UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Efeitos do tratamento do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* sobre alterações bioquímicas e histológicas de um modelo animal de diabetes.

RICARDO APARECIDO PEREIRA

GUARAPUAVA
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Efeitos do tratamento do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* sobre alterações bioquímicas e histológicas de um modelo animal de diabetes.

Ricardo Aparecido Pereira

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Centro-Oeste em associação ampla com a Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADOR: PROFº DR. CARLOS RICARDO MANECK MALFATTI
CO-ORIENTADOR:PROFº DR. WEBER CLAÚDIO FRANCISCO NUNES DA SILVA

Guarapuava
2014

PEREIRA, Ricardo Aparecido.
Efeitos do tratamento do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* sobre alterações bioquímicas e histológicas de um modelo animal de diabetes. Ricardo Aparecido Pereira. -- Guarapuava, PR, 2014.

66f.

Dissertação (Mestrado) em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Centro – Oeste, PR.
Orientador: Carlos Ricardo Maneck Malfatti
Co-orientador: Weber Cláudio Francisco Nunes da Silva

1.Farmácia - diabetes. 2. plantas medicinais. 3. Glicemia. 4.Baccharis. I. Malfatti, Carlos Ricardo Maneck. II. Título.

Dedico este trabalho a Albimara e João Pedro, meus presentes divinos,

Aos meus primeiros mestres e amigos José Carlos e Madalena,

Ao amigo e compadre Eduardo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida. Pela força, paz e saúde dados e por, diariamente, ajudar-me a ser uma pessoa melhor. Obrigado Senhor!

Agradeço a minha esposa Albimara pelo apoio e incentivo incondicional em todo o desenvolvimento desse trabalho. Sem você, certamente, tudo seria mais difícil e sem graça.

Agradeço a minha família, meus pais José Carlos e Madalena e meu irmão Eduardo que sempre apóiam e torcem por meu sucesso. Aos meus sogros Albino e Maria Helena, e minha cunhada Leydimara obrigado pela ajuda e incentivo. A minha sobrinha Rafaela obrigado pela ajuda com os bichinhos.

Agradeço pela ajuda e apoio dos meus colegas do laboratório de pesquisa Biomed, Andressa Pezoti, Guilherme Augusto Martins, Tiago Czervinski, Janaína Túrmina e Andrieli Woelmer. E, ao meu braço direito (e muitas vezes o esquerdo também nesse projeto), meu amigo, Renan Garcia Michel. Muito obrigado pessoal!

Agradeço ao amigo Luiz Augusto da Silva pelas ajudas e dicas em toda a construção desse trabalho, especialmente na parte prática.

Agradeço ao meu orientador e amigo prof. Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti pela competência em conduzir a orientação desse trabalho e pela confiança em mim depositada.

Agradeço aos amigos do Laboratório Bioclínico Góes. Dr. Celso, Dra. Simara, Dra. Ana Elisa, Dr. João Frederico, Lúcia, Karina, Daniela, Juliana, Samara e todos os colegas obrigado pelo incentivo, ajuda e apoio nesse projeto.

Agradeço aos amigos da Faculdade Campo Real pelo auxílio nesse trabalho.

"O pensamento lógico pode levar você de A a B, mas
a imaginação te leva a qualquer parte do Universo."
Albert Einstein

RESUMO

Introdução: Nos últimos anos o Diabetes vem ganhando grandes proporções, destacando-se como uma epidemia mundial. É uma patologia caracterizada por hiperglicemia e esta associada a diversas complicações, disfunções e insuficiência de vários órgãos. Pode resultar de defeitos de secreção e/ou ação da insulina envolvendo processos patogênicos específicos. Devido ao grande número de casos, a doença causa um enorme ônus aos cofres públicos. Nesse sentido, atenção especial tem sido dispensada aos diferentes níveis preventivos da doença. Para tanto, várias espécies de plantas vêm sendo utilizadas para tratar e ou combater os sintomas do Diabetes mellitus. O presente trabalho utilizou extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* popularmente conhecida como vassoura ou alecrim-do-campo, é amplamente utilizada na medicina caseira. A infusão de suas folhas é empregada para problemas hepáticos, disfunções estomacais e como antiinflamatório.**Métodos:** Foram utilizados 24 ratos adultos da linhagem Wistar tratados por 28 dias. Os animais foram divididos em 4 grupos da seguinte maneira: CS – Controle Salina (tratados com solução de "Tween 80" e água destilada); CP – Controle Planta (tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*); DS – Diabético Salina (induzidos ao diabetes, tratados com solução de "Tween 80" e água destilada) e; DP – Diabético Planta (induzidos ao diabetes, tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*) . A indução do diabetes foi realizada pela administração de 50 mg/kg de estreptozotocina (STZ). Os animais foram avaliados quanto a evolução ponderal. No 14◦ dia de tratamento os animais passaram por TOTG, gota de sangue caudal. Ao final do tratamento os animais foram eutanasiados para a retirada de amostras de sangue e tecidos para determinação de parâmetros bioquímicos, hormonais e confecção de lâminas histológicas e quantificação de TBARS via malondialdeído em tecido renal e hepático. **Resultados e Discussão:** Verificou-se diferença estatística para os grupos DS e DP para parâmetros creatinina ($p<0.05$), uréia ($p<0.01$) e triglicérides ($p<0.01$). Para os analitos creatinina e triglicérides DP foi considerado estatisticamente igual aos grupos não diabéticos (CS e CP). A insulina plasmática apresentou significância estatística ($p <0.01$) entre os grupos diabéticos, com concentrações mais elevadas para o DP. No TOTG DP, ao jejum, foi comparável estatisticamente com os controles não diabéticos (CP e CS), nas quantificações seguintes DP foi estatisticamente diferente de todos os grupos, apresentando valores intermediários entre os grupos não diabéticos (CP e CS) e o grupo controle diabético (DS). O grupo DP apresentou uma redução significativa na peroxidação lipídica quando comparado ao grupo DS, redução essa comparável com os grupos não diabéticos. O grupo diabético tratado com extrato apresentou dano tecidual de menor intensidade quando comparado ao grupo DS. Os grupos de animais não diabéticos (CS e CP) não apresentaram alterações histológicas **Conclusão**: O extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* promoveu queda das níveis de glicose capilar ao jejum de ratos induzidos a diabetes por STZ; Ocorreu queda de valores de triglicerídeos, creatinina e uréia de animais STZ induzidos; O extrato da planta apresentou proteção de dano em órgãos (fígado, rins e pâncreas) de animais diabéticos induzidos; Ocorreu diferença estatística na liberação de insulina entre os animais diabéticos, onde os animais tratados obtiveram concentrações superiores.

Palavras-chave: Diabetes, Plantas medicinais, Glicemia, Baccharis

ABSTRACT

Introduction: In recent years diabetes has been gaining major, standing out as a worldwide epidemic. It is a disorder characterized by hyperglycemia and is associated with several complications, dysfunction and failure of various organs. May result from defects in secretion and/or insulin action involving specific pathogenic processes. Due to the large number of cases , the disease causes a huge burden on the public purse. In this sense , special attention has been given to the different levels of disease prevention. To this end, several plant species have been used to treat and or combat the symptoms of diabetes mellitus . The present study utilized methanol extract of *Baccharis dracunculifolia* popularly known as broom or rosemary - of - field , is widely used in folk medicine . The infusion of the leaves is used for liver problems, stomach disorders and how antiinflammatory. **Methods**: 24 adult Wistar rats treated for 28 days were used. The animals were divided into 4 groups as follows: CS - Saline Control (treated with a solution of "Tween 80" and distilled water) CP - Control plant (treated with the extract of B. dracunculifolia); DS - Diabetic Saline (induced diabetes , treated with a solution of "Tween 80" and distilled water), SD - diabetic Plant (induced diabetes treated with extract of *B. dracunculifolia*) . The induction of diabetes was performed by administering 50 mg / kg streptozotocin (STZ). The animals were evaluated for weight gain. At 14◦ day of treatment the animals underwent OGTT, drop of blood flow. At the end of the treatment the animals were euthanized for withdrawal of blood samples and tissues for determination of biochemical parameters, hormonal and preparation of histological slides and quantification of TBARS via malondialdehyde in renal and hepatic tissue. **Results and Discussion**: There was statistical difference for the DS and DP groups parameters for creatinine ($p < 0,05$) , urea ($p < 0.01$), and triglycerides ($p < 0:01$). For creatinine and triglycerides analytes DP was considered statistically equal to the nondiabetic groups (CS and CP). Plasma insulin was statistically significant ($p < 0.01$), between the diabetic groups, with higher concentrations for the DP . DP on the OGTT , fasting , was statistically comparable with nondiabetic controls (CP and CS) , the following measurements SD was statistically different from all groups , with intermediate values between diabetic nondiabetic groups (CP and CS) and the control group (SD) . The PD group showed a significant reduction in lipid peroxidation when compared to the DS group, this reduction comparable to the non-diabetic groups . The diabetic group treated with extract showed less severe tissue damage when compared to the DS group. Groups of non-diabetic animals (CS and CP) had normal histology. **Conclusion**: The methanol extract of Baccharis dracunculifolia promoted the decrease of capillary glucose levels of fasting rats induced by STZ diabetes , a decreased value of triglycerides , creatinine and urea STZ -induced animals , the plant extract showed protection from damage to organs (liver , kidneys and pancreas) induced diabetic animals ; occurred statistical difference in insulin release in diabetic animals where treated animals had higher concentrations.

Keywords: Diabetes, Herbal medicine, Glucose, Baccharis.

Lista de Figuras

Figura 1 - Insulina plasmática ao final de tratamento.....18

Figura 2 - *Baccharis dracunculifolia* pulverizado e folhas secas.....21

Figura 3 – Processo de filtragem do extrato da planta *B. dracunculifolia*.....21

Figura 4 – Processo de evaporação do extrato da planta *B. dracunculifolia*.....21

Figura 5 – Coleta de sangue por punção caudal e dosagem em glicosímetro.....23

Figura 6 – Insulina plasmática ao final de tratamento.....27

Figura 7 – Glicemia capilar durante tratamento.....28

Figura 8 – Evolução da glicemia no teste oral de tolerância a glicose.....29

Figura 9 – Níveis de peroxidação lipídica em fígado.....30

Figura 10 – Níveis de peroxidação lipídica em rim.....31

Figura 11 – Cortes histológicos de fígado dos grupos.....33

Figura 12 – Apresenta peso do fígado do animais ao sacrifício.....33

Figura 13 – Cortes histológicos de pâncreas dos grupos.....34

Figura 14 – Apresenta peso do pâncreas do animais ao sacrifício.....34

Figura 15 – Cortes histológicos do rim dos grupos.....35

Figura 16 – Apresenta peso do rim dos animais ao sacrifício.....35

Lista de Tabela

Tabela 1 – Efeito do *Baccharis dracunculifolia* no peso corpóreo dos animais.....25
Tabela 2 – Efeito do *Baccharis dracunculifolia* nos parâmetros bioquímicos.....26

Lista de abreviaturas

IRA	insuficiência renal aguda
DM	Diabetes mellito
TOTG	Teste oral de tolerância a glicose
STZ	Estreptozotocina
DP	Diabético tratado com planta
DC	Diabético salina
CS	Controles salina
CP	Controle planta
ERO	Espécies reativas de oxigênio

