

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS  
Faculdade de Medicina - Curso de Nutrição  
Trabalho de Conclusão de Curso

Gabriela Lima Pedroso

AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR E DO PESO  
CORPORAL EM RATOS WISTAR MACHOS  
TRATADOS COM EXTRATO AQUOSO DE *Ilex*  
*paraguariensis*

Porto Alegre, 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS  
Faculdade de Medicina - Curso de Nutrição  
Trabalho de Conclusão de Curso

Gabriela Lima Pedroso

AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR E DO PESO  
CORPORAL EM RATOS WISTAR MACHOS  
TRATADOS COM EXTRATO AQUOSO DE *Ilex*  
*paraguariensis*

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial  
para graduação em Nutrição

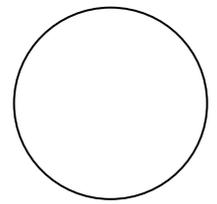
Orientador: Luiz Carlos Rios Kucharski

Co-orientadora: Roberta Hack Mendes

Porto Alegre, 2008

## **Agradecimentos**

Ao professor Luiz, por toda sua dedicação e pelas oportunidades que me ofereceu. A todos do laboratório 10, pelo incentivo e acolhida. Às bolsistas de iniciação científica, que me acompanharam e ajudaram neste trabalho. E a minha primeira e melhor orientadora de todas, minha mãe.



## RESUMO

**OBJETIVOS** Vários estudos têm apontado *Ilex paraguariensis* (erva mate) como coadjuvante no manejo da obesidade. O objetivo do trabalho foi avaliar a ingestão alimentar, peso corporal, volume da diurese, quantidade de gordura abdominal e triglicérides e colesterol total plasmáticos de ratos wistar machos tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. **METODOLOGIA** Foram formados dois grupos (n=6), um controle e outro experimental. O experimental recebia apenas o extrato como forma de hidratação e o controle, água. Todos receberam ração padrão à vontade. Para o preparo do extrato da erva misturava-se um litro de água aquecida à 80°C e 70g de erva mate. Em quinze minutos essa mistura era coada. Nos tempos zero, quatro e oito semanas, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas para avaliar a ingestão alimentar, hídrica, volume de diurese e fezes. Nesses mesmos períodos, era aferido o peso e coletadas amostras de sangue para quantificar triglicérides e colesterol total plasmáticos. Na análise estatística foi utilizado o teste t de student, para análise da quantidade de gordura abdominal, e análise de variância para amostras repetidas com o pós-teste de Tukey. P<0,05 foi considerado significativo. **RESULTADOS** Ingestão alimentar, hídrica, diurese, fezes e peso dos animais não apresentou diferença significativa entre os diferentes tempos de experimento nem entre os grupos experimentais. No grupo tratado, colesterol total e triglicérides apresentaram, após quatro semanas de tratamento uma diminuição significativa. A quantidade de gordura abdominal foi significativamente menor nos animais tratados. **CONCLUSÕES** O extrato da erva mate parece ter influência sobre o metabolismo dos lipídeos sem interferir no peso corporal nem na ingestão alimentar e hídrica.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*. Chimarrão. Erva mate.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>06</b>
1.1 ETNOBOTÂNICA DA PLANTA .....	6
1.2 BEBIDAS DE ERVA MATE .....	6
1.3 PROCESSAMENTO DA ERVA.....	7
1.4 COMPOSIÇÃO DO EXTRATO DE <i>Ilex paraguariensis</i> .....	8
1.5 EFEITOS METABÓLICOS DO CONSUMO DE MATE .....	9
1.6 EFEITO DAS METILXANTINAS.....	9
1.7 EFEITOS DOS DERIVADOS DE CAFEIOL .....	10
1.8 EFEITOS DAS SAPONINAS.....	10
1.9 EFEITOS DOS FLAVONÓIDES.....	11
1.10 EFEITOS NO PESO CORPORAL.....	12
1.11 EFEITOS TÓXICOS.....	13
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>15</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>4 MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
4.1 ESCOLHA DA ERVA MATE.....	16
4.2 EXTRATO DE <i>Ilex paraguariensis</i> .....	16
4.3 ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	17
4.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	17
4.5 PROTOCOLO DE ANÁLISE DA INGESTÃO HÍDRICA E ALIMENTAR E PESO .....	17
4.6 ANÁLISE DE LIPÍDEOS PLASMÁTICOS .....	18
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	18
4.8 BIOSSEGURANÇA .....	19
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>20</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	<b>28</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>29</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>33</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 ETNOBOTÂNICA DA PLANTA

O gênero *Ilex* (Aquifoliaceae) consiste em mais de 400 espécies. Eles têm folhas simples, singulares ou agrupadas, pequenas flores e bagas vermelhas, pretas ou amarelas (MUCCILLO BAISCH et al., 1998).

As espécies de *Ilex* (Aquifoliaceae) são árvores de médio à grande porte, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (GORZALCZANY et al., 2001). A árvore de *Ilex* pode alcançar até 18 metros de altura. Essa planta costuma florescer de outubro a novembro e dar frutos de março a junho. A planta requer um regime anual de não menos de 1200 mm de chuva. No entanto, é menos susceptível a variação de temperatura, resistindo até -6°C. O bom desenvolvimento das espécies da *Ilex paraguariensis* se dá em uma temperatura anual média de 21°C (HECK, MEJIA, 2007).

*Ilex paraguariensis* se desenvolve naturalmente no norte da Argentina, no sul do Brasil e no leste do Paraguai. Todos esses países, e também o Uruguai, cultivam a erva com fins comerciais (GORZALCZANY et al., 2001). A produção brasileira anual está em torno de 206 000t (IBGE, 1998). As partes aéreas da planta, basicamente as folhas, são vastamente utilizadas para preparar a bebida conhecida como “mate” (MOSIMANN et al., 2006).

## 1.2 BEBIDAS DE ERVA MATE

As folhas de *Ilex paraguariensis* são usadas para preparar diferentes bebidas como o chimarrão ou mate (feito com folhas verdes secas e água quente em uma vasilha chamada cuia), o tererê (feito com folhas verdes secas e água fria na mesma vasilha chamada cuia) e o chá de erva mate (folhas torradas com água quente, preparado como qualquer outra infusão de ervas) (MIRANDA et al., 2008).

O “mate” é uma bebida típica de muitos países sul-americanos (GUGLIUCCI, 1996). O consumo dessa bebida pelos indígenas vem desde antes da chegada do primeiro espanhol colonizador no século XVI (SANTOS et al., 2005).

É uma bebida apreciada por seu sabor amargo e propriedades estimulantes (MOSIMANN et al., 2006) e está ganhando penetração comercial em várias partes do mundo como a Europa, onde a erva mate é utilizada para chá. (MEJIA et al., 2005; HERNRICH, MALAVOLTA, 2001).

Nos países sul-americanos, o extrato de *Ilex paraguariensis* é consumido através do mate, em proporções que chegam a um litro por dia, por milhões de pessoas e constitui a principal alternativa ao café e chá (MOSIMANN et al., 2006).

### 1.3 PROCESSAMENTO DA ERVA

As folhas frescas da planta são submetidas a vários estágios de processamento antes de estarem prontas para a comercialização (HECK, MEJIA, 2007). As condições de processamento são bastante variadas, dependendo de cada produtor e do objetivo final em relação ao sabor e estilo do mate (BASTOS et al., 2006).

