

การลดระดับยูเรียไนโตรเจนโดยสารสกัดชาเขียวในหนูทดลองที่ติดเชื้อ
พลาสโมเดียมเบอร์เกอี

Reduction of Blood Urea Nitrogen by Green Tea Extract in *Plasmodium*
berghei-Infected Mice

อุบลวรรณ ใจหาญ^{1*}, เสถฐพล สังเขป¹, สมเดช ศรีชัยรัตนกุล², ชัยรัตน์ อุทัยพิบูลย์³
และวรวิมล สมศักดิ์⁴

Ubowan Jaihan, Setthapon Sungkhep, Somdet Srichairatanakool, Chairat Uthaipibull and
Voravuth Somsak

¹นักศึกษาปริญญาตรี สาขาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น ²รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมีคลินิก
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ³ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) สถาบันพัฒนา
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ⁴อาจารย์ สาขาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

Abstract

Causes of death in malaria are severe hemolytic anemia, cerebral malaria, and organ failure especially renal failure. Renal damage is caused by oxidative stress during malaria infection and increasing of blood urea nitrogen (BUN) is used to diagnosis and monitor. Hence, in this work was aimed to study effect of green tea extract (GTE) on reduction of BUN during *Plasmodium berghei* infection. ICR mice were infected with *P. berghei* ANKA strain, GTE was subsequently treated orally by gavage for 10 consecutive days. Pyrimethamine, standard antimalarial, was used as a positive control. It was found that BUN was increased significantly in untreated and pyrimethamine treated mice. In contrast, infected mice treated with GTE showed reduction of BUN level. It can be concluded that GTE can be used in malaria treatment in order to protect renal damage during infection. However, further studies are needed to evaluate the mechanism of GTE in renal protection and combination treatment with standard antimalarial will also be investigated.

Keywords: green tea extract, blood urea nitrogen, *Plasmodium berghei*

บทคัดย่อ

สาเหตุการเสียชีวิตด้วยโรคมาลาเรีย ได้แก่ ภาวะแตกทำลายของเม็ดเลือดแดงอย่างรุนแรง การเกิดไข้มาลาเรียขึ้นสมอง และการเกิดความล้มเหลวของการทำงานในอวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะไตวาย ไตอักเสบนั้นเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันจากการติดเชื้อมาลาเรีย ซึ่งสามารถตรวจวินิจฉัยและตรวจติดตามได้จากการวัดระดับของยูเรียไนโตรเจน (BUN) ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อการลดระดับของ BUN จากการติดเชื้อพลาสโมเดียมเบอร์เกอี หนูทดลองสายพันธุ์ ICR ที่ติดเชื้อด้วยพลาสโมเดียมเบอร์เกอีสายพันธุ์ ANKA และถูกทดสอบด้วยการให้สารสกัดชาเขียวทางหลอดอาหารเป็นเวลา 10 วันติดต่อกัน โดยมีมาตรฐานไพริเมตามีนเป็นกลุ่ม

ควบคุมบวก จากผลการศึกษาพบว่าระดับของ BUN จะสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูทดลองกลุ่มที่ไม่ได้รับยา และกลุ่มที่ได้รับยาไพริเมทรามิน แต่ในทางตรงกันข้าม หนูทดลองที่ติดเชื้อและได้รับสารสกัดชาเขียวจะมีระดับของ BUN ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถสรุปผลการศึกษาได้ว่า สารสกัดชาเขียวสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรค มาลาเรียได้ โดยการออกฤทธิ์ป้องกันความเสียหายที่เกิดกับไตในขณะที่มีการติดเชื้อมาลาเรีย แต่อย่างไรก็ตามจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดชาเขียว และการนำสารสกัดชาเขียวมาใช้รักษาร่วมกับยาต้าน มาลาเรียมาตรฐานตัวอื่นต่อไป

