

AValiação DA TOXICIDADE DA ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO/ SULFATO FERROSO EM RATOS TRATADOS SUBCRONICAMENTE¹

*M. C Souza²
C. Locatelli.³*

RESUMO: A anemia mais comum que ocorre tanto em crianças quanto em adultos é a anemia ferropriva, a qual deve ser tratada pela administração de ferro. A maioria dos clínicos suplementa seus pacientes que apresentam anemia ferropriva com sulfato ferroso associado à vitamina C. A principal função desta associação é aumentar a absorção do ferro no intestino. No entanto, na presença de ferro a vitamina C através da reação de Fenton é convertida no íon ascorbato, potencialmente tóxico ao organismo. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade da associação vitamina C/sulfato ferroso em ratos tratados subcronicamente. Os ratos foram submetidos ao tratamento com a associação durante 30 dias. Após o término do tratamento os mesmos foram sacrificados, o sangue foi retirado por via intraocular, o fígado removido e realizado as dosagens bioquímicas. Verificamos que esta associação induz um aumento significativo na atividade da enzima hepática ALT, bem como da quantidade de peroxidação lipídica e diminuição de GSH. Sendo assim, podemos inferir que esta associação pode levar um dano hepático importante o qual pode estar relacionado a um quadro de estresse oxidativo. Desta forma, pode-se concluir que esta associação não apresenta segurança quando utilizada por longos períodos.

Palavras-chave: Toxicidade, Sulfato ferroso, Acido ascórbico.

ABSTRACT: The anemia that occurs much more common in children as in adults is iron deficiency anemia, which must be treated by administration of iron. Most clinicals supplement his anemic patients with association of iron and vitamin C. The main function of this association is to increase the absorption of iron in the intestine. However, in the presence of vitamin C to iron through the Fenton reaction is converted to ascorbate ion, potentially toxic to the body. The aim of this study was to evaluate the toxicity of the combination vitamin C / iron in subchronic treated rats. The rats were subjected to treatment with the combination for 30 days. After the finish of the treatment they were sacrificed, blood was withdrawn by intraocular, the liver removed and carried out the biochemical values. We found that this combination induces a significant increase in activity of the liver enzyme ALT and the amount of lipid peroxidation and decreased GSH. Thus, we can say that this association able to cause a significant liver damage which may be relationship of oxidative stress. Thus we can conclude that this association does not provide security when used for long periods.

Keywords: Toxicity, iron sulfate, ascorbic acid.

INTRODUÇÃO

A anemia é definida como um processo patológico no qual a concentração de hemoglobina (Hb), contida nos glóbulos vermelhos, encontra-se normalmente baixa, respeitando-se as variações segundo idade, sexo e altitude em relação ao nível do mar, em consequência de várias situações como infecções crônicas, problemas hereditários, carência de um ou mais nutrientes essenciais, necessários na formação da hemoglobina, como ácido fólico, vitaminas B12, B6, C e proteínas. Entretanto, não resta dúvida que a deficiência de ferro seja a responsável pela maior parte das anemias encontradas, sendo denominada de anemia ferropriva (QUEIROZ; TORRES, 2000).

A vitamina C ou ácido ascórbico (C₆H₈O₆) ou íon ascorbato, quando na forma ionizada, é uma molécula usada na hidroxilação de várias outras em reações bioquímicas nas células. A sua principal função é a hidroxilação do colágeno, a proteína fibrilar que dá resistência aos ossos, dentes, tendões e paredes dos vasos sanguíneos. Além disso, é um poderoso antioxidante, sendo usado para transformar os radicais livres de oxigênio em formas inertes. É também usado na síntese de algumas moléculas, que servem como hormônios ou neurotransmissores. Em casos de anemia ferropriva a vitamina C é geralmente associada ao ferro, pois isso favorece a absorção do mesmo pelo intestino. No entanto, na presença de excesso de ferro a vitamina C é oxidada através da reação de Fenton formando o íon ascorbato, o qual é potencialmente tóxico (GOODMAN, 1996)

Um paciente exposto ao tratamento crônico com ferro e vitamina C pode desenvolver um quadro de hemocromatose, uma doença na qual o corpo acumula quantidades excessivas de ferro (POWELL et al, 1999). Os efeitos deste excesso de ferro podem resultar em bronzeamento da pele, cirrose e diabetes, além de cardiopatias. As consequências desse acúmulo são bastante nocivas, pois o ferro oxida-se rapidamente, gerando radicais livres, os quais podem estar excessivamente aumentados quando o ferro é associado à vitamina C. O resultado do aumento nos radicais livres é o desenvolvimento de envelhecimento acelerado e prematuro, aumento na incidência de doenças cardíacas, câncer, diabetes, artrites e lesões hepáticas, principalmente se o indivíduo exposto a esta associação tiver um quadro de desnutrição (RIORDAN et al, 2002.) Portanto, o excesso de ferro e vitamina C são tóxicos, provocam várias consequências importantes como as doenças cardiovasculares e hepáticas, além de danos renais nos indivíduos sensíveis ao excesso de vitamina C.

