9 (75,0)
Total	8(22,8)	5 (14,3)	2 (4,7)	3 (8,6)	18 (51,4)

Com relação ao efeito do chá verde como preventivo à indução do câncer oral, não houve diferença na ocorrência de lesões clínicas nos ratos que receberam o extrato glicólico do chá em comparação aos que não receberam este extrato (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição absoluta e relativa das lesões clínicas de acordo com a aplicação de chá verde.

Subgrupos	Frequência das lesões clínicas				
	Leucoplásica	Pigmentada	Ulcerada	Eritematosa	Total
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
1	3 (33,3)	0 (0,0)	1 (11,1)	0 (0,0)	4(44,4)
2	3 (37,5)	3 (37,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (75%)
3	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (33,3)	3 (33,3)
4	2 (25,0)	2 (25,0)	1 (11,1)	0 (0,0)	5 (55,5)

6 DISCUSSÃO

Experimentos envolvendo animais contribuem para desenvolvimento dos conhecimentos acerca da prevenção e do tratamento de doenças, além de auxiliar na identificação de marcadores de diagnóstico precoce e permitir uma melhor compreensão da biologia e da genética *in vivo* de iniciação, promoção, progressão e metástase na carcinogênese (MARTINEZ, 2012).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são as substâncias mais estudadas na indução carcinogênica em modelos experimentais, dentre estes, destacam-se o DBMA e a 4NQO. Um estudo realizado por Dias *et al.* (1999) elucidou em seus resultados que a administração de DBMA por via oral possui maior indução nas glândulas mamárias. Outro estudo experimental, realizado por Vered *et al.* (2003), concluiu que a utilização da 4NQO por via oral apresenta maior indução na mucosa da língua e glândulas salivares menores sublinguais, fato que justifica a escolha do carcinógeno e da via de administração neste estudo.

Por meio de um estudo experimental, Ribeiro, Salvadori (2007) concluíram que o 4NQO é capaz de induzir os estágios sequenciais da carcinogênese, sendo estes: hiperplasia, displasias leves e moderadas, displasia severa, carcinoma *in situ* e CCE. Resultado que corrobora com o estudo desenvolvido por Minnicuci *et al.* (2011).

No presente estudo, a análise macroscópica das línguas após a biópsias apontou que a maioria das lesões induzidas pelo óxido de nitroquinolina são leucoplásicas (22,8%), resultado que está de acordo com os encontrados por Tang *et al.* (2004) e Henriques *et al.* (2011).

O aumento da frequência das lesões clínicas diretamente proporcional ao aumento do tempo de indução carcinogênica encontrado neste estudo, em que os grupos induzido por 5, 6 e 7 meses, possuíram incidência de alterações macroscópicas correspondentes à 33,3%, 45,4% e 75%, reafirma os resultados encontrados por Li *et al.* (2013).

Whitfield *et al.* (2006) e Tsantoulis (2007) ponderaram que o tempo necessário para indução de lesões teciduais clinicamente detectáveis é de aproximadamente 5 a 7 meses, o que está de acordo com os dados encontrados neste estudo, em que as alterações teciduais puderam ser observadas desde os 5 meses de indução carcinogênica.

Segundo Katiyar *et al.* (2001), a catequina ECGC, presente na composição do chá verde, mostrou-se a maior responsável pelo efeito quimioprotetor deste. Em seu estudo, concluíram que a aplicação desta proteína sobre a pele de ratos previne a formação de lesões malignas induzidas pelos raios UVB.

Em um estudo de coorte que durou 13 anos, Nakachi, Eguchi e Imai (2003) analisaram o efeito do chá verde em pessoas de idade inferior a 79 anos e concluíram que os indivíduos que tomavam altas doses do chá diariamente possuíam menor risco de morte por câncer e por doenças relacionadas ao envelhecimento.