คำสำคัญ: สารสกัดชาเขียว, ยูเรียไนโตรเจน, พลาสมาโมเดียมเบอร์กิไอ

บทนำ

มาลาเรียเป็นโรคติดต่อที่มีการระบาดในเขตร้อนและร้อนชื้นของโลก รวมทั้งประเทศไทยด้วย โดยมี ยุงก้นปล่องเพศเมียเป็นพาหะที่สำคัญในการนำเชื้อมาลาเรียพลาสมาโมเดียมไปติดต่อสู่คน จากการศึกษาพบว่า โรคมมาลาเรียสามารถทำให้เกิดการเสียชีวิตได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องหาทางรักษาและป้องกันอย่างเร่งด่วน การเสียชีวิตด้วย โรคมมาลาเรียมีการรายงานพบว่า เกิดจากสาเหตุหนึ่ง คือ ภาวะไตอักเสบและไตวาย (Sitprija, Vongsthongsri et al. 1977) เนื่องจากการเกิดภาวะอนุโมลิตีระขึ้นในร่างกาย และการมีภาวะเครียดออกซิเดชันจากการติดเชื้อมาลาเรีย ส่งผลให้ไตและหน่วยกรองของไตเกิดความเสียหายและอักเสบตามมา เมื่อมีการติดเชื้อเรื้อรังขึ้นก็สามารถก่อให้เกิดภาวะไตวายและเสียชีวิตได้ (Nanda, Mishra et al. 2004) การตรวจติดตามหรือวินิจฉัยความผิดปกติของ ไตนั้นสามารถดูได้จากระดับของยูเรียไนโตรเจนในร่างกาย (Blood Urea Nitrogen: BUN) ซึ่ง BUN เป็นของเสียที่เกิดจากการสลายโครงสร้างบอนของกรดอะมิโน และเกิดการสังเคราะห์เป็นยูเรียในวัฏจักรยูเรียที่ตับ (Urea cycle) จากนั้น BUN จะถูกขับออกทางไต ดังนั้นหากไตและการกรองของไตมีความผิดปกติจะทำให้เกิดการกั่งของ BUN ในกระแสเลือด แนวทางในการรักษาหรือลดระดับ BUN ในร่างกายที่เกิดจากการติดเชื้อมาลาเรียนั้นจึงมีความจำเป็น (Hanson, Hasan et al. 2011)

ชาเขียว (*Camellia sinensis*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการนำมาใช้เป็นเครื่องดื่มบริโภคกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะประเทศในแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทยด้วย จากการศึกษาพบว่า สารสกัดชาเขียวมีฤทธิ์ในการต่อต้านและทำลายอนุโมลิตีระ รวมทั้งลดภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลองได้ (Demeule, Michaud-Levesque et al. 2002) จากการศึกษาเพิ่มเติมทำให้ทราบว่า สารสกัดชาเขียวยังสามารถออกฤทธิ์ในการลดระดับ BUN ในเลือดและยับยั้งความเสียหายที่เกิดกับไต จึงสามารถนำมาใช้ในการป้องกันและรักษาภาวะไตอักเสบและไตวายได้ (Nakagawa, Yokozawa et al. 2004; Renno, Abdeen et al. 2008; Khan, Priyamvada et al. 2009) ดังนั้นจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดชาเขียวที่มีผลต่อการลดระดับ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กิไอ เพื่อลดระดับความรุนแรงของไตอักเสบ

วิธีการทดลอง

เชื้อมาลาเรียที่ใช้ในการศึกษาและการติดเชื้อในหนูทดลอง

การศึกษารุ่นนี้ใช้เชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กิไอสายพันธุ์ ANKA ซึ่งเป็นสายพันธุ์มาตรฐานและมีความไว ต่อยาต้านมาลาเรีย โดยจะทำการติดเชื้อในหนูทดลองสายพันธุ์ ICR เพศเมียที่มีอายุระหว่าง 6-8 สัปดาห์ น้ำหนัก

ประมาณ 35-40 กรัม โดยใช้เชื้อในปริมาณ 1×10^7 ที่เจือจางในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และฉีดเข้าทางช่องท้อง

การตรวจการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสโมเดียมเบอร์เกอไอในหนูทดลอง