O estresse oxidativo pode ser causado inclusive pelo excesso de ferro, muito comum na hemocromatose, o resultado disso é a peroxidação de ácidos graxos insaturados nas membranas lipídicas, um processo conhecido como peroxidação lipídica. Este processo promove grave alteração da membrana celular, causando perda da fluidez, alteração da função secretora e dos gradientes iônicos transmembrana. Além disso, tem sido observada perda da seletividade na troca iônica, com liberação do conteúdo de organelas, levando à formação de produtos citotóxicos até a morte celular (BEZERRA, et. al., 2004). Alguns pesquisadores inclusive tem correlacionado a toxicidade hepática de alguns anestésicos como o halotano com seu potencial de induzir um estresse oxidativo (BEZERRA, et al, 2004).

Os seres vivos estão continuamente expostos a compostos químicos naturais e/ou não-naturais a eles estranhos. Estes compostos são denominados xenobióticos e podem interagir de maneira deletéria ao organismo através da promoção de um estresse oxidativo. Portanto, os seres vivos desenvolveram importantes defesas que são denominadas defesas antioxidantes que atuam na detoxificação destes xenobióticos. Entre os mais importantes compostos antioxidantes encontra-se a glutatona (GSH). (HUBER; ALMEIDA, 2008)

A glutatona possui papel central na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo. Este tripeptídeo é encontrado intracelularmente em altas

concentrações, essencialmente em todos os organismos aeróbicos. Variações nos níveis de glutathione afetam diretamente a síntese de proteínas e de DNA. Oxidação ou depleção do GSH pode diminuir a síntese proteica. O GSH pode ser perdido de modo irreversível em situações de estresse oxidativo muito intenso, permanecendo na forma oxidada e não sendo novamente reduzido (UHLIG S; WENDEL A, 1992). Sendo assim, em situações de estresse intenso podemos observar alterações nas concentrações de GSH, a qual está diretamente relacionada com seu potencial tóxico.

Este trabalho tem como objetivo avaliar os possíveis efeitos tóxicos da associação Sulfato ferroso/vitamina C em ratos Wistar após tratamento subcrônico com esta associação, através da dosagem bioquímica de importantes metabólitos como uréia, creatinina, além da atividade das enzimas hepáticas e do teor de lipoperóxidos e GSH.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Para avaliação da atividade tóxica da associação sulfato ferroso/vitamina C o projeto foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UnC, baseando-se nos cuidados e princípios da ética de utilização de animais, os experimentos foram realizados. Foram utilizados ratos Wistar albinos com idade entre 8 e 9 semanas, fornecidos pelo biotério da Universidade do Contestado Campus Caçador. Os animais foram alojados em gaiolas de plástico (15X36X30 cm) forradas com serragem, a qual foi trocada a cada 3 dias para manutenção e higiene das gaiolas

Durante o período de permanência no biotério e durante o experimento os animais foram mantidos em gaiolas individuais e tiveram livre acesso à água e comida, foram mantidos em ambientes com temperatura entre $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ e ciclo de luz controlada (12h em 12h no escuro).

Dieta

Foi administrado ração por vias normais de 15 g/dia/animal. Os animais foram tratados durante 30 dias com a dieta normal, sendo que durante esse período começaram a receber o tratamento com associação de ferro e ácido ascórbico por via oral. Os animais foram divididos em 2 grupos: 1 grupo controle que recebeu apenas água destilada e 1 grupo tratado que recebeu a associação de sulfato ferroso/ácido ascórbico. Para cada grupo serão utilizados 5 animais totalizando 10 em cada experimento, que se repetiu periodicamente a cada 3 meses, finalizando 40 animais.

Drogas e soluções

Grupo controle

Foi utilizada água destilada como solução do grupo controle, administrado na quantidade de 2 ml/Kg

Grupo tratado

Para o experimento foram utilizados os seguintes fármacos: sulfato ferroso e ácido ascórbico (vitamina C). Na preparação da solução as drogas foram pesadas em balanças analíticas as seguintes quantidades: sulfato ferroso 2,6 mg/Kg de peso e ácido ascórbico 28 mg/Kg de peso que foram administrados diluídos em água destilada.