Sumário

1. **INTRODUÇÃO** 1

1.2 OBJETIVOS 3

1.2.1 OBJETIVO GERAL 3

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 3

2. **REVISÃO DE LITERATURA** 4

2.1 DIABETES MELLITUS 4

2.1.2 CLASSIFICAÇÃO DO DIABETES MELLITUS 5

2.1.3 FISIOPATOLOGIA 5

2.1.4 TRATAMENTO DM 7

2.1.5 PLANTAS MEDICINAIS 8

2.1.6 PLANTAS MEDICINAIS E DIABETES 10

2.1.7 GÊNERO BACCHARIS 12

2.1.8 BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA 13

3.1 ANIMAIS DO EXPERIMENTO 16

3.2 DELINEAMENTOS EXPERIMENTAIS 17

3.2.1 INDUÇÃO À DIABETES 17

3.2.2 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS 17

3.3 PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA 18

3.4 ADMINISTRAÇÃO DOS TRATAMENTOS 18

3.4.1 GAVAGEM 18

3.5 MATERIAL BOTÂNICO 19

3.5.1 PREPARAÇÃO DO EXTRATO 19

3.6 EVOLUÇÃO PONDERAL 22

3.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS E HORMONAIS 22

3.7.1 ALANINA TRANSAMINASE, ASPARTATO TRANSAMINASE, COLESTEROL TOTAL, CREATININA, GLICOSE, HEMOGLOBINA GLICADA, TRIGLICERÍDEOS E URÉIA. 22

3.7.2 ANÁLISES HORMONAIS 22
3.7.3 TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE 23
3.7.4 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA 23
3.7.5 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA 24
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 24
4 RESULTADOS 26
4.1 EVOLUÇÃO PONDERAL 26
4.2 DADOS BIOQUÍMICOS E HORMONAIS 27
Fonte: Dados primários do experimento.4.3 TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE. 29
4.3 TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE. 30
4.3 NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA 31
4.5 HISTOLOGIA 33
5 DISCUSSÃO 37
6. CONCLUSÃO 44
7. REFERENCIAS 45

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o Diabetes vem ganhando grandes proporções, destacando-se como uma epidemia mundial. A mudança nos hábitos de vida das pessoas, com o advento de uma alimentação mais calórica e a falta da prática de exercícios físicos, são fatores centrais no desenvolvimento de estados patológicos dentre os quais destaca-se o Diabetes (BRASIL, 2006).

Dados demonstram que o Diabetes é uma doença fatal, mortalidade em torno de 3 milhões de pessoas a cada ano em todo o mundo, e grande morbidade, devido a maior propensão que os pacientes diabéticos tem em desenvolver complicações crônicas, como cardiopatias, nefropatias, neuropatias e retinopatias. Evidências experimentais e clínicas, demonstram que as complicações advindas dos distúrbios metabólicos, provém principalmente da hiperglicemia (PETERSEN; SHULMAN, 2006; RANG, 2004).

Devido ao grande número de casos, a doença pode ser vista como um problema de saúde pública mundial, uma vez que causa um enorme ônus aos cofres públicos. Nesse sentido, atenção especial tem sido dispensada aos diferentes níveis preventivos da doença. Para tanto, várias espécies de plantas vêm sendo utilizadas etnofarmacologicamente ou em ensaios clínicos para tratar e ou combater os sintomas do Diabetes Mellitus (ALVES, 2007; KALLUF, 2008).

A utilização das plantas medicinais, para tratamentos de doenças, é uma prática muito antiga, sendo encontrada ao longo da história em todas as populações mundiais e em diferentes grupos étnicos conhecidos. A partir deste uso popular é que foram descobertos diversos medicamentos utilizados na medicina tradicional, constituindo-se um importante recurso para a descoberta de novos fármacos (MARTINS, 2000; ROCHA et al., 2006).

Logo, neste contexto, demostra-se a importância de estudos com plantas medicinais com a finalidade de identificar substâncias com atividade antiglicêmica. Aspecto este que permite confirmar a relevância deste estudo para o âmbito do meio científico, além de seus alcances sócio-econômicos, visando a contribuição para a redução dos impactos negativos da DM na sociedade.

O referido trabalho gerou a seguinte patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR102012020540-8, data de depósito: 16/08/2012, título: "O EXTRATO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA AMPLIFICA A SECREÇÃO DE INSULINA IN VIVO" , Instituição de registro:INPI.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar estresse oxidativo, de um modelo animal de diabetes, tratado cronicamente com de extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia*.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste estudo consistem em:

i. Avaliar a evolução do ponderal dos animais;
ii. Analisar os efeitos do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* nos parâmetros bioquímicos;
iii. Avaliar os efeitos do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* na histologia do rim, fígado e pâncreas;
iv. Analisar níveis de peroxidação lipídica, em resposta ao tratamento pelo extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia*, quantificando malondialdeido e correlacionando-os com estresse oxidativo;

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DIABETES MELLITUS

O diabetes mellitus (DM) é uma patologia caracterizada por hiperglicemia e esta associada a diversas complicações, disfunções e insuficiência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, cérebro, coração e vasos sanguíneos. Pode resultar de defeitos de secreção e/ou ação da insulina envolvendo processos patogênicos específicos, por exemplo, destruição das células beta do pâncreas produtoras de insulina. (BRASIL, 2006).

A prevalência mundial da doença tem apresentado um crescimento com proporções epidêmicas, existindo cerca de 171 milhões de diabéticos em todo o mundo e estima-se que, em 2030, serão aproximadamente 366 milhões de diabéticos. Esse aumento na prevalência deve-se à maior longevidade das pessoas, associado a mudanças no estilo de vida, como o crescente consumo de gorduras saturadas, sedentarismo e obesidade (LYRA et al., 2010).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o diabetes é considerado uma epidemia mundial e os países em desenvolvimento, como o Brasil, serão os mais atingidos pela doença no século XXI, chegando a apresentar um índice de 7,6% da população brasileira de diabéticos, dos 70% que vivem em países em desenvolvimento, dos quase 285 milhões no mundo, assim, o Brasil ocupa a 10ª posição dos países com o maior número de diagnósticos (THENT; DAS; HENRY, 2013).

2.1.2 CLASSIFICAÇÃO DO DIABETES MELLITUS

O DM é classificado em três principais formas, o diabetes tipo 1, quando existe deficiência absoluta de insulina; diabetes tipo 2, caracterizado por resistência e insuficiente secreção da insulina; e o diabetes gestacional, que acomete mulheres grávidas. Alto percentual (85 a 90%) dos portadores de DM tipo 2 são portadores de síndrome metabólica, que é caracterizada por diversas condições que aumentam o risco cardiovascular como, por exemplo, hipertensão arterial e dislipidemia dentre outras. (FRÁGUAS; SOARES; BRONSTEIN, 2009).

O DM tipo 1 representa cerca de 5% a 10% dos casos de DM e pode ser imunomediado ou idiopático. É considerada uma doença auto-imune quando são identificados anticorpos específicos que levam à destruição das células beta pancreáticas. Quando não identificados tais mecanismos, é considerado como idiopático. Os portadores de DM tipo 1 apresentam tendência à cetoacidose, uma complicação aguda do DM (LAGANI et al, 2012).

2.1.3 FISIOPATOLOGIA

O DM é uma doença crônica que tem como principal característica a hiperglicemia, sua etiologia é múltipla devido as anormalidades endócrinas ocorridas no pâncreas o que pode ser ocasionado pela secreção inadequada de insulina pelas células β pancreáticas ou ainda por defeito da ação de insulina o que representa uma resistência de insulina no organismo, e a DM também é ocasionada pelo o aparecimento destes dois fatores anteriormente descritos (ENGELGAU; NAYARAN; HERMAN, 2000; LOPES, 2009).

A principal função da insulina é promover a entrada de glicose nas células do organismo, de modo que ela possa ser aproveitada para as diversas atividades celulares.

A falta da insulina ou um defeito na sua ação resulta, portanto, em acúmulo de glicose no sangue, o que chamamos de hiperglicemia. Além da hiperglicemia, existem outras complicações provenientes do diabetes, uma delas é a hipoglicemia. A hipoglicemia é a complicação aguda mais frequente no tratamento do diabetes. Sua ocorrência é de extrema importância, tanto pelos efeitos clínicos agudos e sua potencial gravidade, quanto pelas possíveis sequelas neurológicas decorrentes de casos graves e repetidos. Além das consequências objetivamente mensuráveis, os efeitos de episódios de hipoglicemia, principalmente se ocorridos no início do tratamento, podem ter consequências devastadoras na adesão futura, comprometendo para sempre o controle glicêmico de um determinado paciente (ZAGURY, 2005).

O DM tipo 1 indica destruição da célula beta que eventualmente leva ao estágio de deficiência absoluta de insulina, quando a administração de insulina é necessária para prevenir cetoacidose, coma e morte. A destruição das células beta é geralmente causada por processo auto-imune, que pode se detectado por auto-anticorpos circulantes como anti-descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD), anti-ilhotas e anti-insulina, e, algumas vezes, está associado a outras doenças auto-imunes como a tireoidite de Hashimoto, a doença de Addison e a miastenia gravis. Em menor proporção, a causa da destruição das células beta é desconhecida (tipo 1 idiopático). O desenvolvimento do diabetes tipo 1 pode ocorrer de forma rapidamente progressiva, principalmente, em crianças e adolescentes, ou deforma lenta e progressiva, geralmente em adultos. DM tipo 2 é usado para designar uma deficiência relativa de insulina. A administração de insulina nesses casos, quando efetuada, não visa evitar cetoacidose, mas alcançar controle do quadro hiperglicêmico (BRASIL, 2006).

A hiperglicemia, em exposição prolongadas, é reconhecida como sendo uma das principais causas de complicações do DM devido ao processo de formação de produtos

de glicolisação. A ação desses compostos no organismo é responsável por diferentes alterações observadas como por exemplo a diminuição da função de leucócitos polimorfonucleares, aumento da destruição tissular e discrepância na produção de citocinas (SANTANA, 2003; REIS et al., 2008).

Conforme descrito na literatura múltiplos fatores estão associados a origem e as complicações do DM. A hiperglicemia crônica e o estresse oxidativo aumentado tem sido apontados com papel central nessas alterações (DECKERT, POUSEN, 1978; DCCT, 1993). Lesões celulares oxidativas associadas a radicais livres e a baixa de defesas antioxidantes correlacionam-se e contribuem para o aumento das complicações associadas ao DM (BROWNLEE, 2001).

A resistência à insulina e hiperinsulinemia são comuns em dadas situações clínicas e podem, inclusive, até serem encontradas em pacientes saudáveis. Contribuindo para o desenvolvimento do conceito de síndrome metabólica, vários estudos indicam que a anormalidade citada acima esta relacionada com dislipidemia, hiperuricemia e hipertenão (REAVEN, 1988; TOBAY, 1981).

Estudos já associaram o aumento das concentrações de glicose com aumento da produção de espécies reativas de oxigênio. Devido a isso, foi assumido que substâncias antioxidantes seriam eficazes na diminuição da lesão tecidual oriunda do estresse oxidativo (SHEIKH-ALI; CHEHADE; MOORADIAN, 2011; MOORADIAN, 2006; MARITIM; SANDERS; WARKINS, 2003). Nesse contesto a busca por tratamentos que se destinam a reduzir o estresse oxidativo parece justificado.

2.1.4 TRATAMENTO DM

O plano terapêutico para o tratamento do DM depende da forma de apresentação da doença e de sua complexidade. Fato que faz com que o DM possui um manejo de

tratamento relativamente complexo, uma vez que, além de tratamento medicamentoso há a necessidade de mudanças de hábitos de vida no paciente (GROSS; NEHME, 1999).

A terapia é individualizada, para pacientes DM tipo 1 é importante, devido a complexidade da doença, acompanhamento de um endocrinologista. É importante o paciente estar informado sobre riscos para o desenvolvimento de doença aterosclerótica e ser orientado sobre hábitos de vida saudáveis para prevenção. Alguns programas de mudanças de estilo de vida devem ser estabelecidos e recomendados especialmente a pacientes de maior risco (ASSUNÇÃO, URSINE, 2008). Controle nutricional deve ser adotado a pacientes diabéticos, uma vez que estudos como o de Nieman (2011) demonstram que pacientes que se alimentam adequadamente têm menor probabilidade de desenvolver DM. Diferentes formas de tratamento medicamentoso podem ser utilizadas, dependendo do tipo da patologia, indo da utilização de insulina ao uso de antidiabéticos orais (ROY; LLOYD, 2012).