หลังจากทำการติดเชื้อในหนูทดลองแล้ว การเจริญเติบโตของเชื้อจะถูกตรวจติดตามเป็นประจำทุกวัน โดยการเก็บเลือดจากหางหนูทดลองที่ติดเชื้อแล้วทำการเสมียร์บนแผ่นสไลด์แก้วที่สะอาด จากนั้นนำไปย้อมด้วยสี Giemsa และทำการนับและคำนวณเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อต่อจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (% Parasitemia) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

การตรวจวิเคราะห์ระดับ BUN ในพลาสมา

เก็บเลือดจากหางหนูทดลองปริมาตร 50 ไมโครลิตรในหลอด Capillary ที่มี Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ทำการเก็บพลาสมาปริมาตร 20 ไมโครลิตรเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์ การตรวจวิเคราะห์ระดับ BUN ในพลาสมานั้นจะใช้วิธี Kinetic Urease / Glutamate Dehydrogenase-UV method จากชุดตรวจสำเร็จรูปของบริษัท BioSystems S.A. (Costa Brava, 30, 08030 Barcelona, Spain) โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์จะทำตามวิธีการที่ระบุมาจากชุดตรวจสำเร็จรูป

การเตรียมสารสกัดชาเขียว (Vuong, Golding et al. 2011)

ใบชาเขียวอบแห้งสำเร็จรูปที่ซื้อจากร้านค้าโครงการหลวงนำมาบดให้ละเอียด จากนั้นชั่งใบชาเขียวบดละเอียด 10 กรัมมาทำการสกัดด้วยน้ำร้อนปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที โดยทำการคนให้ทั่วทุกๆ 5 นาที เมื่อครบเวลานำมากรองผ่านกระดาษกรองและเก็บส่วนของสารสกัดชาเขียว (Crude green tea extract) ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

การตรวจวิเคราะห์ระดับของสารประกอบโพลีฟีนอลรวม

ในการตรวจวิเคราะห์ระดับของสารประกอบโพลีฟีนอลรวม (Total polyphenolic compound) ในสารสกัดชาเขียวจะใช้วิธี Folin-Ciocalteu reagent method (Singleton, Orthofer et al. 1999) นำสารสกัดชาเขียวที่ได้มาทำการตรวจวิเคราะห์โดยเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid สารสกัดชาเขียวที่มีระดับของสารประกอบโพลีฟีนอลรวมประมาณ 500-700 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะนำไปทดสอบฤทธิ์ในการลดระดับของยูเรียในโตรเจนในหนูทดลองต่อไป

ยาด้านมาลาเรียมาตรฐาน

ยาด้านมาลาเรียมาตรฐานที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมในการศึกษานี้ คือ ไพริเมธามีน (Pyrimethamine) โดยทำการละลายยาในสารละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้มีความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดชาเขียวในการลดระดับ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อมาลาเรีย

ในการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดชาเขียวในหนูทดลองนั้น จะใช้วิธีการมาตรฐานของ Peter's suppressive test (Peters, Portus et al. 1975) หนูทดลองกลุ่มละ 5 ตัวที่มีอายุและน้ำหนักใกล้เคียงกัน จะถูกติดเชื้อพลาสโมเดียมเบอร์เกอไอจำนวน 1×10^7 เข้าทางช่องท้อง หลังจากนั้น 2 ชั่วโมงหนูทดลองกลุ่มแรกจะได้รับน้ำเปล่า กลุ่มที่สองจะได้รับยาไพริเมธามีน 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กลุ่มที่สามจะได้รับสารสกัดชาเขียว 15 กรัมต่อกิโลกรัมทางหลอด

อาหาร และให้ทุกๆ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 4, 6 และ 10 วันติดต่อกัน เมื่อครบเวลาทำการเก็บเลือดจากหางหนูทดลอง ทุกกลุ่มและทำการตรวจวิเคราะห์ระดับ BUN ตามวิธีดังกล่าวข้างต้น