O óxido de nitroquinolina possui atividade carcinogênica, pois liberam radicais livres que causam danos às células expostas. Porém, segundo Schimtz *et al.* (2005), as catequinas contidas no chá verde possuem um mecanismo de transferência de elétrons delas próprias para as espécies reativas de oxigênio, estabilizando estes compostos e evitando o dano celular.

Em 2008, Araújo estudou a atividade mutagênica da doxorubicina e concluiu que o chá verde além de possuir atividade de proteção contra as mutações gênicas, possui ainda atividade de recombinação gênica, diminuindo a formação de células tumorais.

Em contrapartida aos resultados positivos encontrados na literatura, os resultados obtidos durante o exame macroscópico neste estudo, não demonstraram diferença na incidência de lesões nos ratos que receberam o extrato glicólico do chá verde, corroborando com o estudo desenvolvido por Schimitz *et al.* (2011), o qual analisou o efeito do chá verde frente a um agente hepatóxico Dietrilnitrozamina e não encontrou associação relevante na prevenção do dano celular frente a este agente.

Todavia, para que se possa analisar de forma acurada o efeito preventivo e, principalmente, o efeito modulador deste chá, torna-se necessária a análise e interpretação dos dados a serem alcançados através dos resultados histopatológicos.

7 CONCLUSÕES

Após análise descritiva da avaliação clínica neste estudo, foi possível concluir que o 4NQO possuiu ação sobre o tecido capaz de ocasionar alterações clinicamente detectáveis e, que a frequência da incidência destas foi diretamente relacionada ao aumento do seu tempo de indução. Além disso, a aplicação do extrato glicólico de chá verde não influenciou na indução destas lesões. Porém, é de extrema relevância a obtenção dos resultados histopatológicos para que se associe, ou não, o chá verde à prevenção e modulação do câncer oral induzido em ratos.

8 REFERÊNCIAS

ANGELIS, EC *et al.* A atuação da fonoaudiologia no câncer de cabeça e pescoço. **Lovise**; São Paulo, 2000

ANTUNES et al. Resolutividade da campanha de prevenção e diagnóstico precoce do câncer bucal em São Paulo, Brasil. **Rev Panam Salud Publica** v. 27, 2007

ARAÚJO, B.C. **Efeito protetor do chá verde(Carmélia sinensis) contra a ação genotóxica da doxorrubina em células somáticas de Drosophila Melanogaster** (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal de Uberlândia, 2008

BORGES, D. Mortalidade por câncer de boca e condição socioeconômica no Brasil Rio de Janeiro. **Cad. Saúde Pública.** Rio de Janeiro, v.25, n10, p 321-327, 2009

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer oral no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2012. Disponível em: <http://www.inca.org.br> . Acesso em 22/06/2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estimativas da incidência por câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2014. Disponível em: <http://www.inca.org.br> . Acesso em 22/06/2014.

BULGARELI *et a.* Prevenção e detecção do câncer bucal: planejamento participativo como estratégia para ampliação da cobertura populacional em idosos. **Ciênc. saúde coletiva** vol.18 n.12 Rio de Janeiro Dec. 2013

COSTA, A.I; CHAVES, M.D. Percepção da ansiedade em pacientes oncológicos sob o tratamento quimioterápico. **Revol** v8 p. 649-53, 2014

DIAS M et al..Benign and malignant mammary tumors induced by DMBA in female wistar rats. **Eur J Gynaecol Oncol.** 1999;

FARIAS PR. Carcinogênese bucal induzida pelo 4NQO em línguas de camundongos knockout para o gene galectina-3.(Tese de Doutorado) Universidade Federal do Triângulo Mineiro, 2006

FERREIRA et al. Desigualdade social no adoecimento e morte por câncer de boca e orofaríngeo no município de São Paulo, Brasil: 1997 a 2008. **Cad. Saúde Pública** vol.28 n.9 Rio de Janeiro , 2012.