O processamento da erva mate ocorre em basicamente cinco etapas:

**Colheita:** São colhidos folhas e caules da planta e embalados. As embalagens são pesadas e transportadas para as próximas etapas do processamento;

**Sapeco:** O produto é rapidamente exposto ao fogo atingindo temperaturas de 500°C, permanecendo nessa temperatura pelo intervalo de dez segundos a um minuto.

**Secagem (Barbaqua):** Folhas, que já passaram pelo sapeco, são colocadas em câmaras onde há fumaça de madeira queimada e calor de 100°C. Nessa etapa do processamento, a quantidade de umidade das folhas passa de aproximadamente 11% para 4,5%. Essa etapa pode levar de oito a 24 horas para ser concluída.

**Envelhecimento (Cancheada):** As folhas de *Ilex paraguariensis*, agora já secas, são mantidas dentro de câmaras pelo período de 12 meses. É nessa etapa que a erva mate adquire algumas de suas características relacionadas ao sabor e aroma.

**Empacotamento:** Depois de passar por essas etapas, a erva é dividida conforme a quantidade desejada e embalada (HECK, MEJIA, 2007).

#### 1.4 COMPOSIÇÃO DO EXTRATO DE *Ilex paraguariensis*

A ingestão da infusão de *Ilex paraguariensis* pode ser uma importante fonte de minerais e vitaminas (HERNRICHS, MALAVOLTA, 2001), uma vez que a erva contém muitos componentes como os derivados de cafeiol (ácido caféico, o ácido clorogênico, ácido 3,4 - dicafeoilquínico, ácido 3,5 - dicafeoilquínico, e ácido 4,5 - dicafeoilquínico), flavonóides (quercetina, rutina e kaempferol), metilxantinas (cafeína, teofilina e teobromina) taninos e numerosas saponinas triterpênicas que são derivadas do ácido ursólico e são conhecidas como as saponinas do mate (PANG et al., 2008). A infusão da erva mate também contém minerais como fósforo, ferro, cálcio (GRAHAM, 1984) e várias vitaminas como tiamina e niacina, riboflavina, ácido pantotênico, C, E e beta-caroteno (BIXBY et al., 2005).

Algumas das espécies de *Ilex* podem ser utilizadas como substitutos da *Ilex paraguariensis* para a elaboração da erva mate, mas, dentre todas, esta é a espécie que contém as maiores quantidades de flavonóides (FILIP et al., 2001). Esses substitutos podem ser incorporados ao produto final da erva mate intencionalmente ou não, fazendo com que haja prejuízo na qualidade do mate pela diferente concentração de saponinas. As saponinas são as responsáveis por conferir o sabor amargo do mate e em concentrações maiores do que as habitualmente encontradas na *Ilex paraguariensis*, elas podem acentuar este sabor. Não somente as plantas utilizadas como substitutos para erva mate contêm grandes concentrações de saponinas, mas também as frutas de *Ilex paraguariensis* contêm altos níveis dessa substância. Se incorporadas a erva mate, prejudicam da mesma maneira a qualidade do mate (TAKETA, 2004).

É importante saber que a composição da erva mate varia conforme fatores como área geográfica onde a planta é cultivada, tipo de solo, água e fertilizantes, processo industrial, e condições de estocagem. Além disso, a viabilidade dos minerais no mate também depende da solubilidade dos compostos envolvidos, de como o mate é preparado (tempo de extração e temperatura) e ingerido (GIULIAN et al., 2007).

## 1.5 EFEITOS METABÓLICOS DO CONSUMO DE MATE

O mate foi usado na medicina popular para o tratamento de artrite, reumatismo e outras doenças inflamatórias, dores de cabeça, obesidade, hipertensão, doenças hepáticas e desordens intestinais. Além disso, especula-se que o mate seja diurético, hipocolesterolêmico e tenha propriedades lipolíticas (MOSIMANN et al., 2006). Numerosos fitoquímicos foram identificados como responsáveis pelos benefícios do mate na saúde e entre eles os dois mais citados são as metilxantinas e os polifenóis (HECK, MEJIA, 2007).

## 1.6 EFEITOS DAS METILXANTINAS

Xantinas são uma classe de alcalóides de purinas encontradas em diferentes plantas: no café, no chá e no chocolate. As xantinas encontradas no mate são teofilina, teobromina e cafeína (ATHAYDE, COELHO, SCHENKEL, 2000). Dessas três substâncias, a cafeína é a encontrada na maior concentração, 1% a 2% do peso seco, seguida por teobromina 0,3% a 0,9% do peso seco (ITO et al., 1997).

A cafeína (1,3,7 - trimetilxantina) é quimicamente relacionada com outras xantinas: teofilina (1,3 - dimetilxantina) e teobromina (3,7 - dimetilxantina). Elas se diferenciam pela potência de suas ações farmacológicas no sistema nervoso central (GEORGE, 2000). A cafeína está presente em uma grande quantidade de alimentos (cerca de 60 espécies de plantas no mundo contêm compostos do tipo metilxantina), é vastamente utilizada como substância psicoativa de bebidas (DESLANDES et al., 2004) e também nos remédios do tipo analgésicos, medicamentos contra gripe e inibidores de apetite (RANG, DALE, 1993). Esse alcalóide é, atualmente, o estimulante mais utilizado em alimentos, bebidas e medicamentos por ser barato e facilmente encontrado (PACHECO, 2007). Após a sua ingestão, a cafeína apresenta-se em concentração máxima na corrente sanguínea entre 15 e 120 minutos (SINCLAIR, GEIGER, 2000).

A teofilina, em comparação com as concentrações de teobromina e de cafeína, encontra-se em pequena quantidade nas folhas de *Ilex paraguariensis*.

Isso se deve a participação da teofilina no metabolismo da cafeína e teobromina (HECK, MEJIA, 2007). Essa participação foi demonstrada quando se encontrou teofilina radioativada nas moléculas de cafeína e de teobromina. A possível explicação para isso seria o envolvimento da teofilina na ressíntese da cafeína (ITO et al., 1997).

## 1.7 EFEITOS DOS DERIVADOS DE CAFEIOL

Os derivados de cafeiol encontrados no mate incluem ácido caféico, o ácido clorogênico, ácido 3,4 - dicafeoilquínico, ácido 3,5 - dicafeoilquínico, e ácido 4,5 - dicafeoilquínico (FILIP et al., 2001). *Ilex paraguariensis* contém as maiores concentrações de derivados de cafeiol em comparação com as outras espécies de *Ilex* que, além de terem concentrações muito baixas, apresentam uma grande variação nas suas concentrações de ácido dicafeoilquínico. As altas concentrações desse composto é que conferem ao mate a sua capacidade antioxidante (FILIP et al., 2001).

## 1.8 EFEITOS DAS SAPONINAS

As saponinas são encontradas em vários tipos de plantas e acredita-se que são um dos fatores responsáveis pelo distinto sabor do mate. É uma substância bastante solúvel em água e não atua somente no sabor, mas também é atribuída à ela as propriedades antiinflamatórias e hipocolesterolêmica do mate (GNOATTO, SCHENKEL, BASSANI, 2005).

A propriedade hipocolesterolêmica da saponina é explicada pela inibição da difusão passiva do ácido cólico, além da formação de micelas com o colesterol e com os sais biliares que impedem sua absorção, diminuindo assim, o colesterol circulante no sangue (FERREIRA, 1997).