Alterações lipídicas são comumente observadas no DM, elas são uma das principais causas de doenças cardiovasculares. Nesse sentido é preconizado que os tratamentos para DM devem auxiliar na redução de níveis lipídicos (GOLDBERG, 2001). A deficiência de insulina conduz a acúmulo de lipídios, tais como o CT e os TG em diabéticos (PATTABIRAMAN, MUTHUKUMARAN; 2011) . A alta concentração anormal de lipídios no soro do indivíduo diabético é principalmente devido ao aumento na mobilização de ácidos gordos livres a partir dos depósitos de gordura periférica (SHARMA, 2011).

2.1.5 PLANTAS MEDICINAIS

As pesquisas conduzidas a partir da indicação de plantas utilizadas por comunidades humanas possibilitam o desenvolvimento de uma novas drogas em um

menor espaço de tempo, já que os pesquisadores dispõem, antes mesmo de iniciarem os estudos científicos, de uma indicação acerca da atividade biológica que esta droga poderia apresentar (FUNARI; FERRO, 2005).

A regulamentação e a comercialização de drogas de origem vegetal são regidas por um conjunto de normas estabelecidas por cada país. No Brasil, o principal órgão fiscalizador deste setor é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Apesar de possuir regras rígidas, estas ainda não são suficientes para impedir a fraude e a má qualidade dos fitoterápicos brasileiros; estes fatores, somados a uma utilização incorreta pela população, propiciam a ineficácia dos produtos comercializados (MELO et al., 2007).

O uso de plantas medicinais sob várias formas de apresentação é bastante comum. O hábito do consumo dos produtos naturais possui um aspecto importante, pois o conhecimento sobre plantas medicinais é de domínio popular e nos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos contêm um forte componente social e cultural, pois estes vegetais muitas vezes representam o único recurso terapêutico para muitas comunidades (ALVES, 2007).

No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Muitas vezes, essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas. Comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos pode parecer trivial, entretanto, a toxicidade de plantas medicinais é um problema sério para a saúde pública. Os efeitos adversos dos fitomedicamentos, possíveis adulterações e toxidez, bem como a ação sinérgica

(interação com outras drogas), ocorrem frequentemente (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

A fitoterapia é uma área ampla, sendo necessário para a melhor compreensão conhecer algumas definições importantes que a envolvem. Primeiramente, é importante diferenciar planta medicinal de fitoterápico. Para Veiga Junior e colaboradores (2005) a planta medicinal é "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos". O fitoterápico, por sua vez, é um medicamento tecnicamente obtido, com formulação específica, empregando-se apenas matéria prima de fonte vegetal, cujo efeito tenha sido comprovado cientificamente (KALLUF, 2008).

É importante salientar que a droga vegetal, que é a planta inteira, ou as partes, que após a coleta, secagem, estabilização e conservação, passam a ser utilizadas na preparação de medicamentos, considerando que o princípio ativo é o responsável pelos efeitos terapêuticos, tanto das plantas *in natura*, na forma de droga vegetal ou nas diferentes formas farmacêuticas (MACIEL et al, 2002).

2.1.6 PLANTAS MEDICINAIS E DIABETES

As plantas medicinais representam atualmente a origem de 25% dos fármacos utilizados, sendo que isto se deve a grande flora mundial e as importantes propriedades terapêuticas conhecidas. No Brasil, várias são as pesquisas realizadas que vem contribuindo significativamente para o desenvolvimento e uso destas espécies vegetais, pois vem comprovando efeitos terapêuticos, possibilitando a utilização destas para tratamento de patologias (KALLUF, 2008).

Conforme estudos científicos realizados com plantas medicinais ao longo dos anos, algumas plantas medicinais já receberam confirmação das ações terapêuticas

hipoglicemiantes, sendo as mais citadas: *Baccharis trimera*(Less.) DC. (carqueja), *Bauhinia forficata* Link. (pata de vaca), *Salvia Officinalis* L. (salvia), *Mormodica charantia*L. (melão de São Caetano), *Phyllantus niruri* L. (quebra-pedra) e *Myrcia sphaerocarpa* DC. (insulina vegetal) (DORNAS et al., 2009).

As plantas medicinais apresentam benefícios múltiplos, como o controle do metabolismo de carboidratos, através de vários mecanismos como a prevenção e restauração da integridade e função das células ß-pancreáticas, a atividade estimulante da liberação de insulina, a melhora da captação e utilização da glicose e suas propriedades antioxidantes, fazendo das plantas um excelente alvo para o desenvolvimento de novos modelos terapêuticos (NEGRI, 2005). Para Sousa et al. (2007), as substâncias naturais antioxidantes com atividade hipoglicemiante são agentes terapêuticos em potencial na prevenção e no tratamento das complicações do diabetes.

A utilização de plantas no tratamento de DM é antigo e diferentes são os mecanismos evidenciados em plantas para baixar os níveis de glicose. *Enicostemma littorale* obteve em estudo de Maroo et al (2002) propriedade similar a glibencamida quanto ao efeito hipoglicêmico pelo estímulo da produção de insulina pelas células beta pancreáticas. Kasiviswanath e colaboradores (2005) descreveram para *Gmelina asiatica* atividade hipoglicemiante associada a inibição dos canais de ATPase de K+ em células beta pancreáticas. Outros autores atribuem à propriedades antioxidantes de substâncias presentes na composição dos extratos das plantas. A presença de flavonóides e de compostos fenólicos foram relatadas como componentes com atividade antioxidante. Outros estudos verificaram facilitação do controle da homeostase da glicose em animais diabéticos (ANDERSON, 1985; DORNAS et al., 2019). Haeri et al. (2012) obteve resultados de controle de glicemia capilar semelhantes aos efeitos da administração de insulina utilizando extratos de semente de *Trigonella foenum-graecum*. Wu (2013)

utilizando *Pueraria lobata* observou efeito secretório de insulina em ratos STZ-induzidos.

2.1.7 GÊNERO BACCHARIS

O gênero *Baccharis* pertence à família Asteraceae e à subfamília Asteroideae. Esta compreende cinco gêneros sulamericanos e muito parecidos entre si (BARROSO ET AL., 1978). A origem do nome *Baccharis* (*Bakkharis)* vem do grego, antiga denominação para algumas plantas arbustivas e chegou a ser empregado para designar espécimes que nada têm a ver com as que hoje em dia recebem esse nome (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

Espécies desse gênero são importantes economicamente para o homem pois ajudam no combate à erosão e podem ser utilizadas como plantas ornamentais, embora também possam se apresentar como pragas de difícil combate em pastagens, podendo intoxicar o gado. Entretanto, o destaque maior está na medicina, onde várias espécies são utilizadas popularmente (SIMÕES-PIRES et al, 2005).

Estudos fitoquímicos do gênero *Baccharis* demonstram presença de substâncias com propriedades antioxidantes tais como compostos fenólicos e flavonóides (FABIANE et al, 2008). No gênero *Baccharis* destacam-se em uso medicinal algumas espécies dentre elas o *Baccharis dracunculifolia*, planta utilizada nesses estudo.

Outras plantas do gênero Baccharis são utilizadas popularmente para diferentes fins e algumas espécies já foram descritas como apresentado atividade hipoglicemiante (OLIVEIRA et al., 2005). *B. teindalensis* é amplamente utilizado na medicina popular no Equador como um remédio antiinflamatório, analgésico e antimicrobiana. A atividade anti diarréica e antiúlcera de *B. teindalensis* também já foi descrita por Vidari e colaboradores (2003), que sugerem que esse efeito deve-se às propriedades anti-inflamatórias da planta. Outra planta utilizada popularmente para tratar desordens

gástricas é *B. illinita* que tem ação protetora contra lesões gástricas (BAGGIO et al., 2003) e apresentou efeito anti-inflamatório tópico (BOLLER, 2010). *Baccharis trimera*, popularmente conhecida como "carqueja", em estudo de Oliveira (2005) apresentou atividade hipoglicemia ao se administrar extrato aquoso da planta em animais diabéticos.

2.1.8 BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA

A espécie *Baccharis dracunculifolia* DC (De Candole), é popularmente conhecida como vassoura ou alecrim-do-campo, é amplamente utilizada na medicina caseira. A infusão de suas folhas é empregada para problemas hepáticos, disfunções estomacais e como antiinflamatório. Estudos de literatura relatam o uso medicinal e religioso do “alecrim-do-campo” comercializado em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro (AZEVEDO; SILVA, 2006), assim como a utilização das folhas para feridas e o uso dos ramos, em decocto, como antifebril (RODRIGUES; CARVALHO, 2001). É uma planta dióica com as inflorescências masculinas e femininas, cujo arbusto cresce em quase todo o Brasil, e a principal fonte botânica da própolis verde no sudeste do país.

Uma característica dos compostos fenólicos das própolis analisadas e da espécie vegetal de *B. dracunculifolia* foi a alta proporção de artepilina C e outros derivados do ácido cinâmico. Com base nas evidências fitoquímicas, *B. dracunculifolia* foi identificada como a principal fonte vegetal das própolis produzidas nos estados de São Paulo e Minas Gerais (SIMÕES-PIRES et al, 2005).

O extrato de *B. dracunculifolia* mostrou a presença de germacreno-D, biciclogermacreno, assim como derivados prenilados do ácido coumarinico. Germacreno-D e o biciclogermacreno (14%) estão entre os principais compostos do

óleo essencial em conjunto com o delta-cadineno (13%) e germacrona (5%). Os extratos aquosos da própolis de *B. dracunculifolia* e de partes da planta contêm o ácido 3,4-di-O-ácido-cafeoilquinico, ácido-3.5-di-O-cafeoilquinico e o ácido clorogênico. Além disso, 27 compostos incluindo os diterpenos labdânicos, compostos prenilatedos, flavonóides e outros fenólicos que foram isolados préviamente da própolis, foram identificados também no extrato metanólico de B. dracunculifolia. Entre eles, 24 compostos foram detectados nas gemas, indicando que deve ser uma fonte importante da própolis. A origem botânica de 19 componentes foi pela primeira vez estabelecida para B. dracunculifolia (MIDORIKAWA et al., 2001; LOAYZA et al., 1995; KADOTA et al, 2003).

Estudo de Alencar e colaboradores (2005) encontrou na espécie vegetal *B. dracunculifolia* e no própolis oriundo dessa alta proporção de artepilina C e outros derivados do ácido cinâmico, substâncias essas pertencentes ao grupo dos compostos fenólicos. Em estudos realizados por Boldt (1989) com 12 espécies de Baccharis, foi possível identificar, como componentes de folhas e galhos de espécies deste gênero, terpenóides como ε-nerolidol, espatulenol, δ-e cadineno-β caryophilene encontrada em *Baccharis dracunculifolia*.

2.2 MODELO DE DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL APLICADO

O modelo de diabetes experimental que utiliza STZ é considerado, para triagem inicial, um bom modelo para estudos de agentes antidiabéticos (IVORRA; PAYA; VILLAR, 1989). Amplamente utilizados, os modelos experimentais de diabetes reproduzem as características clínicas do DM, fazendo com que os animais apresentem

semelhanças laboratoriais, clínica e histológicas com a doença em humanos (SUTHAGAR et al. 2009; MISHRA et al. 2012; VERMA et al. 2012).