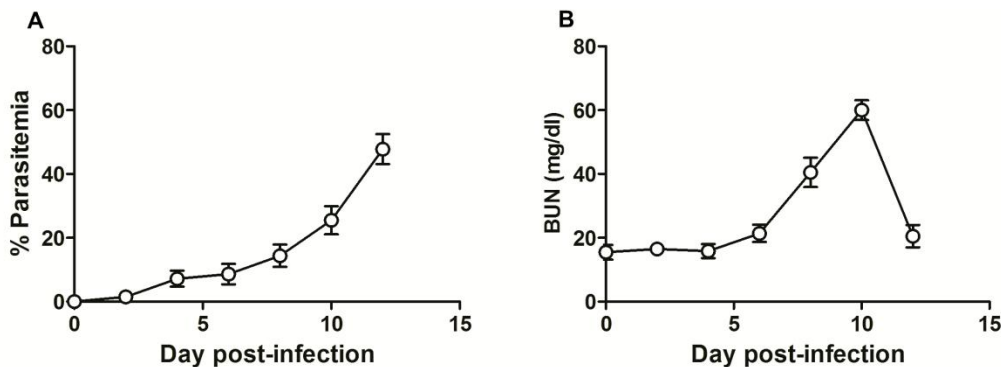
สถิติ

การวิเคราะห์นำเสนอในรูปแบบกราฟเส้น กราฟแท่ง และการวิเคราะห์ค่าทางสถิติจะใช้โปรแกรมสำเร็จรูป GraphPad Prism Software และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างจะใช้วิธี one way ANOVA และค่านัยสำคัญทางสถิติโดยพิจารณาที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$

ผลการทดลอง

ระดับ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กีไอ

เชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กีไอมีการเพิ่มจำนวนในหนูทดลอง โดยดูได้จาก % Parasitemia ซึ่งจะสามารถตรวจพบได้ในวันที่ 2 หลังจากติดเชื้อ และจะมีการเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 12 จนกระทั่งหนูทดลองตาย (รูปที่ 1A) และเมื่อทำการตรวจวัดระดับของ BUN พบว่าจะมีระดับที่สูงที่สุดในวันที่ 10 หลังจากติดเชื้อและจะลดลงอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งหนูทดลองตาย (รูปที่ 1B) โดยลักษณะการเพิ่มขึ้นของระดับ BUN นี้สามารถบ่งชี้ถึงภาวะที่มีการอักเสบของไต ดังนั้นในการศึกษาต่อมาจึงเลือกใช้ที่เวลา 10 วันหลังจากติดเชื้อเพื่อดูภาวะที่มีการอักเสบของไต

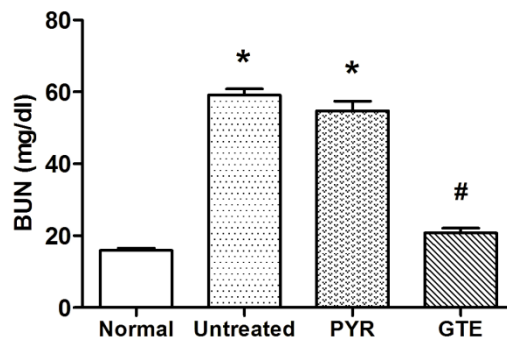


รูปที่ 1 (A) แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กีไอจำนวน 1×10^7 ในหนูทดลองเป็นเวลา 12 วัน (B) ระดับ BUN ในพลาสมาหลังจากที่มีการติดเชื้อเป็นเวลา 12 วัน สัญลักษณ์จะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลของสารสกัดชาเขียวต่อระดับ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กีไอ

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า หนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กีไอจะมีการอักเสบของไตเกิดขึ้น โดยดูได้จากการมีระดับ BUN ที่มากขึ้นในวันที่ 10 หลังจากติดเชื้อ ดังนั้นการศึกษต่อมาจึงสนใจที่จะนำสารสกัดชาเขียวมาใช้ในการลดระดับของ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อ จากผลการศึกษาในรูปที่ 2 พบว่า หนูทดลองในกลุ่ม Untreated และ PYR ซึ่งได้รับน้ำและยาไพริเมทามินตามลำดับจะมีระดับ BUN ที่สูงกว่ากลุ่ม Normal อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อได้รับสารสกัดชาเขียว (GTE) พบว่าระดับของ BUN ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่ม Untreated และระดับที่ลดลงนี้ไม่มีความแตกต่างจากหนูทดลองกลุ่ม Normal แสดง