## 1.9 EFEITOS DOS FLAVONÓIDES

Os flavonóides são compostos fenólicos vastamente distribuídos em plantas. O seu consumo foi associado à prevenção de doenças crônicas como o câncer e doenças cardiovasculares (MEJIA et al., 2005).

As reações biológicas que envolvem radicais livres têm se tornado uma área de intenso interesse para estudos. Esse tipo de reação tem um importante papel no dano tecidual, responsável por desenvolver doenças nos organismos vivos (SCHINELLA et al., 2000). O excesso de radicais livres está envolvido com o diabetes e aterosclerose. Expecula-se que os antioxidantes naturais seriam defeituosos nessas doenças (GUGLIUCCI, 1996).

O extrato de *Ilex paraguariensis* tem sido apontado como um potente inibidor de radicais livres, sendo considerado benéfico para o fígado e o coração. Um exemplo é o coração, que, durante a reperfusão pós isquemia, torna-se susceptível ao estresse oxidativo. Administrando extrato de *Ilex paraguariensis* nesse momento, consegue-se diminuir a oxidação de lipídeos no coração, protegendo o tecido miocárdico (SCHINELLA et al., 2005).

Alguns estudos epidemiológicos sugerem que uma elevada ingestão de flavonóides e outros compostos fenólicos, através do consumo de chás e vegetais, é associada à diminuição do risco de doença cardiovascular. A ingestão do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* pode representar uma grande fonte adicional de polifenóis naturais. Em um estudo anterior, o mate ingerido como suplemento dietético foi capaz de aumentar as defesas antioxidantes contra os radicais livres, particularmente no desenvolvimento da aterosclerose (MOSIMANN et al., 2006).

Estado do Rio Grande do Sul, sul do Brasil, o consumo de mate, carne vermelha e conseqüentemente de gordura saturada, é maior do que nos outros estados do país, embora a incidência de doença cardiovascular não varie ao longo do Brasil. Pensa-se que o mate pode estar contribuindo para a proteção dessa população contra doenças coronarianas e cardíacas (MOSIMANN et al., 2006).

Os antioxidantes encontrados no extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* tiveram seu efeito comprovado e considerado extremamente potente *in vitro*. De qualquer

forma, pouco se sabe a respeito da biodisponibilidade dessas substâncias (GUGLIUCCI, 1996).

Do ponto de vista biológico, os polifenóis agem de forma similar as 293 enzimas antioxidantes naturais dos organismos. Além disso, o efeito antioxidante é proporcional à concentração de polifenóis da erva mate (SCHINELLA, et al., 2005).

Recentemente, foi relatado que o extrato da planta inibe a oxidação do DNA (GUGLIUCCI, A., 1996) e de *low density lipoprotein* (LDL) no plasma humano. Foi cogitado que alguns componentes presentes no extrato seriam capazes de aumentar a capacidade antioxidante no plasma (SCHINELLA et al., 2005). Esse trabalho também mostrou que a inibição da oxidação do LDL ocorre pela inibição da peroxidação dos lipídeos (GUGLIUCCI, 1996).

Mais recentemente, outros autores também mostraram a atividade antioxidante do extrato de *Ilex paraguariensis* em vários sistemas de oxidação *in vitro* (MOSIMANN et al., 2006).

## 1.10 EFEITOS NO PESO CORPORAL

A prevalência de sobrepeso e obesidade está crescendo em proporções alarmantes. A obesidade se tornou um dos mais importantes fatores de risco para morbidade e mortalidade (WHO, 1998). O risco de desenvolver câncer, diabetes ou doenças cardíacas aumenta proporcionalmente ao grau de sobrepeso tanto em homens como em mulheres. (*National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity*, 2000). Um dos principais fatores responsáveis por esse aumento na prevalência da obesidade é a diminuição do gasto energético e da atividade física (PITTLER et al., 2005). Essas considerações e a notória conformação com o tratamento conservador para essa doença enfatizam a importância de alternativas terapêuticas efetivas, seguras e aceitáveis (PITTLER et al., 2005).

O mate apresentou alguns efeitos na perda de peso e pesquisas recentes provaram alguma evidência sustentada a esse respeito (HECK, MEJIA, 2007). Em um dos estudos que investigaram essa proposta encontrou-se que obesos que consumiram mate apresentaram diminuição no quociente respiratório, indicando um aumento da oxidação de gorduras (MARTINET, HOSTETTAMANN, SCHUTZ, 1999).

Além disso, estudou-se o efeito de uma infusão feita com *Ilex paraguariensis*, guaraná e damiana que apresentou uma grande desaceleração do esvaziamento gástrico, assim como uma antecipação da sensação de plenitude gástrica e, conseqüentemente, uma saciedade precoce. Isso foi seguido de uma considerável perda de peso em pacientes com excesso de peso após 45 dias ingerindo essa infusão (ANDERSEN, FOGH, 2001).

Foi descrito que o efeito do mate na perda de peso, ainda não bem esclarecido, poderia ter relação com a concentração de cafeína, por essa substância ter propriedades lipolíticas. Especulou-se também uma outra alternativa em que a perda de peso era relacionada as concentrações de saponinas, que seriam capazes de interferir no metabolismo do colesterol e na absorção dos lipídeos ingeridos (DICKEL, RATES, RITTER, 2007).

Vários fatores influenciam a natureza da alimentação, a sua digestibilidade, apetite e suscetibilidade para a saciedade. A respeito das preparações com ervas conhecidas na cultura ocidental, elas parecem ter atuação na modulação fisiológica da motilidade intestinal, na ingestão alimentar e no balanço energético (ANDERSEN, FOGH, 2001). Uma motilidade intestinal aumentada pode influenciar na ingestão alimentar por causa dos fatores intestinais que são relacionados a absorção dos nutrientes que, por sua vez, controlam algumas respostas metabólicas. A resposta central aos sinais periféricos do tecido adiposo também está diretamente relacionada à ingestão alimentar (ANDERSEN, FOGH, 2001).

### 1.11 EFEITOS TÓXICOS

Alguns estudos clínicos e epidemiológicos associaram o consumo de mate com o desenvolvimento de câncer da cavidade oral, faringe e esôfago (MEJIA et al. 2005). *In vitro* e em animais experimentais, apresentou-se um efeito oposto, sugerindo que o mate teria propriedades anticarcinogênicas (YAMAMOTO et al., 1997).

Vários estudos foram realizados a respeito das propriedades do mate relativas a prevenção do câncer. Muitos deles compararam o mate com outros chás, entre eles o chá verde, que parece ter um grande potencial anticarcinogênico

(YAMAMOTO et al., 1997). No entanto, existem compostos no mate que podem contribuir para o desenvolvimento do câncer. Um estudo mostrou a correlação entre a quantidade de mate consumida e a quantidade de hidrocarbonetos aromáticos policíclico presentes na urina (FAGUNDES, 2006). Sabe-se que os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, particularmente o benzopireno, têm propriedades carcinogênicas. Pelo menos quinze tipos de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos foram encontrados no mate. (HECK, MEJIA, 2007).

Analisando cinco estudos desenvolvidos na Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai, o principal fator de risco para câncer de esôfago, um dos tipos de câncer relacionados com o consumo de mate, foi fumo e consumo de álcool. Mesmo assim, depois de ajuste para efeitos de grande exposição, alto consumo de mate (mais de um litro por dia) e a ingestão do mate em altas temperaturas (informação referida pelos próprios participantes) foi considerado um fator de risco significativamente maior para desenvolvimento de câncer tanto em homens quanto em mulheres (SEWRAM et al., 2003).