A literatura traz a forma de ação da STZ muito bem detalhada, onde o DM é induzido pela destruição de parte das células beta pancreáticas de forma irreversível, aproximadamente 70%, causando assim diminuição na secreção de insulina (ROOMAN et al., 2000; DESGRAZ; BONAL; HERRERA, 2011). Além desse efeito, Takada e colaboradores (2007) demonstraram redução do número de receptores de insulina em células adiposas e piora à resposta no teste oral de tolerância a glicose. Outro ponto observado por Giroix et al. (1983) foi a queda na sensibilidade das células beta pancreáticas aos níveis de glicose plasmática. O modelo de diabetes experimental utilizado nesse estudo simula o DM insulino dependente, mas também tem características de redução na sensibilidade periférica à insulina observada no DM não insulino dependente (SHARMA et al. 2009; SZKUDELSKI, 2012). A hiperglicemia encontrada nos diferentes grupos diabéticos é fruto de um processo patológico severo, decorrente de modificações no metabolismo da insulina, levando a alterações de metabolismo de gorduras, carboidratos e proteínas. Alterações essas que incluem perda de peso, poliúria e polidpsia. (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS DO EXPERIMENTO

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais - CEUA/Unicentro sob o número 029/2012, anexo 1.

Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados 24 ratos machos, albinos da linhagem Wistar. A formação dos grupos ocorrerá a partir da aquisição de rato machos adultos no biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná *campus* Curitiba. Os animais foram acondicionados em local apropriado durante o tempo de tratamento do experimento

Os animais foram mantidos em local com temperatura controlada, em torno de 21 +/- 2°C, com fotoperíodo de 12 claro/12 escuro, acondicionados em gaiolas plásticas, com bebedouro de 800mL, sendo tratados com ração comercial para roedores da marca Purina®. A água e a ração serão fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento. No decorrer do estudo foi realizado pesagens dos animais e da ração consumida por eles, além de medido o consumo de água semanalmente para verificação e acompanhamento do desenvolvimento dos animais. Os animais foram alojados em estantes apropriadas, dentro de gaiolas para ratos com base em polipropileno, autoclavável, resistente a ácidos, nas medidas de 41x34x16cm. Tampa de arame de aço carbono com tratamento de zincagem, malha 7,5mm, além de bebedouro de 500ml específicas para animais de pesquisa.

3.2 DELINEAMENTOS EXPERIMENTAIS

3.2.1 INDUÇÃO À DIABETES

Os ratos foram injetados por via intraperitoneal, em dose única, com estreptozotocina (STZ) (50 mg/kg), diluída em tampão citrato pH 4,5. O monitoramento da glicemia foi dado pela coleta de sangue por punção caudal e analisada em uma glicosimêtro da marca Accu Cheack advantage.

Os controles salina receberam injeção de NaCl por via intraperitonial, na dose única e equimolar da STZ.

3.2.2 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS

Os animais serão divididos em 4 grupos, compostos por 6 animais cada, com acondicionamento de 3 animais por caixa. Os grupos foram divididos da seguinte maneira: grupos CONTROLE (CS – Controle Salina e; CP – Controle Planta), grupos DIABÉTICOS (DS – Diabético Salina e; DP – Diabético Planta).

- CONTROLE (CS) – composto por 6 animais, não diabéticos, tratados com solução de “Tween 80” e água destilada;
- CONTROLE (CP) – composto por 6 animais, não diabéticos, tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*;
- DIABÉTICOS SALINA (DS) – composto por 6 animais, induzidos ao diabetes, tratados com solução de “Tween 80” e água destilada;

- DIABÉTICOS PLANTA (DP) – composto por 6 animais, tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*;

3.3 PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA

Ao final dos tratamentos os animais foram eutanasiados por decaptação, em guilhotina apropriada, para a retirada de amostras de sangue e tecidos. Nas amostras de sangue foram determinados parâmetros bioquímicos e hormonais como glicose, colesterol, triglicérides, hdl-colesterol, creatinina, uréia, aspartato transaminase, alanina transaminase, insulina e hemoglobina glicada. Foi realizada coleta de rins, pâncreas e fígado para confecção de lâminas histológicas e quantificação de TBARS via malondialdeído em tecido renal e hepático.

3.4 ADMINISTRAÇÃO DOS TRATAMENTOS

3.4.1 GAVAGEM

O extrato da planta e a solução de "Tween 80" foram administradas em uma dose diária por meio de gavagem (figura 1), Após a administração, os animais retornavam a suas caixas.

Figura 1 – Demonstração da administração do tratamento por gavagem.

Fonte: Dados primários do experimento

3.5 MATERIAL BOTÂNICO

Segundo Elisabetsky e Moraes (1988) a seleção de espécies medicinais para investigação científica pode ser realizada por três critérios: randômica; etnofarmacológica; e quimiotaxonômicamente ou filogenética.

A escolha da planta selecionada para o estudo foi do tipo quimiotaxonômica, em virtude de espécies do mesmo gênero já terem sido estudadas como hipoglicemiantes e terem apresentado resultados positivos.

A planta *Baccharis dracunculifolia* foi coletada durante o mês de agosto de 2012, no Campus Cedeteg da Universidade Estadual do Centro-Oeste no município de Guarapuava-PR na Rua Simeão Camargo Varela Sá, 03, Vila Bela. Com as seguintes coordenadas geográficas Latitude Sul 25°23'36" e Longitude Oeste 51°27'19". Foram levadas para o Laboratório de Biomed, localizado no mesmo campus, para iniciar o processo de preparação do extrato.

A exsicata da planta foi depositada no Herbário MBM do Museu Botânico Municipal de Curitiba e registrada com o número 385123, anexo 2.

3.5.1 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O processo de preparação do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* foi padronizado por Hocayen (2012) e foi seguido nesse estudo. O processo de secagem da planta ocorreu de forma natural, em varais, durante 10 dias. O emprego de material vegetal seco, devido a sua maior estabilidade química, exige cuidados especiais, a fim de interromper os processos metabólicos que ocorrem mesmo após a coleta da planta. A

secagem tem por finalidade a retirada de água e com isso impedir reações de hidrólise e de crescimento microbiano (MARTINS et al., 2000; SIMÕES et al., 2010).

Na sequência, as plantas secas foram desfolhadas, moídas (pulverizadas), peneiradas e acondicionadas em recipientes plásticos, para posterior preparação do extrato, figura 2.

A moagem tem por finalidade reduzir, mecanicamente o material vegetal em fragmentos de pequenas dimensões, preparando-o assim para a próxima etapa, a extração. O aumento da área de contato entre o material sólido e o líquido extrator torna mais eficiente a operação (SIMÕES et al., 2010).

Concomitantemente, foi realizado o teste de umidade, que indica o teor de umidade residual da amostra, e, por conseguinte, a concentração de solvente a ser adicionada. O método empregando foi de dessecação, descrito na Farmacopéia Brasileira (1988), partindo de 4g de amostra pesada em placa de petri. A amostra foi aquecida a 100 graus durante 3 dias, após este período pesou-se novamente. O valor obtido entre a diferença das pesagens foi considerado o teor de umidade residual da amostra, neste caso foi em torno de 10%. O teste foi realizado em triplicata.

Após este teste a planta foi submetida ao processo de extração por agitação. Foram feitas amostras utilizando 50g das folhas moídas para cada 220mL de metanol, que permaneceram por uma semana no agitador, totalizando 1100g de planta pulverizada. Posteriormente, a solução foi filtrada (figura 3). O filtrado foi então evaporado inicialmente em rotaevaporador a uma temperatura controlada, conforme figura 4 e, em seguida, em banho-maria (durante 3 dias) com temperatura de 37 graus, para retirada do solvente (metanol). Depois o extrato foi diluído em solução de "Tween 80" (veículo) e água destilada, na proporção 1/8. A diluição do extrato teve que ser

realizado com solução de “Tween” uma vez que o mesmo não se diluiu em água, tal procedimento visa facilitar a administração nos animais via gavagem.

Figura 2 – *Baccharis dracunculifolia* pulverizado e folhas secas.

Fonte: Dados primários do experimento.

Figura 3 – Processo de filtragem do extrato da planta *B. dracunculifolia*.

Fonte: Dados primários do experimento.

Figura 4 – Processo de evaporação do extrato da planta *B. dracunculifolia*.

Fonte: Dados primários do experimento

3.6 Evolução ponderal

Os animais foram pesados semanalmente, desde o início do experimento até seu sacrifício, para avaliação da evolução ponderal.

3.7 Análises bioquímicas e hormonais

Após o termino do tratamento, os animais foram eutanasiados por decapitação com guilhotina específica e foram coletadas amostras de sangue (4 a 5 ml) para análises bioquímicas e hormonais. O sangue foi centrifugado à 2500 rpm por 10 minutos, e após foi analisado pelo equipamento específico para análise.

3.7.1 Alanina transaminase, Aspartato transaminase, Colesterol total, Creatinina, Glicose, Hemoglobina glicada, Triglicerídeos e Uréia.

As determinações foram realizadas utilizando kits comerciais enzimáticos específicos da Labtest® no analisador automatizado Labmax 240 (Labtest, MG, BRASIL). Com alíquotas de 500µL de soro. Os resultados foram expressos em UI/L para as transaminases, Hb% para a hemoglobina glicada e em mg/dL para os demais dosagens.

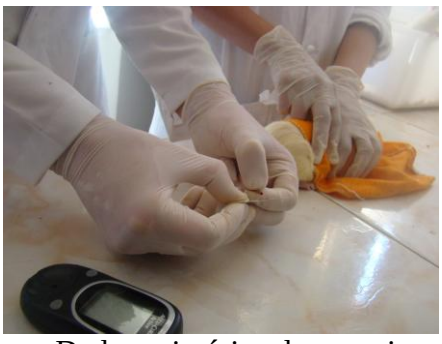
3.7.2 Análises hormonais

A insulina plasmática foi determinada por quimioluminescência (DPCimmulite 2000R, Los Angeles, EUA).

3.7.3 TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE

Para a realização do teste oral de tolerância a glicose os animais foram mantidos em jejum de 12 horas, posteriormente foi realizada coleta de uma gota de sangue via veia caudal, correspondendo ao tempo (T0). Na sequência foi administrada uma dose única de glicose (1 mg/Kg de peso corporal) por gavagem, e coletadas amostras nos tempos 15, 30 e 60 minutos após a administração, correspondendo a T15, T30 e T60. A glicemia foi determinada por meio do glicosímetro de fitas (Accu chek-Advantage).

Figura 5 – **Coleta de sangue por punção caudal e dosagem em glicosímetro**



Fonte: Dados primários do experimento

3.7.4 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Conforme metodologia descrita por Janero (1990) o grau de peroxidação lipídica foi medido por determinação dos níveis de TBARS. Um homogenato de tecido a 10% em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,4 foi preparado. Deste foi retirado 250 µL do

homogenato ao qual foi adicionado 1 mL de ácido tricloroacético a 10% e 1ml de solução de ácido tiobarbitúrico 0,67% e em seguida a mistura foi agitada em vortex. Após a agitação, essa mistura foi mantida em um banho de água fervente por 15 min e posteriormente resfriada em água corrente. Após o resfriamento foi adicionada 2 mL de n-butanol, e novamente agitada em vortex, agora por 1 min. Após agitação a mistura foi centrifugada a 1200 rpm por 5 min. Após a centrifugação, as substâncias que reagiram à solução de ácido tiobarbitúrico foram determinadas a partir da leitura na absorbância relativa a 535 nm em espectrofotômetro. Sendo os resultados foram expressos em nmol de MDA/g de tecido.

3.7.5 Análise histopatológica

Após a eutanásia dos animais foram coletadas amostras de órgãos vitais (pâncreas, rim e fígado). Essas amostras foram pesadas e avaliadas macroscopicamente. Após foram acondicionadas em formaldeído 10% (v/v) visando o preparo de lâminas histológicas. Os fragmentos foram processados de acordo com as técnicas de rotina para inclusão em blocos de parafina, cortados em micrótomo a 3-4 micrômetros e corados pela técnica da Hematoxilina-Eosina (H.E.). Os órgãos descritos acima fora, avaliados quanto à presença ou não de alterações histopatológicas.