ให้เห็นว่าเมื่อหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโม-เดียมเบอร์กิโอและได้รับสารสกัดชาเขียวจะสามารถช่วยลดการอักเสบของไตได้



รูปที่ 2 แสดงผลของสารสกัดชาเขียวต่อระดับ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กิโอ หนูทดลองจะได้รับเชื้อเข้าทางช่องท้องจำนวน 1×10^7 และได้รับน้ำเปล่า (Untreated) ยาไพริเมธามีน (PYR) สารสกัดชาเขียว (GTE) เป็นเวลา 10 วันติดต่อกัน เมื่อครบเวลาทำการวัดระดับ BUN ในพลาสมา * $p < 0.05$ เปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่มปกติที่ไม่ได้รับเชื้อ (Normal) # $p < 0.05$ เปรียบเทียบกับหนูทดลองกลุ่ม Untreated

การอภิปรายผล

การเสียชีวิตด้วยโรคมาลาเรียสาเหตุส่วนหนึ่งมาจากการเกิดภาวะไตอักเสบและไตวาย สามารถตรวจติดตามได้จากระดับของ BUN ในพลาสมาที่เพิ่มระดับสูงขึ้น (Elias, Correa-Costa et al. 2012) ดังนั้นการหาหรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรในธรรมชาติจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันหรือลดระดับของ BUN และภาวะไตอักเสบด้วย การศึกษาครั้งนี้ได้สนใจนำสารสกัดชาเขียว มาศึกษาฤทธิ์ในการลดระดับ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กิโอ เชื้อมาลาเรียจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในหนูทดลองและก่อให้เกิดภาวะไตอักเสบได้ ในวันที่ 10 โดยดูจากระดับ BUN ที่สูงขึ้น เนื่องจากในระหว่างที่มีการติดเชื้อจะเกิดภาวะอนุมูลอิสระและความเครียดออกซิเดชันมากขึ้น และเป็นเหตุให้เกิดการทำลายเซลล์ต่างๆของร่างกายโดยเฉพาะที่หน่วยกรองของไต (Glomerulus) ทำให้เกิดการอักเสบขึ้นจนไม่สามารถทำหน้าที่กรองผ่านได้ จึงเกิดการคั่งของ BUN เกิดขึ้นในร่างกายให้สูงขึ้นนั่นเอง นอกจากนี้เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียนั้นมีลักษณะที่ผิดปกติไป ทำให้สามารถไปทำลายหน่วยกรองของไตเมื่อเกิดการกรองขึ้นและมีภาวะไตอักเสบตามมา (Rui-Mei, Kara et al. 1998; Pulido-Mendez, Finol et al. 2006; Elias, Correa-Costa et al. 2012) การใช้ยาไพริเมธามีนในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียสามารถทำได้เป็นอย่างดี เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ของยาไพริเมธามีน ในการไปยับยั้งเอนไซม์ไดไฮโดรโฟลเลตรีดักเตส-ไทมิดิลเลตซินเทส (Dihydrofolate reductase-Thymidylate synthase) ของเชื้อมาลาเรียในวิถีการสังเคราะห์โฟลเลต (Folate biosynthesis pathway) (Hyde 1990) แต่มีรายงานพบว่าการใช้ยาไพริเมธามีนนั้นสามารถเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันขึ้นในร่างกายได้ (Legorreta-Herrera, Retana-Ugalde et al. 2010) และสามารถส่งผลให้เกิดการอักเสบของไตได้ด้วยเช่นเดียวกัน ดังนั้นการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรมาช่วยลดระดับของ BUN จึงยังคงมีความสำคัญ