Um estudo realizado no Uruguai, que excluiu fatores confundidores como o tabaco e o álcool, encontrou um acréscimo moderado no risco de desenvolver câncer de esôfago entre os que faziam consumo diário de mate (RONCO et al., 2004). Também constatou-se que, na cidade de Pelotas no Rio Grande do Sul, pessoas que ingeriam mate em grandes quantidades e eram fumantes compõe 39,1% da população pesquisada, significativamente maior do que a proporção de pessoas que ingeriam mate em grandes quantidades e não eram fumantes (VICTORA et al., 1990). Apesar disso, não se têm dados experimentais sobre relação do consumo de mate e o desenvolvimento de câncer em animais. (RAMIREZ-MARES et al., 2004).

Embora não se tenha nenhuma prova biológica que relacione a ingestão de mate e o desenvolvimento do câncer (PEREIRA JOTZ, et al., 2006), a contaminação com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos apresenta-se como uma possível explicação para aumentar as taxas de câncer entre aqueles que consomem o mate (HECK, MEJIA, 2007).

É bastante provável que os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos sejam formados durante o processamento da erva mate. Como o mate é seco em fumaça de madeira queimada, essa fumaça pode ser a fonte dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos encontrados no mate (FAGUNDES et al., 2006).

## 2 JUSTIFICATIVA

Vários estudos têm apontado a *Ilex paraguariensis* como uma coadjuvante no tratamento da obesidade. Achados já provam que a erva pode aumentar a oxidação de gorduras, inibir aterosclerose em coelhos alimentados com dieta rica em gordura e reduzir colesterol e triglicérides séricos em ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (HECK, MEJIA, 2007).

Além disso, a prevalência de sobrepeso e obesidade está crescendo em proporções alarmantes e a obesidade se tornou um dos mais importantes fatores de risco para morbidade e mortalidade (WHO, 1998). Aliada a esses dados preocupantes, encontram-se as dificuldades relacionadas o tratamento conservador e a necessidade da busca de novos meios de tratamento (PITTLER et al., 2005).

Quanto a *Ilex paraguariensis*, foram encontrados estudos que relacionassem a ingestão do seu extrato aquoso, juntamente com outras ervas, com a ingestão alimentar, demonstrando que há uma diminuição do consumo de alimentos devido a uma saciedade precoce. Também foi evidenciado que a *Ilex paraguariensis* pode potencializar a perda de peso, mas não foram encontrados estudos que avaliassem a mudança da composição corporal após a perda ponderal (ANDERSEN, FOGH, 2001).

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ingestão alimentar e o peso corporal em ratos wistar machos tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*.

### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a massa corporal e o volume de urina dos animais;
- Avaliar a ingestão hídrica e alimentar dos animais;
- Determinar a quantidade de gordura abdominal;
- Analisar os triglicérides e o colesterol total plasmáticos.

## 4 MÉTODOS

### 4.1 ESCOLHA DA ERVA MATE

Foi utilizada uma marca de erva mate comercializada na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Durante todo o experimento, utilizou-se erva de um mesmo lote desta mesma marca. No rótulo, o fabricante dizia tratar-se de folhas e caules de *Ilex paraguariensis*. A erva era mantida sob refrigeração (4°C).

### 4.2 EXTRATO DE *Ilex paraguariensis*

O extrato de *Ilex paraguariensis* era preparado diariamente sempre da mesma maneira e utilizando-se sempre os mesmos utensílios. Aquecia-se água em um Becker com um aquecedor elétrico. Quando a água atingia 80°C, adicionava-se 70g de erva mate (HERNRICHS, MALAVOLTA, 2001). Depois de quinze minutos, passava-se essa mistura por um coador de pano até obter 850mL de extrato. O extrato era dividido em dois “bebedouros” para ratos e oferecidos nas gaiolas.

### 4.3 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados ratos *wistar* machos do biotério do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A data de nascimento dos animais foi de 16 de dezembro de 2007 e desmame 11 de janeiro de 2008. O experimento teve início quando os animais estavam com 85 dias de vida, pesando entre 240 e 300g. Os ratos foram mantidos em gaiolas adequadas no biotério do ICBS da UFRGS onde a temperatura era de 25°C e havia ciclo de claro e escuro de 12 horas. Foram colocados três ratos por gaiola.

Os animais foram decapitados ao final do experimento com guilhotina e estruturas como fígado, rins, coração e gordura abdominal foram retiradas por dessecação e congeladas para posterior análise. Foi coletado aproximadamente 2mL de sangue do tronco para avaliação dos níveis de colesterol e triglicérides. Esses tecidos foram armazenados a -70°C para maior conservação.

### 4.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram criados, aleatoriamente, dois grupos (n=6) sendo um o grupo controle e o outro grupo experimental. O grupo experimental recebeu o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis ad libitum* como única forma de hidratação, juntamente com ração padrão. Já o grupo controle recebeu durante o mesmo período água e ração padrão.

### 4.5 PROTOCOLO E ANÁLISE DA INGESTÃO HÍDRICA E ALIMENTAR E PESO

O experimento teve duração de oito semanas em que diariamente o extrato de *Ilex paraguariensis* era trocado. Como forma de mensuração de ingestão hídrica

e alimentar foram realizadas três coletas dos dados de gaiolas metabólicas sendo uma das coletas realizada antes de iniciar o tratamento com *Ilex paraguariensis*. As outras coletas de dados foram na quarta e oitava semana de tratamento. Em cada uma das vezes que foram coletados esses dados, os animais eram alocados individualmente em gaiolas metabólicas, onde é possível mensurar a ingestão hídrica e alimentar, além das quantidades de fezes e urina dos animais no período de 24 horas. A pesagem dos ratos era realizada sempre com a mesma balança e acontecia nesses mesmos dias em que eram colocados nas gaiolas metabólicas.

#### 4.6 ANÁLISE DE LIPÍDEOS PLASMÁTICOS

Foram coletadas amostras de sangue antes do início do tratamento e com quatro semanas de experimento, através de punção da veia caudal com imobilização dos animais em contêntores adequados, e por pessoal treinado, para retirada de 200ul de amostra para posterior centrifugação. O sangue foi coletado em eppendorfes com heparina para evitar a coagulação do sangue coletado. Um volume de 3ml foi retirado ao final do experimento após a decapitação do animal. Com essas amostras foram realizadas as análises de colesterol total e triglicérides plasmáticos através de *kits labtest®*.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com base nos resultados das análises, foram calculadas as médias e os desvios padrões da média para cada uma das medidas realizadas e para cada um dos grupos estudados. O teste t de student foi utilizado para análise da quantidade de gordura abdominal, e análise de variância de duas vias para amostras repetidas com o pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando a análise estatística apresentou  $P < 0,05$ .

#### 4.8 BIOSSEGURANÇA

Durante a execução da metodologia proposta, os pesquisadores envolvidos utilizaram luvas de procedimentos cirúrgicos e aventais para sua própria proteção. Quando foi necessário, utilizou-se também máscara e óculos de proteção. Além desses cuidados, a preparação das soluções ocorreu dentro de capela de exaustão. O trabalho teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS.

## 5 RESULTADOS

Tabela 1 - Dados obtidos das gaiolas metabólicas nos tempos 0, 4 e 8 semanas de animais dos grupos controle e tratado com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*.