FRANÇA et al. Programa de diagnóstico e prevenção de câncer de boca: Uma estratégia simples e eficaz. **Rev Odontol Bras Central,** v.19 p.49, 2010

Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP). **Relatório da Campanha de Prevenção e Diagnóstico Precoce do Câncer Bucal.** São Paulo: FOSP; 2008.

HENRIQUES et al. Análise morfológica da mucosa oral de ratos submetida à carcinogênese experimental pelo óxido de nitroquinolina (4NQO). **Pesq Bras Odontoped Clin Integr,** v.1 n.1, João Pessoa, 2011.

HUANG, S;H; O'SULLIVAN, B. Oral cancer: Current role of radiotherapy and chemotherapy. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal** v.18 p.233-240 2013.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Atlas de mortalidade por câncer. Disponível em: <http://www.inca.org.br> . Acesso em: 22/06/14 , 2013

KANOJIA D, VAIDYA MM. 4 – Nitroquinoline – 1- oxide induced experimental oral carcinogenesis. **Oral Oncol**, v.42 p.655-667, 2006

KATIYAR SK *et al.* Green tea polyphenols: DNA photodamage and photoimmunology. **J Photochem Photobiol B** v.6 p. 3864–3869, 2001

KUZUHARA T, Sei Y, Yamaguchi K, Suganuma M & Fujiki H. DNA and RNA as new binding targets of green tea catechins. **Jou of Bio Chem** v. 200, p.17446-17456 2006

LEE UL, CHOI SW. The chemopreventive properties and therapeutic modulation of green tea polyphenols in oral squamous cell carcinoma. **ISRN Oncology**, 403707: 2011

LI J. *et al.* Development of a 4-nitroquinoline-1-oxide model of lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncology**, v.49, p 299-305, 2013.

MACDONALD, D. G. Comparison of epithelial dysplasia in hamster cheek pouch carcinogenesis and human oral mucosa. **J. Oral Pathol.**, v.10 p.186-91, 1981

MARTINEZ, C.A.R. 4NQ Carcinogenesis: a model of oral squamous cell carcinoma. **Int. J. Morphol.** v.30,. p.. 309-314. 2012

MINICUCCI *et al.* The role of TP53 gene during rats tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1 oxide. **Exp. Toxicol. Pathol** v63 n5, 2011

MONGETTI *et al.* Animal models in oral cancer research. **Oral Oncol**, v.42 p. 448-460, 2006

NAKACHI K, EGUCHI H, IMAI K Can tea time increase one's lifetime ? **Ageing Research Review** v2 p.1-10. 2003

NAUTA, J. M.; ROODENBURG, J. L.; NIKKELS, P. G.; WITJES, M. J. & VERMEY A. Epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma of wistar rat palatal mucosa: 4NQO model. **Head Neck**, 18:441-9, 1996.

OLIVEIRA *et al.* Qualidade de vida de pacientes pós-cirúrgicos de tumores malignos da cabeça e pescoço. **Rev. Ciênc. Méd** v 14, p 523-38,2005

OLIVEIRA,C.E *et al.*Características sociodemográficas da mortalidade por câncer de boca em Bauru, SP, no período de 1991 a 2001: uso de geoprocessamento. **Rev. bras. epidemiol.** vol.11 n.2 São Paulo Jun. 2008

PINHEIRO, S. M. S. *et al.* Conhecimentos e Diagnóstico em Câncer Bucal entre Profissionais de Odontologia de Jequié, Bahia. **Rev Bras de Cancerol.** v.56, n.2, p.195-205.2010.