การใช้สารสกัดชาเขียวมีการรายงานว่า สามารถลดระดับอนุมูลอิสระและภาวะเครียดออกซิเดชันได้นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการทำลายที่หน่วยกรองของไต และป้องกันการเกิดไตอักเสบได้ (Yokozawa, Noh et al. 2012) จากการนำสารสกัดชาเขียวมาใช้ในการศึกษานี้พบว่า สามารถลดระดับ BUN ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นการแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ของสารสกัดชาเขียวในการต้านอนุมูลอิสระ ลดภาวะเครียดออกซิเดชันจากการติดเชื้อมาลาเรีย และลดการอักเสบของไตตามมาโดยดูได้จากระดับ BUN ที่ลดลง โดยสารสำคัญที่อยู่ในสารสกัดชาเขียวคือ catechins (Catechins) แต่อย่างไรก็ตามควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเกี่ยวกับการใช้สารสกัดชาเขียวในการลดระดับ BUN และภาวะไตอักเสบในระหว่างที่มีการติดเชื้อมาลาเรีย โดยเฉพาะการนำสารสกัดชาเขียวมาใช้รักษา ร่วมกับกับยาต้านมาลาเรียชนิดต่างๆ เพื่อดูการเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคมมาลาเรียและลดภาวะไตอักเสบด้วย

การศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดชาเขียวสามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งและลดระดับของ BUN ในหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสโมเดียมเบอร์กีไอ

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากสำนักวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น, ขอขอบคุณคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีน-ลิแกนด์และชีววิทยาโมเลกุล ไปโอเทค สวทช.

เอกสารอ้างอิง

- Demeule, M., J. Michaud-Levesque, et al. (2002). "Green tea catechins as novel antitumor and antiangiogenic compounds." *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2(4): 441-463.
- Elias, R. M., M. Correa-Costa, et al. (2012). "Oxidative stress and modification of renal vascular permeability are associated with acute kidney injury during P. berghei ANKA infection." *PLoS One* 7(8): e44004.
- Hanson, J., M. M. Hasan, et al. (2011). "Laboratory prediction of the requirement for renal replacement in acute *falciparum* malaria." *Malar J* 10: 217.
- Hyde, J. E. (1990). "The dihydrofolate reductase-thymidylate synthetase gene in the drug resistance of malaria parasites." *Pharmacol Ther* 48(1): 45-59.
- Khan, S. A., S. Priyamvada, et al. (2009). "Studies on the protective effect of green tea against cisplatin induced nephrotoxicity." *Pharmacol Res* 60(5): 382-391.
- Legorreta-Herrera, M., R. Retana-Ugalde, et al. (2010). "Pyrimethamine induces oxidative stress in *Plasmodium yoelii* 17XL-infected mice: a novel immunomodulatory mechanism of action for an old antimalarial drug?" *Exp Parasitol* 126(3): 381-388.
- Nakagawa, T., T. Yokozawa, et al. (2004). "Activity of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate against oxidative stress in rats with adenine-induced renal failure." *J Agric Food Chem* 52(7): 2103-2107.

- Nanda, R., P. K. Mishra, et al. (2004). "Evaluating role of oxidative stress in determining the pathogenesis of *falciparum* malaria induced acute renal failure." *Indian J Clin Biochem* 19(1): 93-96.
- Peters, W., J. H. Portus, et al. (1975). "The chemotherapy of rodent malaria, XXII. The value of drug-resistant strains of *P. berghei* in screening for blood schizontocidal activity." *Ann Trop Med Parasitol* 67(2): 155-171.
- Pulido-Mendez, M., H. J. Finol, et al. (2006). "Ultrastructural pathological changes in mice kidney caused by *Plasmodium berghei* infection." *J Submicrosc Cytol Pathol* 38(2-3): 143-148.
- Renno, W. M., S. Abdeen, et al. (2008). "Effect of green tea on kidney tubules of diabetic rats." *Br J Nutr* 100(3): 652-659.
- Rui-Mei, L., A. U. Kara, et al. (1998). "*In situ* analysis of adhesion molecule expression in kidneys infected with murine malaria." *J Pathol* 185(2): 219-225.
- Singleton, V. L., R. Orthofer, et al. (1999). "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent." *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- Sitprija, V., M. Vongsthongsri, et al. (1977). "Renal failure in malaria: a pathophysiologic study." *Nephron* 18(5): 277-287.
- Vuong, Q. V., J. B. Golding, et al. (2011). "Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water." *J Sep Sci* 34(21): 3099-3106.
- Yokozawa, T., J. S. Noh, et al. (2012). "Green Tea Polyphenols for the Protection against Renal Damage Caused by Oxidative Stress." *Evid Based Complement Alternat Med* 2012: 845917.