	0 semanas		4 semanas		8 semanas	
	Controle (média ± D.P.)	Tratado (média ± D.P.)	Controle (média ± D.P.)	Tratado (média ± D.P.)	Controle (média ± D.P.)	Tratado (média ± D.P.)
Ingestão Alimentar (mg/g)	63,30 ± 20,82	54,34 ± 16,00	29,02 ± 13,14	36,29 ± 12,29	36,28 ± 18,01	55,47 ± 13,46
Ingestão Hídrica (ml/g)	0,096 ± 0,072	0,066 ± 0,059	0,060 ± 0,044	0,090 ± 0,026	0,054 ± 0,033	0,058 ± 0,025
Urina (ml/g)	0,009 ± 0,004	0,008 ± 0,006	0,013 ± 0,010	0,016 ± 0,010	0,012 ± 0,007	0,016 ± 0,008
Fezes (mg/g)	22,57 ± 11,83	24,66 ± 8,72	21,69 ± 8,97	25,42 ± 6,43	20,58 ± 7,54	25,02 ± 6,65

Como apresentado na tabela 1, todos os dados estão expressos como média ± desvio-padrão. A ingestão hídrica e o volume de urina foram expressos em mililitros por grama de peso corporal. A ingestão alimentar e quantidade de fezes foram expressas em miligramas por grama de peso corporal do animal. Não houve diferença significativa entre os grupos nem ao longo do experimento.

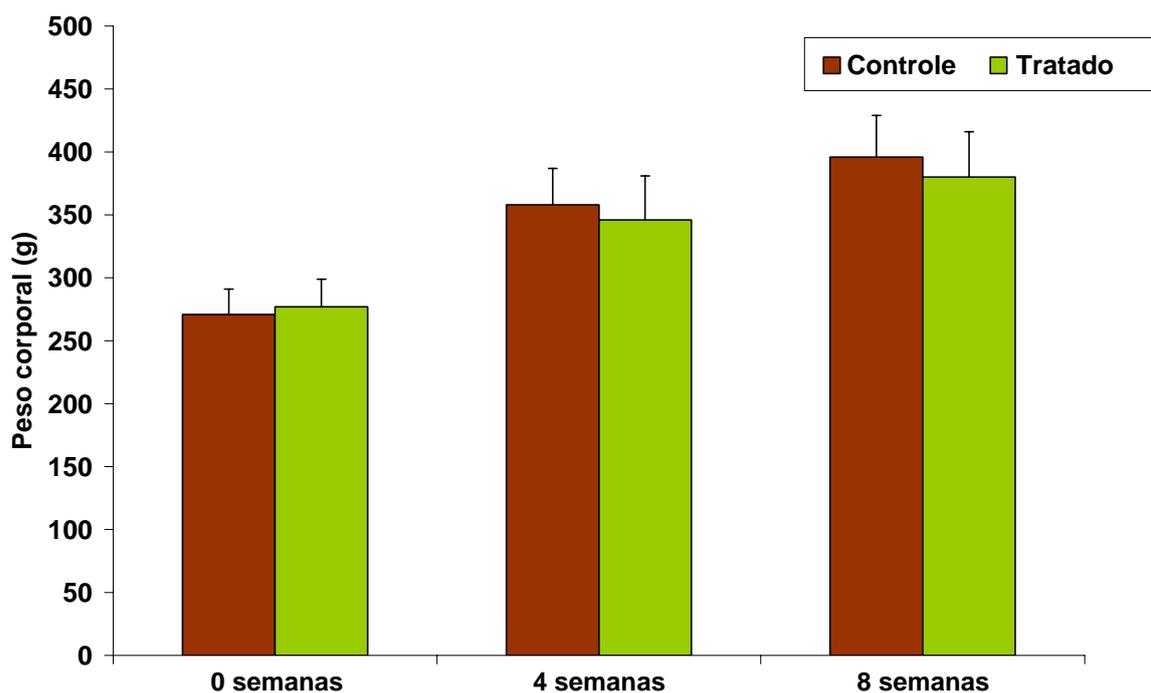


Figura 1 - Peso corporal dos animais dos grupos controle e tratado com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*.

Conforme a figura 1, os dados de peso corporal foram expressos em grama. Todos os animais ganharam peso ao longo do experimento, mas não houve diferença significativa em relação ao ganho de peso dos diferentes grupos, nem ao longo do experimento.

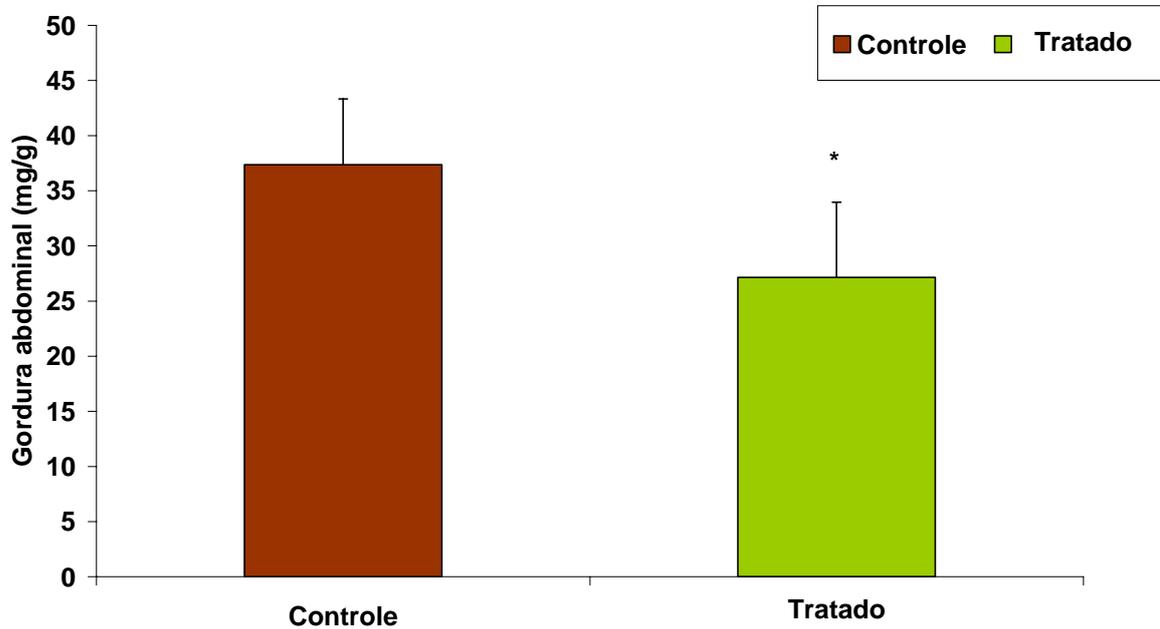
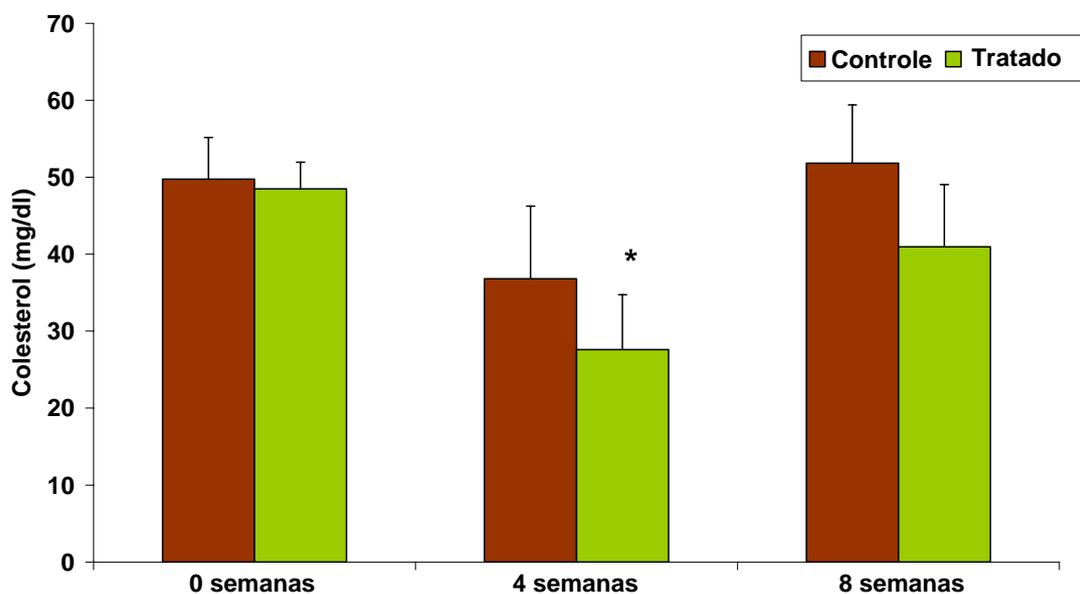