Administração por via oral

Para a administração via oral das drogas foi utilizada cânula de metal curvas com 6 mm de diâmetro (BRASMED – SP) adaptadas a uma seringa de 3 ml. As seringas foram devidamente preenchidas com a solução a ser administrada. A solução foi administrada através da previa imobilização dos animais introduzindo a cânula no esôfago, através do qual a solução foi administrada.

Avaliação dos parâmetros bioquímicos

No final do tratamento os animais foram anestesiados com éter etílico e o sangue foi coletado por via intra-ocular. Após a coleta o sangue foi centrifugado, separando-se o soro para a realização das dosagens bioquímicas. Foram utilizados kits para determinação dos parâmetros bioquímicos das enzimas hepáticas: ALT, AST, bilirrubina e para determinação de uréia e creatinina. Os princípios das dosagens bioquímicas baseiam-se em reações enzimáticas para diagnóstico *in vitro*.

Avaliação da peroxidação lipídica através da determinação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Este método baseia-se na oxidação provocada por espécies reativas de oxigênio, em biomoléculas como lipídios, carboidratos, ácidos nucleicos, levando à formação de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBA) monitoradas espectrofotometricamente a 535 nm. O nível da lipoperoxidação é indicado pela formação de malonaldeído (MDA) e outras substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS). O teste avalia o dano celular e é baseado no trabalho descrito por OHKAWA, *et al* (1979) e BIRD e DRAPER (1984).

Avaliação da concentração de glutatona reduzida (GSH)

A GSH foi quantificada usando-se o método proposto por Tietze (1969). Nesse método, os grupamentos sulfidrilas da GSH interagem com o ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzóico (DTNB), originando a GSTNB (forma oxidada de GSH). Concomitantemente à formação de GSTNB e GSH, há liberação de ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (TNB), um composto de coloração amarela. Sendo assim, a intensidade de cor produzida pelo TNB é diretamente proporcional à atividade da glutatona redutase sobre a GSTNB e dos níveis de GSH intracelular, a qual foi monitorada espectrofotometricamente em 412nm. Resumidamente, após o tratamento como descrito anteriormente os animais foram sacrificados e o fígado removido e retirado uma fatia de aproximadamente 0,1 g, a qual foi submetida a ação do ácido tricloroacético para obter-se o extrato ácido necessário para determinação da GSH.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A deficiência de ferro é a doença mais prevalente em humanos. É particularmente uma doença de crianças, mulheres jovens e pessoas mais velhas, mas ocorre em todas as pessoas de todas as idades e classes sociais. Muitas medidas preventivas têm sido preconizadas para evitar esta patologia principalmente em crianças e mulheres em idade fértil, entre elas podemos destacar a suplementação de ferro em farinhas utilizadas na alimentação de crianças em idade escolar (TIETZ, 2008).

Apesar das medidas preventivas esta patologia é muito comum e seu tratamento envolve principalmente a administração de sulfato ferroso. Muitos médicos preconizam a administração do sulfato ferroso associado ao ácido ascórbico (vitamina C), pois quando associados facilita a absorção do ferro no organismo, mas em contra partida esta associação pode levar a formação do íon ascorbato, o qual é muito reativo e pode causar sérios danos à saúde, entre eles o aparecimento de câncer hepático (MIRVISH, 1994).

Com o intuito de verificar a segurança desta associação submetemos ratos machos Wistar ao tratamento com sulfato ferroso/vitamina C na concentração 2,6/28 mg/Kg de peso durante 30 dias. Esta concentração e tempo de tratamento foram utilizados, pois se assemelha ao tratamento utilizado em humanos. Para verificar os possíveis danos e ou benefícios promovidos por esta associação coletamos o sangue dos animais no término do tratamento, bem como o fígado e os submetemos as análises abaixo.