3.8 Análises estatísticas

Todos os resultados foram representados como média ± DP. Os testes estatísticos foram realizados utilizando o software SPSS 13.0 para *windows* (Chicago, IL, EUA). Inicialmente foi realizada a análise de normalidade das variáveis utilizando o teste de *Shapiro-Wilk,* e após aplicou-se o teste estatístico ANOVA de uma via,

considerando significância para $p<0.05$. Para identificar as diferenças significativas foi utilizado o teste *Post-hoc Student-Newman-Keuls.*

4 RESULTADOS

4.1 EVOLUÇÃO PONDERAL

Os resultados da evolução de peso corpóreo dos animais são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Efeito do *Baccharis dracunculifolia* no peso corpóreo dos animais (Média ± EPM, n=6)

Peso durante tratamento	Grupos			
	Controle salina	Controle planta	Diabético salina	Diabético planta
Início	321,7 ± 4,2	315,3 ± 4,0	303,5 ± 6,9	304,0 ± 9,4
7 dias	*340,5 ± 3,6	*338,5 ± 3,6	**313,5 ± 5,0	***283,8 ± 7,1
14 dias	□358,2 ± 4,2	□366,5 ± 5,1	□□310,6 ± 5,6	□□□291,8 ± 8,8
21 dias	º367,3 ± 4,2	º360,6 ± 3,5	ºº316,8 ± 6,7	ºº301,8 ± 8,5
28 dias	#383,8 ± 3,4	##366,8 ± 4,5	###312,3 ± 3,6	####294,33 ± 8,8

Os dados foram expressos como média ± EPM. Os símbolos acima dos números indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Student-Newman-Keuls. *diferença estatística aos 7 dias de tratamento; □ diferença estatística aos 14 dias de tratamento; º diferença estatística aos 21 dias de tratamento; # diferença estatística aos 28 dias de tratamento.

Fonte: Dados primários do experimento

Os grupos ao início do experimento apresentavam semelhança estatística. Nos dois primeiros pontos de pesagem, aos 7 e 14 dias de tratamento, ocorreu diferença estatística entre os grupos controle (CS e CP) e entre os grupos diabético salina e diabético planta. Aos 21 dias a diferença estatística encontrada estava entre os grupos controle e diabéticos. Ao final do tratamento todos os grupos diferiram estatisticamente entre si, chamando atenção o menor peso dos animais controle planta quando comparados ao controle salina.

4.2 DADOS BIOQUÍMICOS E HORMONAIS

Os dados referentes aos parâmetros bioquímicos ao final de tratamento são apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Efeito do *Baccharis dracunculifolia* nos parâmetros bioquímicos (Média ± EPM, n=6)

Parâmetros bioquímicos	Grupos			
	Controle salina	Controle planta	Diabético salina	Diabético planta
Hb A1c (Hb %)	2,25 ± 0,17	1,80 ± 0,08	8,75 ± 0,40	8,58 ± 0,43
Colesterol (mg/dL)	58,5 ± 4,62	64,7 ± 0,56	72,2 ± 2,85	62,5 ± 4,00
Triglicerides (mg/dL)	71,7 ± 5,4	58,8 ± 4,5	191,3 ± 15,5	75,0 ± 8,4*
Creatinina (mg/dL)	0,32 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,53 ± 0,03	0,39 ± 0,01*
Uréia (mg/dL)	17,3 ± 0,02	39,5 ± 3,40	67,8 ± 8,78	46,5 ± 3,78*
AST (UI/L)	259,0 ± 19,1	239,8 ± 11,9	396,0 ± 26,5	365,5 ± 46,6
ALT (UI/L)	92,0 ± 3,1	81,0 ± 4,9	257,0 ± 27,0	232,5 ± 45,2

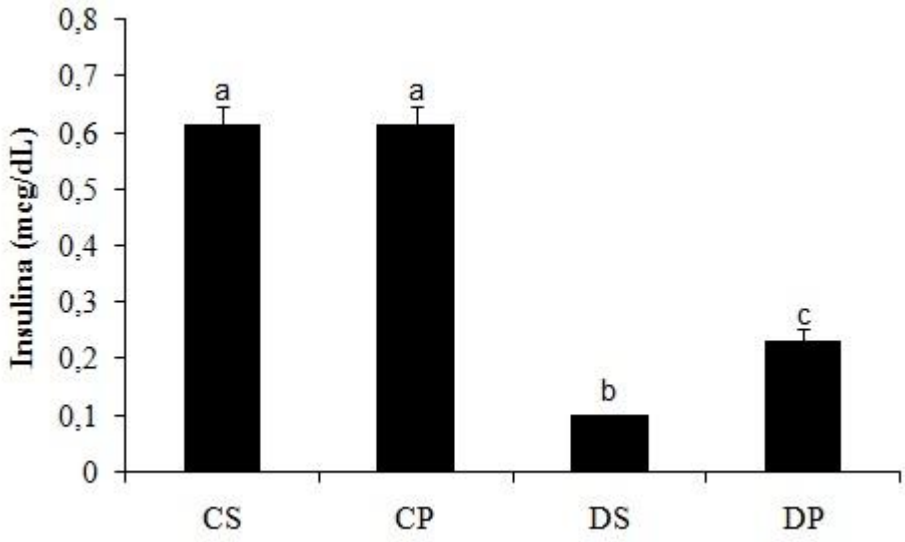
Os dados foram expressos como média ± epm. Os símbolos acima dos números indicam as diferenças estatísticas usando ANOVA, com post test de Student-Newman-Keuls com $p < 0,05$ para Creatinina; e $p < 0.01$ para uréia e triglicérides. *comparado com diabético salina. As medidas foram realizadas após 12h de jejum alimentar.

Fonte: Dados primários do experimento.

Ao comparar os grupos DS e DP verificou-se diferença estatística nos seguintes parâmetros creatinina ($p<0.05$), uréia ($p<0.01$) e triglicérides ($p<0.01$). Para os analitos creatinina e triglicérides DP foi considerado estatisticamente igual aos grupos não diabéticos (CS e CP), para o analito uréia CS e CP diferiram entre si, e DP apresentou valor semelhante a CP. Para os demais parâmetros os grupos diabéticos não apresentam diferença estatística entre si utilizando-se $p<0.05$.

A insulina plasmática, ao sacrifício, apresentou significância estatística ($p < 0.01$) entre os grupos diabéticos, com concentrações mais elevadas para o DP. Entre os grupos CS e CP não foram encontradas diferenças consideráveis. Os dados de insulina ao sacrifício estão expressos na Figura 6.

Figura 6 – **Insulina plasmática ao final de tratamento**

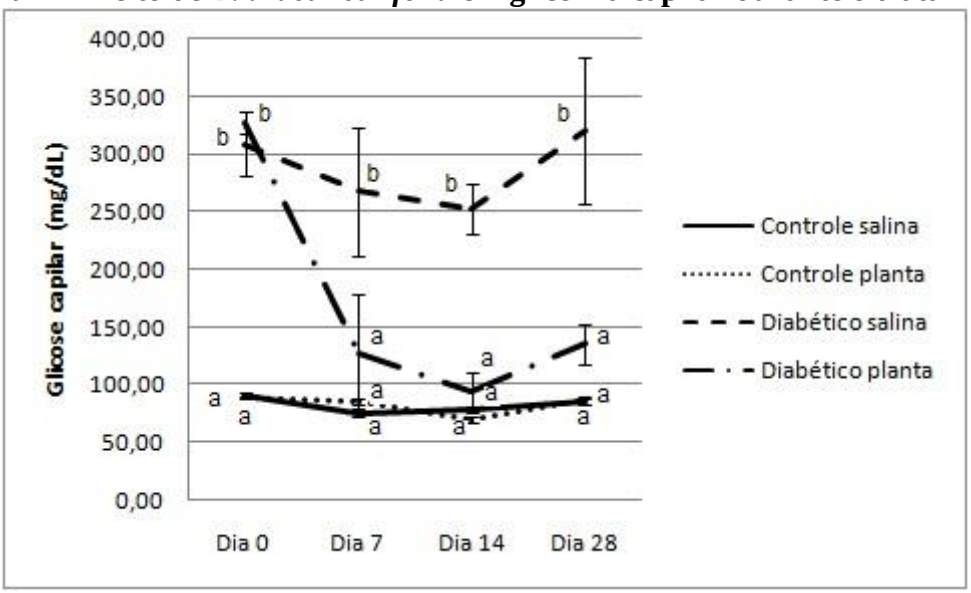


Valores de insulina plasmática. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b,c) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.01$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Fonte: Dados primários do experimento.

A glicemia capilar dos animais foi acompanhada semanalmente durante o experimento, seus resultados são apresentados no figura 7 abaixo. Ocorreu diferença estatística entre os grupos diabéticos a partir do 7° dia de tratamento, em favor do grupo DP, a glicemia desse grupo foi comparada estatisticamente aos grupos não diabéticos.

Figura 7 **– Efeito de *B. dracunculifolia* em glicemia capilar durante o tratamento**



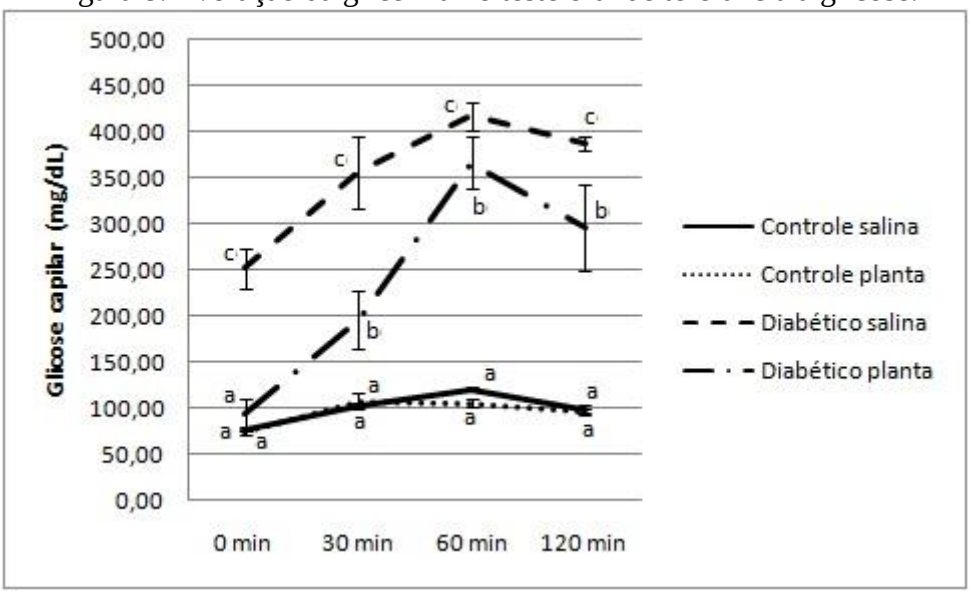
Valores de glicemia capilar durante o experimento; Dia 0 representa inicio do tratamento. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Fonte: Dados primários do experimento.

4.3 TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE.

Os dados referentes à resposta da glicemia sanguínea dos animais após estimulo com concentração padrão de glicose são apresentados na Figura 8.

Figura 8: Evolução da glicemia no teste oral de tolerância a glicose.



Valores de glicemia capilar durante o TOTG. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b,c) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway). As medidas foram realizadas após 12h de jejum alimentar.