Figura 2 - Gordura abdominal por peso corporal dos animais controle e tratado com *Ilex paraguariensis*.

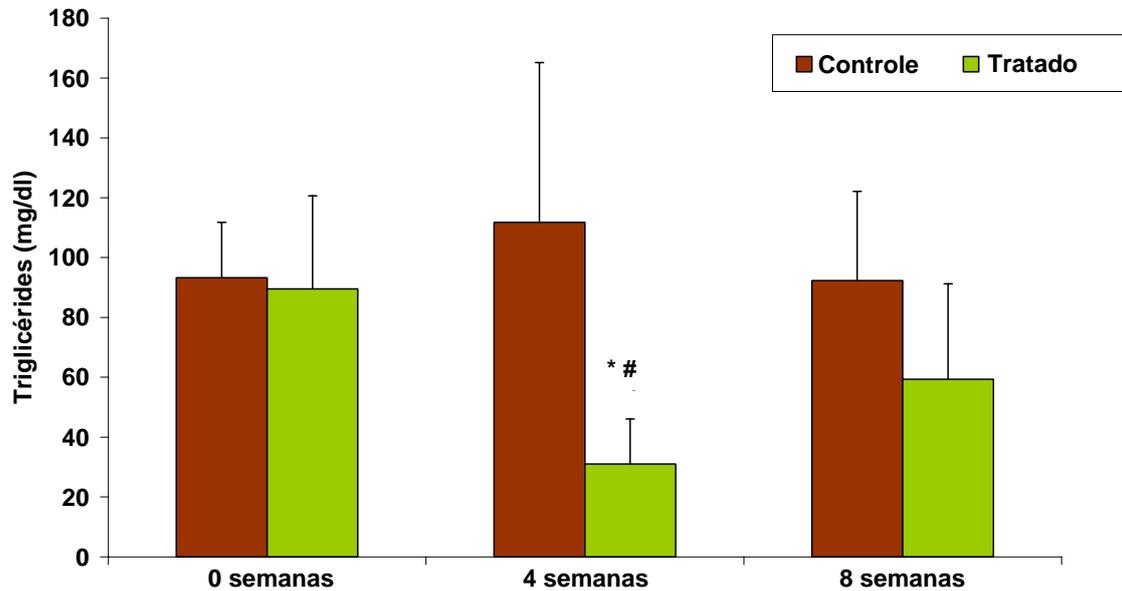
De acordo com a figura 2, os dados de gordura abdominal também foram expressos em índice, miligrama de gordura abdominal por grama de peso corporal do animal. Houve uma diminuição significativa ( $p = 0,023$ ) da quantidade de gordura abdominal por grama de peso de animal no grupo tratado após 8 semanas de tratamento.



\* Diferença significativa em relação ao mesmo grupo no tempo 0.

Figura 3 - Colesterol total dos animais dos grupos controle e tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* nos tempos 0, 4 e 8 semanas.

Como mostra a figura 3, os resultados de colesterol plasmático (miligramas de colesterol por decilitros de plasma) expresso no gráfico 3, houve diminuição significativa ( $p < 0,0001$ ), em relação aos níveis encontrados no grupo tratado no início do experimento, após quatro semanas de tratamento. Não houve diferença significativa em relação ao grupo controle após quatro semanas de tratamento. Em nenhum outro momento do experimento houve diferença significativa.



\* Diferença significativa em relação ao grupo experimental no tempo 0.

# Diferença significativa em relação ao grupo controle no mesmo tempo.

Figura 4 – Triglicérides do animais dos grupos controle e tratado com extrato aquoso de *ilex paraguariensis* nos tempos 0, 4 e 8 semanas

Como os resultados expressos na figura 4, os níveis plasmáticos de triglicérides (miligramas de triglicérides por decilitro de plasma). Houve diminuição significativa após quatro semanas de tratamento no grupo tratado em relação aos níveis encontrados no mesmo grupo no início do tratamento ( $p = 0,023$ ) e também em relação ao grupo controle no mesmo período ( $p = 0,009$ ). Em nenhum outro momento do experimento houve diferença significativa.

## 6 DISCUSSÃO

A metodologia empregada nesse estudo foi baseada principalmente em dois trabalhos anteriores. A quantidade de água e erva mate para o preparo do extrato aquoso foi feita segundo o trabalho de Hernichs, Malavolta (2001) a fim de se obter um extrato o mais similar possível com o chimarrão dos gaúchos. Além disso, a técnica de oferecer o extrato como única forma de hidratação, através dos bebedouros, já havia sido descrita anteriormente por Mosimann, Wilhelm-Filho, Silva (2006). A propriedade diurética da erva mate é descrita por vários Muccillo Baisch, Johnston, Paganini Stein (1998); Mazzafera, (1994). Assim a utilização desse protocolo de livre acesso a bebida permitiria avaliar, se esse efeito diurético se confirmasse, se o animal ingeriria mais do extrato na tentativa de criar um mecanismo compensatório à possível desidratação. Esse mecanismo compensatório não ocorreu possivelmente por não se ter observado efeito diurético do extrato aquoso de erva mate neste estudo.

Esse trabalho tem alguns fatores limitantes em relação à precisão da quantidade de extrato aquoso de erva mate ingerido pelos animais do grupo tratado. Apesar de terem sido realizadas três gaiolas metabólicas, em três diferentes tempos de experimento, em que a ingestão hídrica dos ratos é medida individualmente, esses dados não indicam a quantidade ingerida precisa. O consumo diário de cada animal também não foi verificado, mas foi utilizado um número reduzido de ratos por gaiola, apenas três animais em cada, para que todos tivessem fácil acesso ao bebedouro com o extrato da erva mate.