RIBEIRO, D.A.; SALVADORI, D.M. Gingival changes in wistar rats after treatment with 4-nitroquinolina 1 oxide. **Eur J Dent** v1 n3 p. 157, 2007

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Rad Bio& Med**, New York, v.20, p.933-956, 1996

- SALLEY, J. J. Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the Syrian hamster. **J Dent Res**, v. 33, n. 2, p. 253-62, Apr 1954.
- SANTOS, I. V. et al. O papel do cirurgião-dentista em relação ao câncer de boca. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, v.10, n.3, p.207-210 jul./set., 2011.
- SCHIMITZ et al. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. :**Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 26, n. 2, p.119-130,. 2005
- SCHIMITZ et al. Ação quimioprotetora do chá verde em ratos tratados com Dietilnitrosamina. **Semina:Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 223-234, 2011
- SILVA *et al.* Avaliação da qualidade de amostras de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae) comercializadas no município de Araras – SP. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.** v. 34 p. 245-50, 2013
- SILVA *et al.* Depressão em adultos com câncer. **Cien. Atual** v.2 p. 4-14. 2014
- SILVA et al. Perfil epidemiológico dos pacientes com câncer de boca e orofaringe atendidos no Hospital Aristides Maltez no período entre 2000 e 2006. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v.12, especial, p.411-418,.2013
- SILVEIRA et al. Analysis of local immunity in squamous cell carcinoma of the tongue and lower lip. **Exp Mol Pathol** v.88 p171-175, 2010
- SPARA L, SPARA P, COSTA AG. Achados epidemiológicos de câncer da cavidade oral em hospital de referência avaliados no período de 1980-2003. **Odontologia. Clín.-Científ** v.4 p.177-183.Recife, 2005.
- TANG et al. Oral cavity and esophageal carcinogenesis modeled in carcinogen-treated mice. **Clin Cancer Res**, v.10 p 301-313, 2004
- TSAO et al. Phase II randomized, placebo-controlled trial of green tea extract in patients with high-risk oral premalignant lesions. **Cancer Prev Res**, v.2 p.931-941 2009.
- TSANTOULIS PK. Advances in the biology of oral cancer. **Oral Oncol** v.43 p.523-34 2007
- VERED M *et al* and morphometric changes in minorsalivary glands of the rat tongue during 4-nitroquinoline-1-oxide-induced carcinogenesis. **Oral Oncol.** v 39 p.491-6, 2003
- WHITFIELD ML *et al.* Common markers of proliferati on. **Nat Rev Cancer** v.6 p.99-106 2006;
- WÜNSCH *et al.* Tabagismo e câncer no Brasil: evidências e perspectivas. **Rev. bras. epidemiol.** vol.13 n.2 São Paulo, 2010.
- ZANDONAL et al. Qualidade de vida nos pacientes oncológicos: revisão integrativa da literatura latino-americana. **Rev. Eletr. Enf** v.12 p.554-561, 2010.

ANEXO



CENTRO DE ENSINO SUPERIOR E DESENVOLVIMENTO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE CAMPINA GRANDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/CESED

PARECER

CEUA: n° 11

NÚMERO DO PROJETO: 0025/26122012

APROVADO EM 26/12/2012

1. Pesquisador Responsável:

Daliana Queiroga de Castro Gomes

2. Título do Projeto:

Análise do efeito quimioprotetor e modulador da *Carmellia Sinensis* (L.)Kuntze (Chá Verde) sobre o câncer oral induzido em ratos.

3. Objetivo:

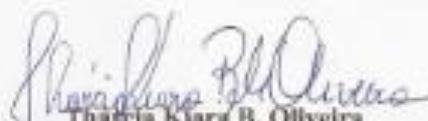
Analisar o efeito da *Carmellia Sinensis*(L.)Kuntze(chá verde) na prevenção e no tratamento de lesões malignas orais induzidas em ratos através da 4-nitroquinolino-1-óxido(4NQO).

4. Considerações:

O projeto apresentado está bem discriminado e coerente com as normas de utilização de animais. Cumprindo os requisitos da Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, e as demais normas aplicáveis à utilização de animais para o ensino e pesquisa, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. O protocolo de pesquisa está devidamente preenchido, com todos os itens solicitados entregue a CEUA/CESED.

5. Parecer Final:

APROVADO


Thárcia Klara B. Oliveira
Coordenadora CEUA/CESED