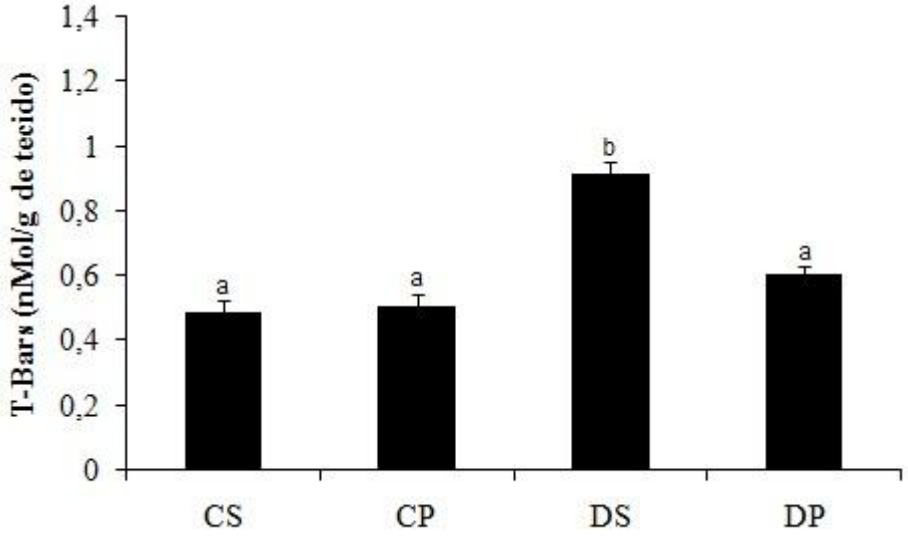
Fonte: Dados primários do experimento.

O grupo DP apresentou diferença média de valores glicêmicos em todos os pontos da curva quando comparado ao grupo DS. DP, ao jejum, foi comparável estatisticamente com os controles não diabéticos (CP e CS), nas quantificações seguintes do TOTG o grupo DP foi estatisticamente diferente de todos os grupos, apresentando valores intermediários entre os grupos não diabéticos (CP e CS) e o grupo controle diabético (DS).

4.3 NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os resultados dos efeitos do *Baccharis dracunculifolia* na peroxidação lipídica no fígado e rim dos animais são apresentados nas Figuras 9 e 10 respectivamente. No grupo DS foi verificado um aumento significativo na peroxidação lipídica em relação aos grupos não diabéticos (CS e CP). Por sua vez, o grupo diabético tratado com o extrato apresentou uma redução significativa na peroxidação lipídica quando comparado ao grupo DS, redução essa comparável com os grupos não diabéticos.

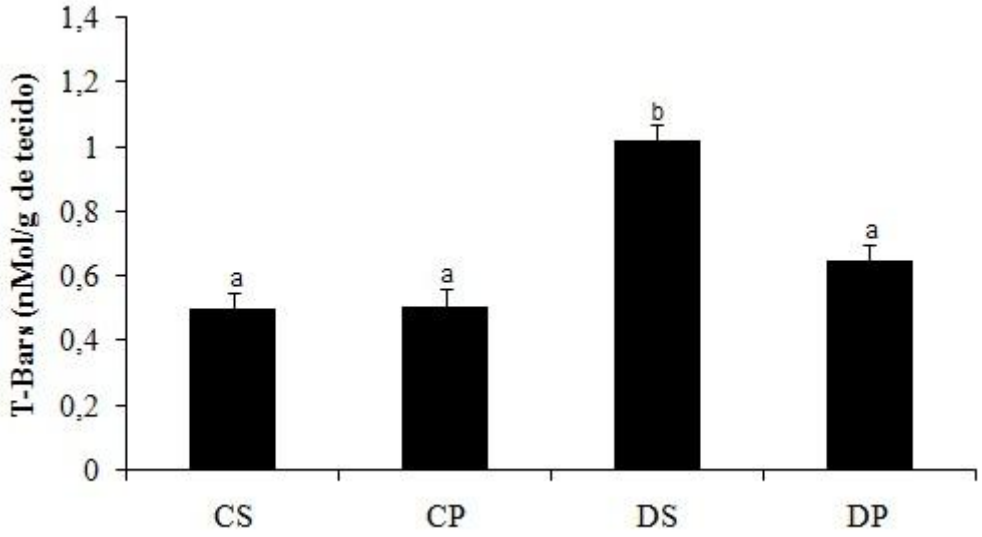
Figura 9 - Níveis de peroxidação lipídica em fígado



Valores de TBARS para fígado. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Fonte: Dados primários do experimento.

Figura 10 - Níveis de peroxidação lipídica em rim



Valores de TBARS para rim. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Fonte: Dados primários do experimento.

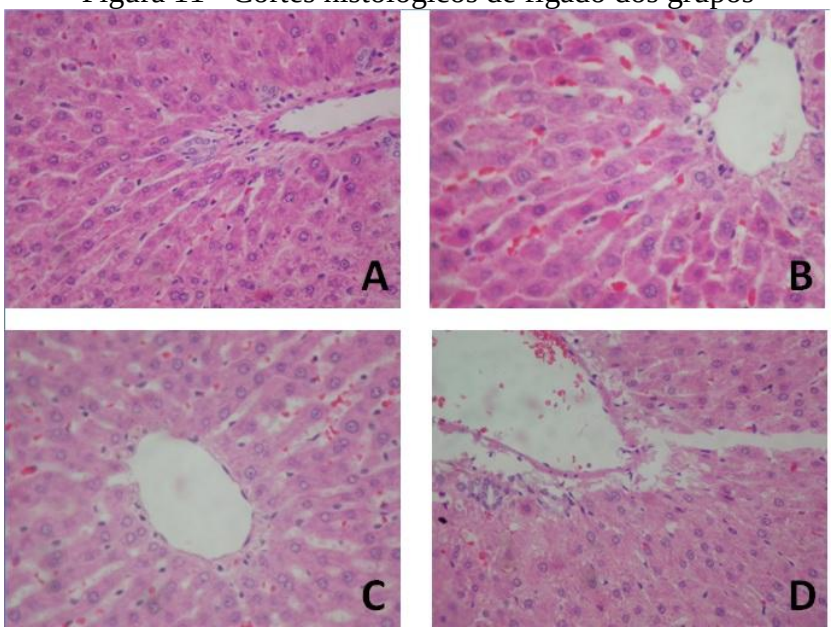
4.5 HISTOLOGIA

Durante o período experimental não foram observadas quaisquer alterações clínicas nos animais não diabéticos que pudessem ser relacionadas a doenças de base. Os animais diabéticos, por sua vez, apresentaram características clínicas associadas ao doença induzida.

Nas Figuras 11, 13 e 15 são apresentadas micrografias de cortes histológicos de fígado, pâncreas e rins, respectivamente, em aumento de 400 vezes à microscopia óptica com imagens representativas de componente de cada grupo experimental do estudo. A análise qualitativa dessas lâminas evidenciou alterações celulares no grupo diabético controle compatível com a patologia induzida. O grupo diabético tratado com extrato da planta apresentou dano tecidual de menor intensidade quando comparado ao grupo DS. Os grupos de animais não diabéticos (CS e CP) não apresentaram alterações histológicas.

Na avaliação macroscópica, os animais DS apresentaram aumento de volume e peso para fígado e rins. A tonalidade desses tecidos apresentou-se mais pálida que os controles não diabéticos. Para o pâncreas não foram observadas alterações macroscópicas. As figuras 12, 14 e 16 apresentam os dados referentes ao peso dos órgãos fígado, pâncreas e rim ao sacrifício, respectivamente.

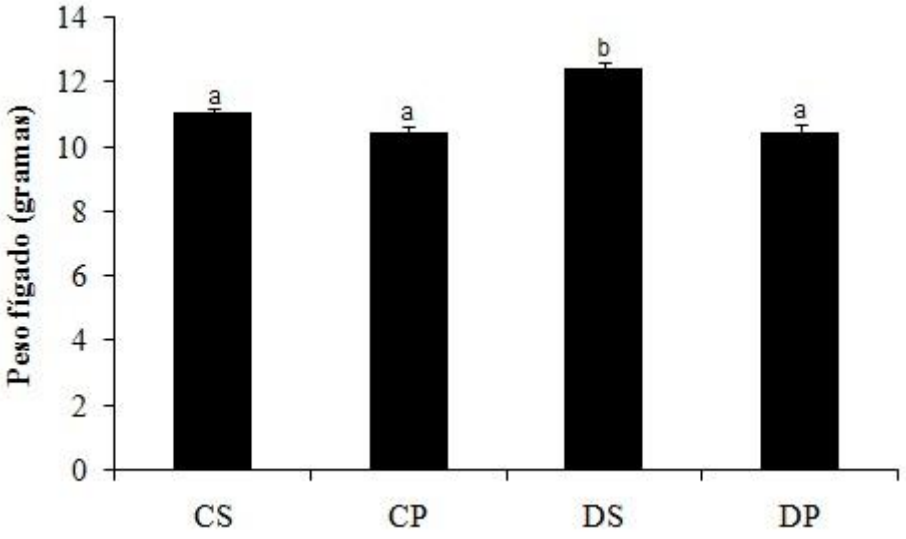
Figura 11 - Cortes histológicos de fígado dos grupos



Micrografias de fígado ao final do período de 28 dias de tratamento. Micrografias de (A) controle salina - CS; (B) controle planta - CP; (C) diabéticos planta - DP e (D) diabéticos salina - DS. Microscopia óptica, aumento 400X.

Fonte: Dados primários do experimento.

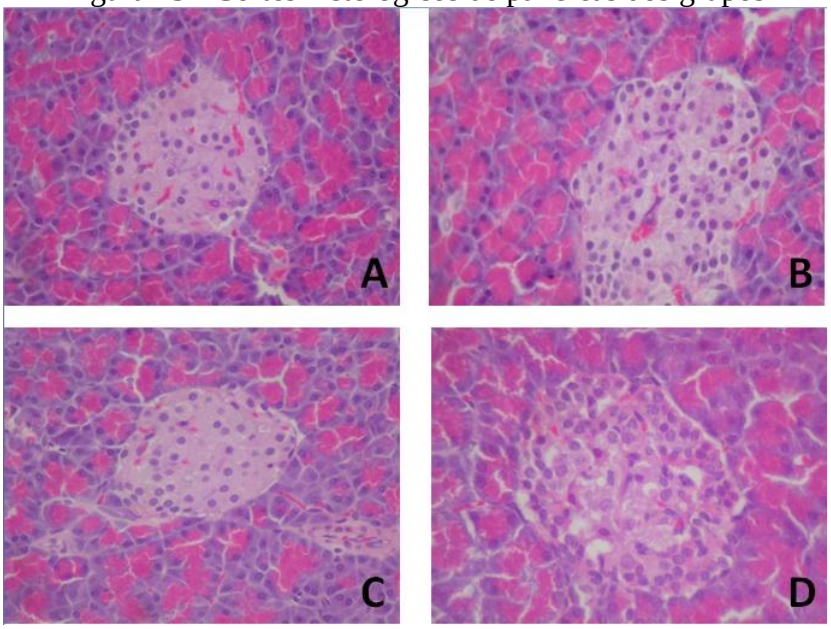
Figura 12 - Peso do fígado do animais ao sacrifício.



Peso fígado. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Fonte: Dados primários do experimento.

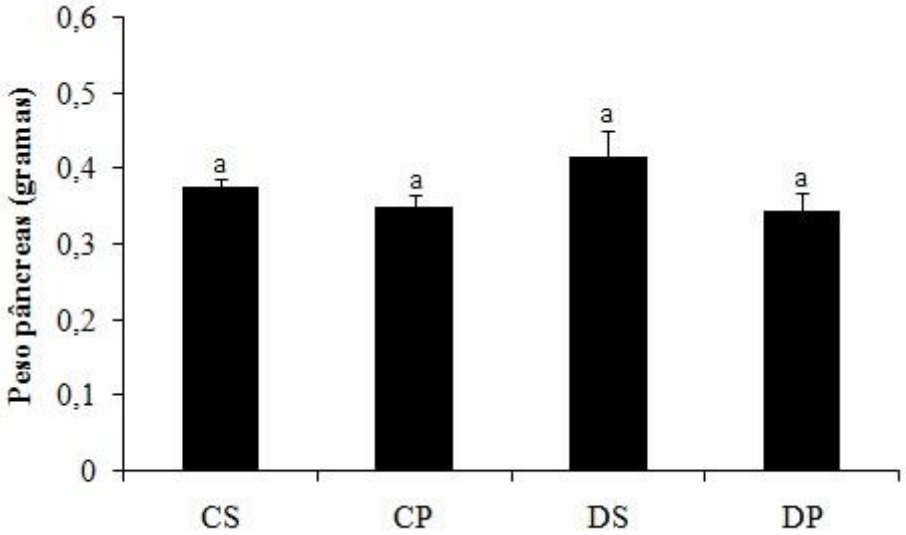
Figura 13 - Cortes histológicos de pâncreas dos grupos



Micrografias de pâncreas ao final do período de 28 dias de tratamento. Micrografias de (A) controle salina - CS; (B) controle planta - CP; (C) diabéticos planta - DP e (D) diabéticos salina - DS. Microscopia óptica, aumento 400X.