Além disso, como já foi citado anteriormente, a composição da erva mate varia bastante e depende de fatores como área geográfica onde a planta é cultivada, tipo de solo, água e fertilizantes, processo industrial e condições de estocagem. (GIULIAN et al., 2007). Nesse experimento, não temos a quantidade exata dos compostos encontrados na erva mate utilizada. Acredita-se que utilização de uma erva mate de mesma marca comercial e de mesmo lote é capaz de minimizar essas variações, mas ainda assim sem a certeza das quantidades exatas específicas dos compostos oferecidos aos animais, através do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. Ainda em relação aos cuidados para minimizar as variações do extrato de erva mate, todos os dias o extrato era preparado da mesma maneira com

o mesmo tempo de extração da erva mate para que a solubilidade dos compostos se mantivesse dentro de um padrão.

O efeito diurético proposto anteriormente poderia ser um fator complicador na análise do peso corporal dos ratos, o que ressalta a importância de mensurar a diurese dos animais. Com a concentração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* utilizado neste trabalho não se observou o efeito diurético da erva mate. Assim como não houve diferença significativa em relação à ingestão hídrica dos animais entre os grupos tratado e controle, nem ao longo do experimento.

O mecanismo de desaceleração do esvaziamento gástrico e conseqüente saciedade precoce proposto por Andersen, Fogh (2001) quando era oferecida uma mistura de ervas estimulantes, entre elas *Ilex paraguariensis*, não foi verificado quando se utilizou o extrato aquoso somente de *Ilex paraguariensis*, pois não houve diferença significativa na ingestão alimentar dos animais tratados em relação ao grupo controle.

Assim como a ingestão alimentar, o peso corporal dos ratos ao longo do experimento não variou significativamente em relação aos animais do grupo controle como no trabalho realizado com coelhos por Mosimann, Wilhelm-Filho, Silva (2006). Já o trabalho de Jotz et al. (2006) encontrou resultados diferentes.

O estudo de Jotz et al. (2006) simulou o consumo de mate da vida adulta até a velhice, oferecendo extrato aquoso de erva mate dos três aos oito meses de vida dos animais, tendo um tempo de tratamento de cinco meses. Dessa forma encontrou-se diminuição significativa de peso no grupo tratado em relação ao grupo controle. Além disso, esse mesmo estudo subdividiu o grupo tratado em três e cada um desses subgrupos recebia um tipo diferente de erva mate. O subgrupo 1 recebia extrato de erva mate comercial, o subgrupo 2 de erva mate pura folha e o subgrupo 3 de erva mate *in natura*. Também houve variação significativa de peso quando comparados os subgrupos 1 e 2 em relação ao subgrupo 3. Os animais dos subgrupos 1 e 2 apresentaram significativamente menor peso do que os animais do subgrupo 3. Isso leva a refletir sobre a variação das quantidades dos compostos encontrados na erva mate (GIULIAN et al., 2007) e como a quantidade desses compostos presentes na *Ilex paraguariensis* pode ser capaz de influenciar o peso corporal.

Em relação aos triglicérides e colesterol total plasmáticos, os resultados são condizentes com a literatura, em relação as saponinas e sua propriedade

hipocolesterolêmica (GNOATTO, SCHENKEL, BASSANI, 2005). Uma das diferenças encontradas em nosso trabalho foi a utilização de dieta padrão ou invés de dieta hipercolesterolêmica. O uso dessa ração teve como objetivo verificar se o extrato aquoso também seria capaz de surtir os efeitos de diminuição de lipídeos plasmáticos recebendo um aporte adequado de colesterol.

A diminuição dos níveis de colesterol total e triglicérides plasmáticos ocorreram após quatro semanas de tratamento, mas após oito semanas, os níveis já não diferiram mais dos níveis encontrados antes do início do experimento. Esse comportamento, verificado nos lipídeos plasmáticos leva a pensar em um mecanismo adaptativo do animal em relação ao tempo de tratamento, como por exemplo, diminuição da sensibilidade aos compostos da erva mate.

Já em relação à diminuição da gordura abdominal com o consumo do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*, as hipóteses para os resultados encontrados dividem-se em basicamente quatro. A primeira seria em relação a propriedade estimulante da erva mate. Devido a sua composição de metilxantinas (GEORGE, 2000), há um possível aumento do gasto energético dos animais tratados, fazendo com que assim os ratos utilizem substratos lipídicos, do tecido adiposo abdominal, para gerar energia exigida pelo efeito estimulante das metilxantinas. A segunda hipótese concentra-se na capacidade lipolítica da cafeína (SILVEIRA, ALVES, DENADAI, 2004), substância encontrada na erva mate. A capacidade de lipólise da cafeína poderia ser uma das responsáveis pela diminuição da gordura abdominal dos animais tratados em relação ao grupo controle. A terceira hipótese é de que os resultados foram obtidos por causa dos efeitos da saponina, que já foi relacionada anteriormente com a diminuição da absorção intestinal de lipídeos, através da inibição da atividade da enzima lípase pancreática (PANG, J. et al., 2008). Com uma menor absorção intestinal dos lipídeos ingeridos pela dieta, poderia promover uma maior mobilização de lipídeos do tecido adiposo abdominal para gerar energia, por exemplo, o que diminuiria a quantidade de gordura abdominal. A quarta hipótese baseia-se nos dados encontrados por Pang et al. (2008) de diminuição do volume dos adipócitos do tecido adiposo visceral. Nesse trabalho, encontrou-se uma diminuição dos níveis séricos de leptina dos ratos tratados com *Ilex paraguariensis*. Essa alteração nos níveis de leptina foi considerada responsável pela diminuição do volume dos adipócitos.

Como perspectivas, baseado nesses resultados, a proposta para novos estudos é verificar o efeito de *Ilex paraguariensis* sobre o metabolismo de lipídeos, investigando as vias de síntese e degradação. São necessários mais estudos também para que se possa estabelecer uma dose-resposta, através de um controle mais preciso da ingestão do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*, através de gavagem, por exemplo, para uma possível utilização da erva mate com fins terapêuticos.

## 7 CONCLUSÕES

Neste trabalho, verificou-se que o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*, na concentração utilizada durante o experimento, parece não ter influência no peso corporal nem na ingestão alimentar de ratos *wistar* machos. Assim como em outros trabalhos, encontramos influência do extrato aquoso da erva no metabolismo dos lipídeos. A diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol total e triglicérides são compatíveis com a literatura. A diminuição de gordura abdominal é relacionada com a presença de saponinas e metilxantinas do extrato aquoso da erva mate.

## REFERÊNCIAS

ANDERSEN, T., FOGH, J. **Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients.** J Hum Nutr Dietet. V. 14, p. 243-250, 2001.

BIXBY, M., SPIELER, L. MENINI, T., GUGLIUCCI, A. **Ilex paraguariensis extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity.** Life Sciences. V. 77, p.345-358, 2005.

DESLANDES, A.C et al. **Effects of caffeine on visual evoked potential (p300) and neuromotor performance.** Arq Neuropsiquiatr. V. 62(2-B), p.385-390, 2004.

DICKEL, M.L., RATES, S.M., RITTER, M.R. **Plants populary used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil.** J. Ethnopharmacol. V.109, p.60-71, 2007.

FAGUNDES, R.B., ET AL **Higher urine 1-hidroxy pyrene glucuronide (1-ohpg) is associated with tobacco smoke exposure and drinking mate in healthy subjects from Rio Grande dos Sul, Brazi.** BMC Cancer. V. 6, p.139-145, 2006.

FERREIRA, F. **Inhibition of the passive diffusion of cholic acid by Ilex paraguariensis St.Hil. Saponins.** Phytotherapy Res. V. 11, p. 79-81, 1997.