Avaliação hematológica

Hematócrito é a percentagem ocupada pelas hemácias no volume total de sangue. Como podemos avaliar no gráfico abaixo há uma pequena diferença nos valores de hematócrito de ratos controle, que receberam apenas solução fisiológica por via oral, e tratados com a associação sulfato ferroso/vitamina C, no entanto esta diferença não é significativa (Figura 1). Estes valores indicam que não houve um aumento na síntese de hemácias nos animais tratados em relação aos animais controle, estes dados discordam dos encontrados por Chagas e Vall (2003) em peixes que receberam a suplementação alimentar com vitamina C, pois eles demonstraram que houve um aumento significativo nos valores de hematócrito dos animais tratados com vitamina C em comparação aos animais controle. Chagas e Vall (2003) também mostraram que ocorreu um aumento de peso dos animais que receberam suplementação com vitamina C, nossos dados também são contraditórios em relação a variação de peso dos animais controle e tratados, pois não houve uma diferença significativa de ganho de peso dos animais tratados quando comparados com os controle (resultados não mostrados).

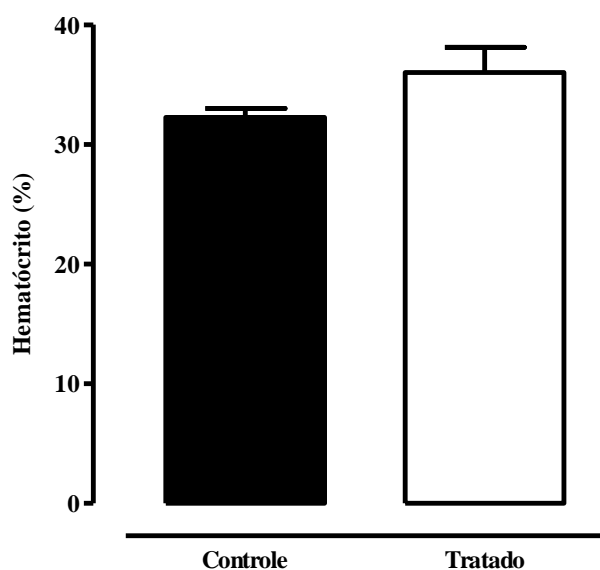


Figura 1. Valores de hematócrito de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso/vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M.

O ferro entra no organismo absorvido no intestino delgado e é transportado e armazenado pelas proteínas ferritina e transferrina respectivamente. A maior parte do ferro é reutilizada e pouco é excretado (TIETZ, 2008).

Como podemos verificar na figura 2 a suplementação de sulfato ferroso, associado à vitamina C promoveu um aumento significativo na concentração sérica de ferro dos animais tratados, bem como uma diminuição na capacidade de ligação total de ferro (Figura 3), estes dados são condizentes com estado de sobrecarga de ferro no organismo (TIETZ, 2008).

Um paciente exposto ao tratamento crônico com ferro pode desenvolver um quadro de hemocromatose, uma doença na qual o corpo acumula quantidades excessivas de ferro (POWELL et al, 1999). Os efeitos deste excesso de ferro podem resultar em bronzeamento da pele, cirrose e diabetes, além de cardiopatias. As conseqüências desse acúmulo são bastante nocivas, pois o ferro oxida-se rapidamente, gerando radicais livres, os quais podem estar excessivamente aumentados quando o ferro é associado à vitamina C. O resultado do aumento nos radicais livres é o desenvolvimento de envelhecimento acelerado e prematuro, aumento na incidência de doenças cardíacas, câncer, diabetes, artrites e lesões hepáticas, principalmente se o indivíduo exposto a esta associação tiver um quadro de desnutrição. (RIORDAN et al, 2002.)

O excesso de ferro e vitamina C é tóxico, provocam várias conseqüências importantes como as doenças cardiovasculares e hepáticas, além de danos renais nos indivíduos sensíveis ao excesso de vitamina C.

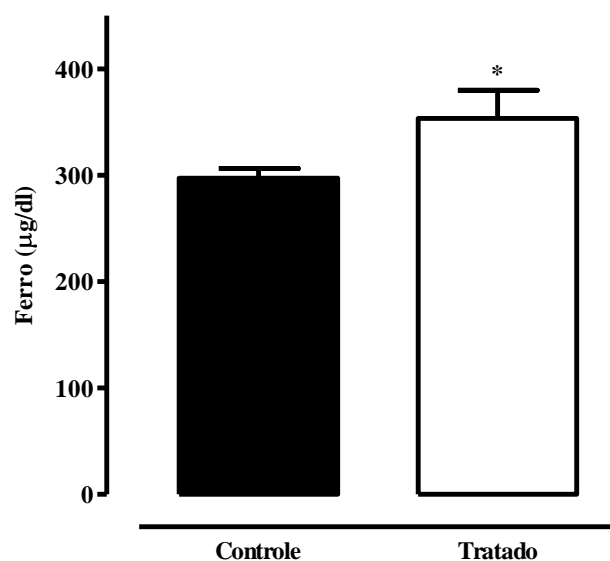


Figura 2. Valores médio de ferro de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M. * Diferença significativa $p > 0,05$.