Fonte: Dados primários do experimento.

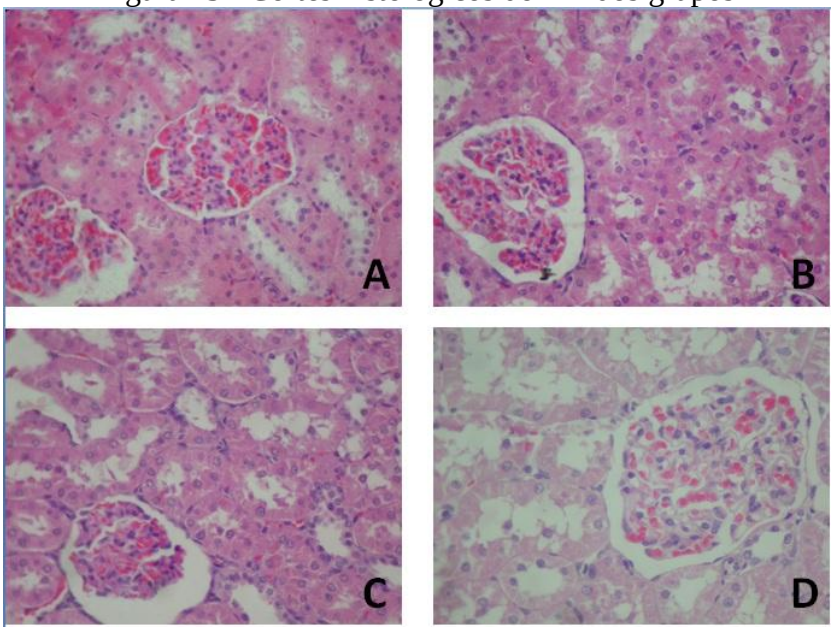
Figura 14 - Peso do pâncreas do animais ao sacrifício.



Peso pâncreas. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Fonte: Dados primários do experimento.

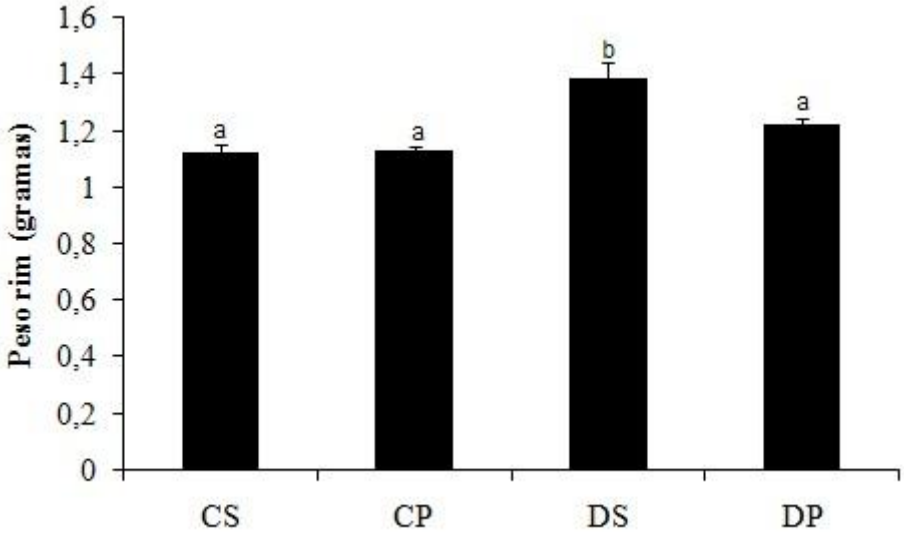
Figura 15 - Cortes histológicos do rim dos grupos



Micrografias de rim ao final do período de 28 dias de tratamento. Micrografias de (A) controle salina - CS; (B) controle planta - CP; (C) diabéticos planta - DP e (D) diabéticos salina - DS. Microscopia óptica, aumento 400X.

Fonte: Dados primários do experimento.

Figura 16 - Peso do rim dos animais ao sacrifício



Peso rim. Dados representam a média ± EM (n=24). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p<0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Fonte: Dados primários do experimento.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo contrastou o modelo experimental de diabetes induzido por STZ com tratamento de extrato metanólico de *B. dracunculifolia*, buscando observar o comportamento patológico frete a esse, através da observação de parâmetros bioquímico e histológico. Os danos provocados pelo modelo diabético utilizado são caracterizados por alterações metabólicas e estruturais. Modificações no metabolismo bioquímico de lipídios e alterações em marcadores hepáticos e renais são comumente observadas. (ZAFAR et al, 2009; MISHRA et al 2011; PATTABIRAMAN; MUTHUKUMARAN, 2011; SERPA NETO et al, 2011). As interferências dessas desordens metabólicas sobre a homeostasia dos animais foram evidenciadas nesse trabalho, uma vez que foram observadas alterações bioquímicas, hormonais e histológicas compatíveis com o desenvolvimento do diabetes experimental.

Os animais foram acompanhados semanalmente afim de verificar-se seu desenvolvimento ponderal. Os grupos diabéticos apresentaram peso médio inferior, estatisticamente distinto, aos grupos não diabéticos. Fato observado classicamente pelo modelo experimental utilizado (TAKADA et al, 2007; GANDHI; IGNACIMUTHU; PAULRAJ, 2012).

A indução ao diabetes pelo STZ leva a comprometimento da função renal nos animais, fato que esta associado alterações morfológicas e funcionais do rim (ZAFAR et al, 2009). Evidenciado em nosso estudo com aumentos significativos de creatinina e uréia e de alterações histológicas qualitativas nesse órgão para o grupo DS. O grupo DP obteve diminuição estatística dos resultados de creatinina ($p<0.05$) e uréia ($p<0.01$), além de uma melhora qualitativa na estrutura morfológica do órgão quando comparado a DS, observação que fala a favor de uma minimização de dano renal associando a utilização do extrato da planta. MAFRA; ABDALLIA; COZZOLINO (1999) em sua

revisão literária encontrou correlação entre insuficiência renal aguda (IRA) e aumento de peroxidação lipídica, bem como diminuição de atividade antioxidante. Antioxidantes podem inibir a peroxidação lipídica ao interromperem a cadeia de peroxidação. (PAGLIUSO; GOLONI-BERTOLO FILHO; PAVARINO-BERTELLI; 2006). Diferentes plantas são utilizadas em alterações do sistema renal, a maioria delas com diurético como exemplo estão algumas já foram comprovadas cientificamente, como *Vernonia polyanthes*, *Allium cepa*, *Bredemeyera floribunda*, *Allium sativum*, *Eugenia uniflora*, *Phalaris canariensis*, *Phyllanthus niruri* e *Polymnia sonchifolia* (PINHEIRO et al, 2011).

A elevação de enzimas hepáticas como AST e ALT, juntamente com elevação de colesterol e triglicerídeos são observadas em ratos diabéticos e indicam disfunção hepática com possibilidade de dano necrótico nesse órgão (GHOSH; SURYAWANSHI, 2001). A utilização do extrato metanólico de *B. dracunculifolia* não promoveu diferença estatística entre os grupos diabéticos para a atividade de enzimas hepáticas. Porém ocorreu melhora qualitativa nos danos hepáticos, provocados pelo modelo experimental, nos animais diabéticos tratados com extrato da planta.

Os valores encontrados para o colesterol no experimento, nos diferentes grupos, não apresentaram diferença estatística entre si. Observou-se, ao final do tratamento que as concentrações de TG foram significativamente mais elevadas nos ratos DS do que nos outros grupos (Tabela 02). O grupo DP obteve níveis de TG estatisticamente semelhante aos grupos não diabéticos. Outros estudos como os de El-Sayed (2009) e Kim (2012) observaram redução nos níveis de TG em protocolos de tratamento semelhantes ao utilizado nesse estudo, mas com plantas diferentes. Ambos os estudos sugerem que a atividade antioxidante, presente na composição dos extratos utilizados,

seria a responsável pelos efeitos encontrados. O efeito da redução do níveis de TG pode ser explicado pelo controle de hidrólise de certas lipoproteínas (WANI, 2011).

Arunachalam e Parimelazhagan (2012) observaram diminuição nos níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos em ratos induzidos por STZ após administração de extrato aquoso de *Merremia tridentata*. Em 2012, Banzal efeito antidiabético e hipolipêmico da fração rica em flavonóides de *Pilea microphylla*.

Estudos de revisão como do de Aldin et al. (1995) atribuem a diminuição dos triglicerídeos plasmático, da concentração de colesterol total e aumento de colesterol fração HDL ao consumo de flavonóides. O efeito de queda dos valores de TG pode ter sido influenciado pela atividade de flavonóides presentes no extrato da planta (LEMOS, 2007). Esses efeitos seriam devido a capacidade dos flavonóides em remover radicais livres e de quelar cátions divalentes. Outros experimentos realizados em ratos demonstraram que flavonóides extraídos de beringela (*Solanum melongena*) apresentaram efeito na redução nos níveis plasmáticos de CT e TG. Este efeito pode ser explicado, em parte, pelo aumento da atividade da enzima lecitina colesterol aciltransferase (DA SILVA, 2001; SUDHEESH, 1997).

A insulina plasmática apresentou diferença estatística significativa entre os grupos diabéticos, com concentrações mais elevadas para o DP. Entre os grupos CS e CP não foram encontradas diferenças consideráveis. Estudos já demonstraram, utilizando diferentes tipos de preparados de plantas, aumento na excreção de insulina em modelos experimentais de diabetes (PEREIRA, 2003 e HIRATA,1997).

O extrato metanólico de *B. dracunculifolia* apresenta a presença de substâncias antioxidantes com alta atividade antioxidante tais como flavonóides e compostos fenólicos, o que pode ter favorecido a diferença de liberação de insulina em favor do grupo diabético tratado com o extrato.

Estudo de Hocayen (2012) encontrou em ilhotas pancreáticas isoladas aumento de secreção de insulina em modelo animal de obesidade. O estudo acima citado utilizou extrato metanólico de *B. dracunculifolia* em tratamento crônico. O resultado obtido foi atribuído a uma possível melhora do stress oxidativo, dado esse que corrobora para com os dados encontrados nesse estudo.

Tratamento com o extrato metanólico de *B. dracunculifolia* promoveu, a partir do 7° dia de tratamento, diminuição dos níveis de glicose capilar em ratos induzidos a diabetes por STZ comparáveis estatisticamente aos grupos controle não diabéticos.

O TOTG consiste em administrar uma dose padrão de glicose ao animal e realizar dosagens de glicemia capilar em diferentes tempos. Esse estudo utilizou os tempos 0, 30, 60, e 120 minutos (GROSS; NEHME, 2002). Na avaliação do TOTG os valores de glicemia capilar apresentavam-se, ao jejum, para o grupo DP semelhança estatística com os grupos não diabéticos. Nas demais dosagens o grupo DP apresentou diferença estatística entre os grupos não diabéticos (CS e CP) e o diabético controle (DS) apresentando resultados médios com valores intermediários entre esses.