FILIP, R., LÓPEZ, P., GIBERTI, G., COUSSIO, J., FERRARO, G. **Phenolic compound in Seven American Ilex species.** Fitoterapia. V. 72, p. 774-778, 2001.

GEORGE, A.J. **Central nervous system stimulants.** Baillieres Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab., v.14, n.1, p.79-88, 2000.

GIULIAN, R., et al. **Elemental Characterization of Commercial Mate Tea Leaves (Ilex paraguariensis A. St.-Hil.) before and after Hot Water Infusion Usin Ion Beam Techniques.** Juornal of Agricultural and Food Chemistry. V. 55, p. 741-746, 2007.

GNOATTO, S.B.C., SCHENKEL, E.P., BASSANI, V.L. **HPLC method assay total saponins in Ilex paraguariensis aqueous extract.** J. Braz Chem Soc. V. 16, p. 723-726, 2005.

GORZALCZANY, S., et al. **Choleretic effect and intestinal propulsion of 'mate' (*Ilex paraguariensis* and its substitutes or adulterants.** Journal of Ethnopharmacology. V. 75, p. 291-294, 2001.

GRAHAM, H.N. **Mate.** Prog. Clin. Biol. Res. V. 158, p. 179-183, 1984

GUGLIUCCI, A. **Antioxidant Effects of *Ilex Paraguariensis*: Induction of Decreased Oxidability of Human LDL *in Vivo*.** Biochemical and Biophysical Research Communications. V. 224, p. 338-344, 1996.

HECK, C.I., MEJIA, E.G. **Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations.** Journal of Food Science. V. 72, n. 9, p. 138-151, 2007.

HEINRICH, R., MALAVOLTA, E. **Composição Mineral do Produto Mineral da Erva-mate.** Ciência Rural de Santa Maria. V. 31, n. 5, p. 781-785, 2001.

IBGE, **Anuário Estatístico do Brasil.** Rio de Janeiro. V. 58, p. 3-36, 1998.

ITO, E., CROZIER, A., ASHIHARA, H. **Theophylline metabolism in higher plants.** Biochem Biophys Acta. V. 1336, p. 323-230, 1997.

JOTZ, G.P., et al. **Estudo Experimental da Erva Mate (*Ilex Paraguariensis*) como Agente Etiológico de Neoplasia do Trato Aéreo-digestivo.** International archives of otorhinolaryngology. V. 10, n. 4, p. 394-397, 2006.

MARTINET, A., HOSTETTAMANN, K., SCHUTZ, Y. **Thermogenic effects of commercially available plant preparations aimed at treating human obesity.** Phytomedicine. V. 6, p. 231-238, 1999.

MAZZAFERA, P. **Caffeine theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*.** Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal. V. 6, n. 2, p. 149-151, 1994.

MEJIA, E.G., SONG, Y.S., RAMIREZ-MARES, M.V., KOBAYASHI, H. **Effect of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Tea on Topoisomerase Inhibition and Oral Carcinoma Cell Proliferation.** J. of Agric. Food Chem. V. 53, p. 1966, 1973, 2005.

MIRANDA, D.D.C., et al. **Protective effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage and DNA repair in mice.** *Mutagenesis*. P.1-5, 2008.

MOSIMANN, A.L.P., WILHELM-FILHO, D., SILVA, E.L. **Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits.** *BioFactors*. V.26, p. 59-70, 2006.

MUCCILLO BAISSCH, A.L., JOHNSTON, K.B., PAGANINI STEIN, F.L. **Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats.** *Juornal of Ethnopharmacology*. V. 60, p. 133-139, 1998.

NATIONAL TASK FORCE ON THE PREVENTION AND TREATMENT OF OBESITY. **Overweight, obesity and health risk.** *Arch Intern Med*. V.160, p. 898-904, 2000.

PACHECO, A et al. **Consumo de cafeína entre gestantes e a prevalência do baixo peso ao nascer e da prematuridade: uma revisão sistemática.** *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23 n.12, p.2807-2819, 2007.

PANG, J., CHOI, Y. PARK, T. ***Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in visceral adipose tissue.** *Archiver of Biochemistry and Biophysiscs*. 2008.

PEREORA JOTZ, G. ET AL., **Mate *Ilex paraguariensis* as na etiological agent of neoplasia in the aerodigestive tract. An experimental study.** *Onte Arch Otorhinolaryngol*. São Paulo, v. 10, p. 306-311, 2006.

PITTLER, M.H., SCHMIDT, K., ERNST, E. **Adverse events of herbal food supplements for body weight reduction: systematic review.** *Obesity reviews*. V. 6, p. 93-111, 2005.

RAMIREZ-MARES, M.V., CHANDRA, S., MEJIA, E.G. **In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis*, and *Ardisia compressa* tea extracts ans selected polyphenols.** *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. V. 554, p. 53-65, 2004.

RANG, H.P., DALE, M.M. **Farmacologia**. 2a Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1993.

RONCO, A.L., BARRIOS, E., FIERRO, L., BALBI, J., LARRINAGA, M.Y., DE STÉFANI, E. **Risk factors for esophageal câncer in non-smokers and non-drinkers: a case-control study in Uruguay.** Revista Brasileira de Epidemiologia. V.4, p.383-391,2004.

SANTOS, I.S., MATIJASEVICH, A., VALLE, N.C.J. **Mate Drinking during Pregnancy and Risk of Preterm and Small for Gestational Age Birth.** The Journal of Nutrition. V. 135, p. 1120-1123, 2005.

SCHINELLA, G.R., TROIANI, G., DAVILA, V., de BUSCHIAZZO, P.M., TOURNIER, H.A. **Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*.** Biochem BiophysRes Commun. V.269, p. 357– 60, 2000.

SCHINELLA, G, FANTINELLI, J.C., MOSCA, S.M. **Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for nutric oxide-dependent mechanism.** Clinical nutrition. V. 24, p360-366, 2005

SEWRAM, V., DE STEFANI, E., BRENNAM,P., BOFFETTA, P. **Maté Consumption and the Risk of Squamous Cell Esophageal Cancer in Uruguay.** Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. V. 12, p. 508-513, 2003.

SILVEIRA, L.R., ALVES, A.A., DENADAI, B.S. **Effect of increased caffeine-induced lipolysis on performance and glucose metabolism during intermittent exercise.** R. bras.Ci.e Mov. V. 12, n.3, p. 21-26, 2004.

SINCLAIR, C.J.D.; GEIGER, J.D. **Caffeine use in sports. A pharmacological review.** J. Sports Med. Phys. Fitness., v.40, n.1, p.71-79, 2000.

TAKETA, A.T. **Triterpenes and triterpenoidal glycosides from fruits of *Ilex paraguariensis* (Mate).** J. Braz Chem Soc. V. 15, p. 5-11, 2004.

VAN NIEUWENHOVEN, M.A.; BRUMMER, R.J.M.; BROUNS, F. **Gastrointestinal function during exercise: comparison of water, sport drink, and sports drink with caffeine.** J. Appl. Physiol., v.89, n.3, p.1079-1085, 2000.

VICTORA. C.G., MUNOZ, N., HORTA, B.L., RAMOS, E.O. **Patterns of mate drinking in a Brazilian city.** Cancer Research. V. 50, p. 7112-7115,1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic.** World Health Organization: Geneva, 1998.

YAMAMOTO, T. et al. **Chemistry and applications of green tea.** New York: CRC Press. P.61-73, 1997