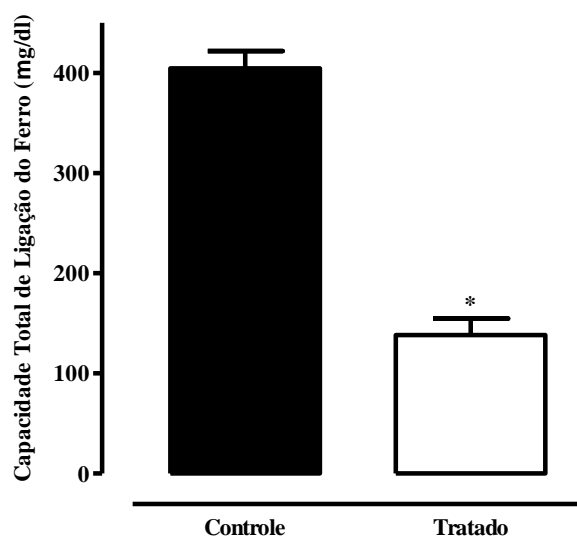


Figura 3. Valores médio de capacidade de ligação do ferro de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M. * Diferença significativa $p > 0,05$.

Avaliação bioquímica

A finalidade de se dosar a uréia e creatinina nos animais que receberam suplementação com a associação sulfato ferroso/vitamina C é avaliar a função renal. Valores aumentados indicam aumento da destruição de proteínas no organismo, como nas queimaduras extensas, patologia renal, obstrução

urinária (cálculo renal ou hipertrofia de próstata) ou redução do fluxo sanguíneo renal (desidratação). Valores diminuídos indicam desnutrição, hiperidratação ou lesão hepática severa (OM; HOHENEGGER, 1980).

As figuras 4 e 5 mostram os valores de uréia e creatinina dos animais tratados e controles, como podemos verificar a associação sulfato ferroso/vitamina C não foi capaz de induzir um dano renal. No entanto, quando avaliamos a função hepática verificamos um aumento significativo na enzima hepática ALT (Figura 7). Estes dados indicam um possível dano hepático promovido pela associação sulfato ferroso/vitamina C.

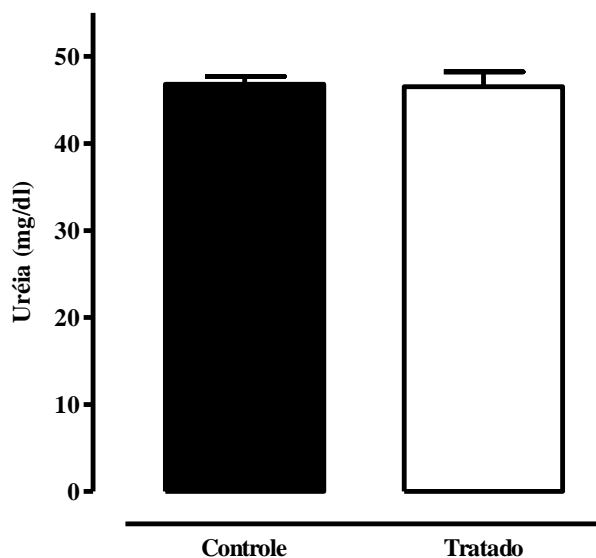


Figura 4. Valores médio de uréia de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média ± E.P.M.

ALT e AST são indicadores sensíveis de dano hepático em diferentes tipos de doenças. Mas deve ser enfatizado que ter níveis mais altos que o normal destas enzimas não indica, necessariamente, uma doença hepática estabelecida. Tais índices podem indicar algum problema, ou não. A interpretação dos níveis altos de ALT e AST depende do quadro clínico em geral (ROSALK, et al 1999).

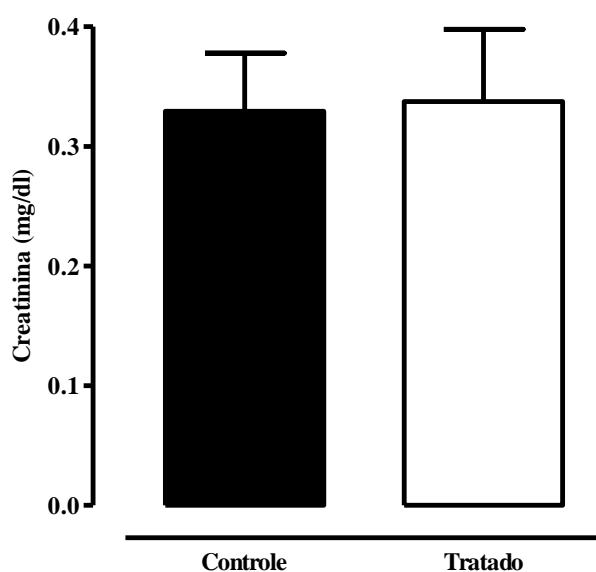


Figura 5. Valores médio de creatinina de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M.

O aumento da ALT está relacionado com o número de células envolvidas, ou seja, com a extensão, e não com a gravidade da lesão. Na realidade, mesmo uma lesão que não cause morte celular, pode ser suficiente para que ocorra a liberação de ALT na corrente sanguínea (ROSALK, et al 1999).

Na análise dos resultados deve-se levar em conta que a ALT tem um pico de liberação no sangue cerca de 3 ou 4 dias após a lesão, mas retorna aos valores basais cerca de 2 semanas após. A persistência de valores elevados por um período maior que este pode indicar o estabelecimento de uma patologia crônica como neoplasia ou hepatite. A AST, por ser uma enzima mitocondrial e citossólica, necessita uma lesão maior para que seja liberada na corrente sanguínea (ROSALK, et al 1999).

Portanto, os resultados aumentados de ALT podem estar indicando um dano hepático significativo, uma vez que quando avaliamos os níveis das substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) e glutatona (GSH) no tecido hepático verificamos diferenças significativas (Figuras 8 e 9).

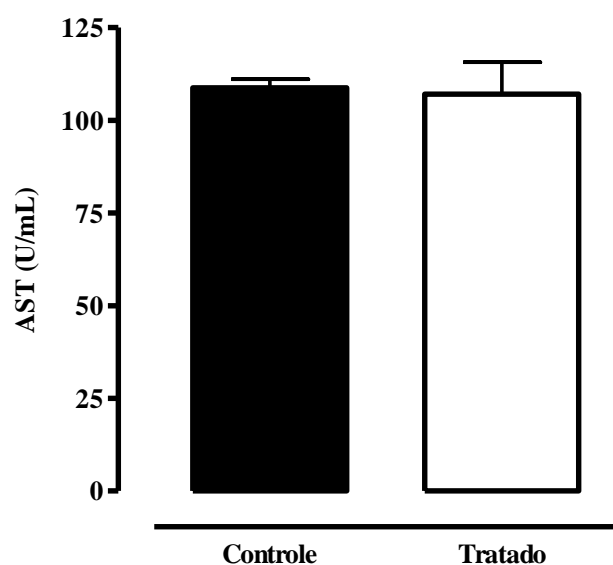


Figura 6. Valores médio de AST de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M.

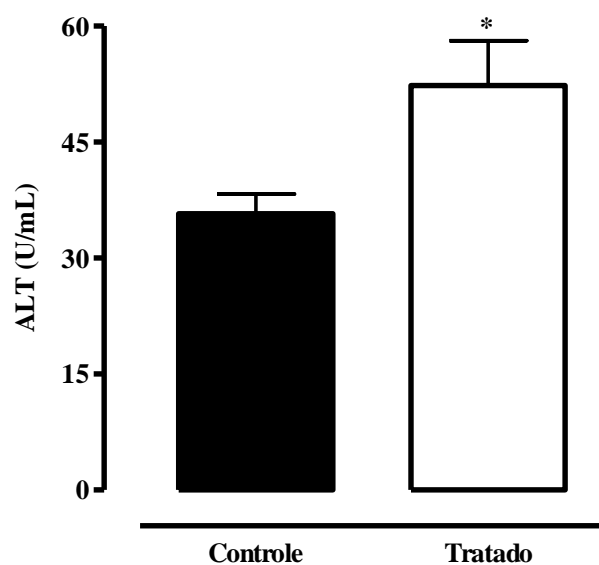


Figura 7. Valores médio de ALT de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M. * Diferença significativa $p > 0,05$.

Os resultados obtidos com as figuras 8 e 9 mostram que a associação sulfato ferroso/vitamina C pode apresentar importante toxicidade hepática promovendo um estresse oxidativo, uma vez que induziu um aumento significativo nos níveis de TBARS e uma diminuiu na concentração hepática de GSH, o maior antioxidante endógeno que atua nos processos de detoxificação.

A peroxidação dos lipídios das membranas celulares é apenas um exemplo de lesão biológica que pode ser promovida pelos radicais livres, uma vez que praticamente todas as biomoléculas são suscetíveis à oxidação (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989), condição demonstrada neste trabalho pelo aumento na concentração de TBARS e diminuição da concentração de GSH no tecido hepático.

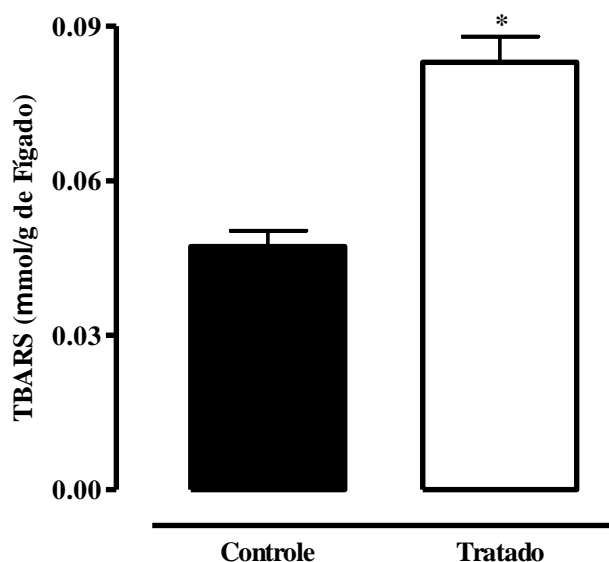


Figura 8. Valores médio de TBARS de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M. * Diferença significativa $p > 0,05$.

Este processo promove grave alteração da membrana celular, causando perda da fluidez, alteração da função secretora e dos gradientes iônicos transmembrana. Além disso, tem sido observada perda da seletividade na troca iônica, com liberação do conteúdo de organelas, levando à formação de produtos citotóxicos até a morte celular (BEZERRA et. al., 2004).

Trabalhos recentes têm correlacionado a toxicidade hepática e renal, provocada por anestésicos como o hidrocarboneto halogenado halotano e éteres como o isoflurano, ao ataque aos ácidos graxos polinsaturados, presentes nas membranas plasmáticas, pelas espécies reativas do oxigênio produzidas durante a biotransformação desses agentes, indicando ser esse um dos possíveis mecanismos responsáveis pelas lesões teciduais (BEZERRA, et. al., 2004).

A peroxidação lipídica induz um processo de estresse oxidativo, o qual promove um processo inflamatório o que pode levar uma progressão rápida no dano hepático induzido por esta associação e evidenciado pelo aumento da atividade da enzima ALT. Os resultados deste estudo demonstraram que a associação sulfato ferroso/vitamina C pode ser extremamente danosa ao organismo, uma vez que induz um aumento dos níveis de peroxidação lipídica, e a diminuição nos níveis de GSH, isso fortalece a hipótese relativa ao efeito oxidativo promovido por esta associação.

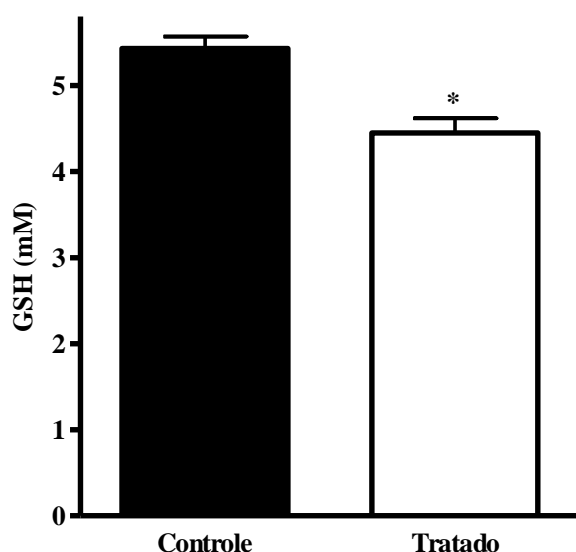


Figura 9. Valores médio de GSH de ratos Wistar machos controle (sem tratamento) e tratados com a associação de sulfato ferroso e vitamina C na concentração de 2,6 mg/Kg de peso e 28 mg/Kg respectivamente, durante 30 dias. Os valores estão expressos como Média \pm E.P.M. * Diferença significativa $p > 0,05$.

A glutathiona possui papel central na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo. Este tripeptídeo é encontrado intracelularmente em altas concentrações, essencialmente em todos os organismos aeróbicos. Nota-se a ligação γ -peptídica pouco usual, a presença da porção γ -glutamil e do grupo α -carboxilato livre prevenindo a hidrólise da GSH pelas peptidases celulares que degradam outros peptídeos pequenos (HUBER & ALMEIDA, 2008).

A produção de radicais livres, como o ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($HO\bullet$), é consequência natural da respiração aeróbica. Estas espécies podem causar danos estruturais a muitas biomoléculas, como lipídeos de membrana, DNA, proteínas, carboidratos etc. Os dados encontrados neste estudo mostram que a associação pode estar sendo danosa por promover um aumento de radicais livres no organismo.

CONCLUSÃO

Pela análise do hematócrito não se encontrou diferença, porém a capacidade de ligação do ferro observamos uma diferença extremamente significativa, além da concentração total de ferro que apresentou-se aumentada nos animais tratados, indicando que esta associação pode levar a um processo de excesso de ferro no organismo.

Com relação a toxicidade renal, podemos concluir que esta associação aparentemente não apresenta toxicidade renal, uma vez que a concentração plasmática de uréia e creatinina estão dentro dos valores normais encontrados nos animais controle.

Entretanto, a toxicidade hepática foi extremamente significativa, uma vez ocorreu um aumento importante na atividade da enzima hepática ALT, bem como na peroxidação lipídica indicando que esta associação induz um estresse oxidativo importante, pois reduziu significativamente a concentração hepática de GSH. Sendo assim, podemos dizer que esta associação não é segura para ser

administrada em humanos, pois pode causar sérios danos hepáticos quando administrada por um período prolongado.

REFERENCIAS

BEZERRA FJL, REZENDE AA, RODRIGUES SJ, ALMEIDA MG. Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido tiobarbitúrico como Indicador da Peroxidação Lipídica em Ratos Tratados com Sevoflurano. **Rev Bras Anestesiol**; 54: 5: 640 – 649, 2004

CHAGAS, E. C. ; VAL, A .L.; Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tampaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p. 397-402, 2003.

GOODMAN; GILMAN, A. **As bases da farmacologia terapeutica**. 6.ed. 1996

HALLIWELL, B. AND GUTTERIDGE, J.M.C., **Free Radicals in Biology and Medicine**. 2nd Edit ed., Clarendon Press, Oxford, 1989

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FATIMA, A.; Glutaciona e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 5, 1170-1179, 2008

MIRVISH, S. S., 1994. **Experimental evidence for inhibition of N-Nitroso compound formation as a factor in the negative correlation between vitamin C consumption and the incidence of certain cancers**. *Cancer Research*, 54:1948s-1951s.

OHKAWA H, OHISHI, N. AND YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analyse. Biochem**. 95 351-358, 1979

OM P, HOHENEGGER M. Energy metabolism in acute uremic rats. **Nephron**. 1980; 25(5):249-53

POWELL, L. W; SUBRAMANIAM, N; YAPP, TR. Haemochromatosis in the new millennium. **J Hepatol** 1999;32(suppl.1):48-62.

QUEIROZ, S. S., TORRES, M. A. A. Anemia ferropriva na infância. **J Pediatr** 76(Supl.3):s298-s304, 2000.

RIORDAN M, RYLANCE G, BERRY K. Poisoning in children: common medicines. **Arch Dis Child**; 87:400-2, 2002

ROSALKI, SB E MCINTYRE, N EM BIRCHER, J, BENHAMOU, JP et al. **Oxford Textbook of Clinical Hepatology**, Oxford Medical Publications,1999.

TIETZ, **Fundamentos de química clínica**. 6.ed. Editora Elsevier, 2008.

UHLIG S & WENDEL A. The physiological consequences of glutathione variations. **Life Sci** 51: 1083-1094, 1992.

¹ Comentário referente ao artigo: Artigo de conclusão de Projeto de Pesquisa financiado pelo Fundo de Apoio à Pesquisa (FAP) na forma de bolsa de pesquisa.

² Murilo Chiarello de Souza: acadêmico da 7ª fase do curso de Farmácia UnC/ Caçador. Fone: (49) 8822-2829 E-mail: hyperfast@hotmail.com UnC – Universidade do Contestado – Campus Caçador.

³ Claudriana Locatelli: professora orientadora MSc – UnC/ Caçador; Farmacêutica Bioquímica, professora de bioquímica e toxicologia na UnC – campus Caçador, Mestre em Farmácia FÁRMACO Medicamentos. Fone: (49) 9981-3322. E-mail: claudrilocatelli@gmail.com