Os compostos responsáveis pelas atividades antiinflamatórias e antioxidantes relatado nas espécies Baccharis são compostos polifenólicos, tais como os ácidos fenólicos e flavonóides cumarinas (ABAD; BERMEJO, 2007). Os dados sugerem que a atividade antiinflamatória da extrato metanólico da planta possa ser a responsável pelo efeito hipoglicemiante apresentado nesse estudo.

A HbA1C fornece um índice de concentrações médias de glicose sanguínea no período de dois ou três meses precedentes. (HENRY, 2008; NETTO, 2009). Nos grupos estudados observou-se que embora o tratamento com o *B. dracunculifolia* tenha diminuído níveis de glicose ao jejum e melhorado a resposta de animais diabéticos no TOTG, não observou-se redução dos valores de HbA1C. Possíveis explicações para

esse fato estariam associado a agressividade do modelo experimental, o qual além de destruir parte das células beta pancreáticas reduz a sensibilização dos receptores de insulino na periferia (TAKADA et al., 2007) fazendo com que o níveis glicêmico, após alimentação, retornem mais lentamente para os níveis basais promovendo assim maior glicolização de hemoglobina no grupos diabéticos e; outro fator estaria associado ao tempo de vida média das hemácias dos ratos, 120 dias, uma vez que o tratamento durou 28 dias não ocorreu tempo hábil para a queda dos valores de HbA1C.

Biomarcadores de peroxidação lipídica, como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), tem suas concentrações aumentadas diante danos causados por espécies reativas de oxigênio (ERO) e podem ser quantificados por técnicas tradicionais bioquímicas (VASCONCELOS et al, 2007). A quantificação de TBARS representa um marcador de danos causados por danos oxidativos induzidos por ERO (JOHANSEN et al., 2005; REIS et al., 2008; SCHAFER; BUETTNER, 2001).

Na presente investigação, foram quantificados níveis de TBARS de fígado e rins para todos os grupos. Os grupos não diabéticos não apresentaram diferença estatística entre si. O grupo DS apresentou aumentado de níveis de TBARS em relação aos grupos não diabéticos. Esse fato se deve, provavelmente, a uma maior atividade do sistema oxidante em decorrência da patologia experimental instalada, o que favorece o estresse oxidativo (REIS et al, 2008). Os animais diabéticos que passaram pelo tratamento com extrato do *B. dracunculifolia* apresentaram níveis de TBARS comparáveis aos animais não diabéticos (conforme Figuras 09 e 10).

A literatura apresenta diversos estudos relacionados a atividade antioxidante de preparados de plantas, muitos desses estudos utilizam TBARS como biomarcador em seus resultados. Juskiewicz et al (2008) observaram diminuição de TBARS em estudo com *Carmellia sinensis*, popularmente conhecido como chá verde, para a mesma planta

Babu e colaboradores (2006) evidenciaram redução de TBARS em ratos diabéticos. Extrato metanólico de *Aegle marmelos* diminuiu concentração de TBARS em soro e fígado de animais diabéticos (SABU; KUTTAN, 2004). Joshi et al (2010) encontrou para óleo essencial de *Dodecadenia grandiflora* e *Lindera pulcherrima* diminuição de peroxidação lipídica em homogenato de fígado.

Os resultados encontrados nessa pesquisa encontrou redução de TBARS em rins e fígado do grupo DP. As substâncias antioxidantes, presentes no extrato da planta, podem estar relacionadas a essa queda de peroxidação lipídica devido à capacidade de reagir com os radicais livres (SHIMIZU, 2004). Outro fator que pode influenciar, em parte, esses efeito da queda de TBARS, é a redução dos níveis glicêmicos capilares ocorrido nesse grupo específico.

No presente trabalho, os estudos de microscopia mostraram marcada diferença na morfologia macroestrutural de rins, fígado e pâncreas dos animais avaliados, especialmente entre ratos diabéticos e diabéticos tratados. Como efeito do dano provocado pela indução ao diabetes, os órgãos dos animais do grupo DS apresentaram alterações histológicas compatíveis com a patologia induzida. Onde, o fígado, apresentou alteração de parênquima devido a acúmulo de gordura e presença de vacúolos no interior dos hepatócitos (figura 11). O pâncreas apresentou diminuição no número e tamanho de ilhotas de langerhans além de fibrose nas ilhotas restantes e infiltração leucocitária na região acinar (figura 13). Os rins, observados na figura 15, apresentaram alterações compatíveis com tumefação turva, acúmulo de água no interior celular; deslocamento do núcleo para a periferia da célula; aumento da relação núcleo/citoplasma e; grânulos eosinofílicos. Glomérulos com pouco comprometimento, apresentando lesões tubulares e intersticiais (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000). Em contraste, as estruturas histológicas dos animais não diabéticos exibem

macroestrutural normais. Na presente investigação, os danos provocados pela indução ao diabetes por STZ, apresentaram-se diminuídos, qualitativamente, nos animais tratados com o extrato da planta quando comparados com os animais diabéticos salina. Esse fato corrobora com observações encontradas nesse trabalho associados à melhora de parâmetros nos ratos tratados com o extrato de *B. dracunculifolia.*

6. CONCLUSÃO

i) O extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* promoveu queda das níveis de glicose capilar ao jejum de ratos induzidos a diabetes por STZ;

ii) Ocorreu queda de valores de triglicerídeos, creatinina e uréia de animais STZ induzidos;

iii) O extrato da planta apresentou proteção de dano em órgãos (fígado, rins e pâncreas) de animais diabéticos induzidos;

iv) Ocorreu diferença estatística na liberação de insulina entre os animais diabéticos, onde os animais tratados obtiveram concentrações superiores.

7. REFERENCIAS

ALVES, N. M., 2007. Estudo farmacognóstico e da toxidade experimental (aguda e subaguda) do Guatambu (Aspidosprema subincanum Mart). Dissertação. Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília

ABAD, M. J.; BERMEJO, P. Baccharis (Compositae): a review update. Arkivoc, 7.1: 76-96, 2007.

ALDIN, M. N.; BARROS, H. H.; MATOS, R. C.; NUNES, M. Eficácia dos flavonóides na dislipidemia; Efficacy of Flavonoids in Dyslipidemias. Mundo saúde (Impr.)2001, 25.2: 149-52, 1995..

ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C. L.; PAREDES-GUZMÁN, J.; PARK, Y. K. Composição química de Baccharis dracunculifolia, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. Ciência Rural. 35:4. 909-915, 2005.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, v.3, p.62–9, 2010.

ANDERSON, J. W. High-fiber diets for obese diabetic men in insulin therapy: short-term and long-term effects. In: Vahouny G. V. Dietaryfiber and obesity. New York: Alan R Liss, p.133-59, 1985.

ARUNACHALAM, K.; PARIMELAZHAGAN, T. Antidiabetic activity of aqueous root extract of Merremia tridentata (L.) Hall. f. in streptozotocin–induced–diabetic rats. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 5.3: 175-179,2012.

ASSUNÇÃO, T. S.; URSINE, P. G. S. Estudo de fatores associados à adesão ao tratamento não farmacológico em portadores de diabetes mellitus assistidos pelo Programa Saúde da Família, Ventosa, Belo Horizonte. Ciênc. saúde coletiva, 2008, 13.2: 2189-2197.

AZEVEDO, S.K.S.; SILVA, I.M. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Acta bot. bras. 20(1): 185-194, 2006.

BABU, P.V.; SABITHA, K.E.; SHYAMALADEVI, C.S.Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. Chemico-Biological Interactions, v.162, n.2, p.114-20,2006.

BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; RIECK, L.; MARQUES, M. C. A. Gastroprotective effects of a crude extract of Baccharis illinita DC in rats. Pharmacological Research, 47.1: 93-98, 2003.

BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L. Sistemática de angiospermas do Brasil (Vol. 1, No. 2). Livros Técnicos e Científicos Editora, 1978

BOLDT, P.E. Baccharis (Asteraceae), a review of its taxonomy, phytochemistry, ecology, economic status, natural enemies and the potential for its biological control in the United States. Texas: College Station, 1989.

BOLLER, S.; SOLDI, C.; MARQUES, M. C. A.; SANTOS, E. P.; CABRINI, D. A.; PIZZOLATTI, M. G.; ZAMPRONIO, A. R.; OTUKI, M. F. Anti-inflammatory effect of crude extract and isolated compounds from Baccharis illinita DC in acute skin inflammation. Journal of ethnopharmacology, 130.2: 262-266, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Diabetes Mellitus. Brasília. Ministério da Saúde. 2006. 64p.il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 16) (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BROWNLEE M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature, 414(6865):813-20, 2001.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. Robbins Patologia Estrutural e Funcional. 6ª. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1268p.

DA SILVA, R. R.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. ALAN [online]. vol.51, n.3 [citado 2013-11-02], pp. 258-264, 2001

DCCT - The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl JMed., 329:977-86, 1993.

DECKERT, T.; POUSEN, J.E. Prognosis of diabetes with onset before age of thirty-one. Diabetologia, 14:363-77, 1978.

DESGRAZ, R.; BONAL, C.; HERRERA, P. L.; Cell regeneration: the pancreatic intrinsic faculty. Trends Endocrinol Metab 22:34–43, 2011.

DOMINGUEZ, C.; RUIZ, E.; GUSSINYE, M.; CARRASCOSA, A. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. Diabetes Care. 21(10):1736-42, 1998.

DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T. T. D.; DORES, R. G.; FABRES, M. H. A.; NAGEM, T. J. Efeitos antidiabéticos de plantas medicinais. Brazilian Journal of Pharmacy, 19, 488-500, 2009.

ELISABETSKY, E.; MORAES, J. A. R. Ethnopharmacology: a technological development strategy. Intern. Congress of Ethnobiology, v. 2, p. 111-118, 1988.

EL-SAYED, el-SM. Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Pak J Pharm Sci, 2009, 22: 168-174.

ENGELGAU, M. E.; NAYARAN, K.M.; HERMAN, W. H. Screening for Type 2 Diabetes. Diabetes Care. V 23. n. 10. P 1563 -1580. 2000

FABIANE, K. C.; FERRONATO, R.; SANTOS, A. C.; BECKER, S. OnofrePhysicochemical characteristics of the essential oils of Baccharis dracunculifolia

and Baccharis uncinella D.C. (Asteraceae) Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 18(2): 197-203, Abr./Jun. 2008.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. Parte I São Paulo: Atheneu, 1988.

FRÁGUAS, R.; SOARES, S. M. S. R.; BRONSTEIN, M. D. Depressão e Diabetes mellitus. Revista Psiq Clin., v.36, n.3, p.93-99, 2009.

FUNARI, C.S.; FERRO, V.O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. Revista Brasileira de Farmacognosia 15, 178-182, 2005.

GANDHI, G. R.; IGNACIMUTHU, S.; PAULRAJ, M. G. Hypoglycemic and b-cells regenerative effects of Aegle marmelos (L.) Corr. barkextract in streptozotocin-induced diabetic rats Food and Chemical Toxicology 50 1667–1674, 2012.

GHOSH, S.; SURYAWANSHI, S. A. Effect of Vinca rosea extracts in treatment of alloxan diabetes in male albino rats. Indian Journal of Experimental Biology, 2001, 39.8: 748-759

GIROIX, M.H.; PORTHA, B.; KERGOAT, M.; BAILBE, D.; PICON, L. Glucose insensitivity and amino-acid hypersensitivity of insulin release in rats with non-insulin-dependent diabetes: a study with the perfused pancreas. Diabetes, v.32, p.445-451, 1983.

GOLDBERG, I. J. Diabetic dyslipidemia: causes and consequences. J Clin Endocrinol Metab; 86: 965-971 2001.

GROSS, J. L.; NEHME, M. Detecção e tratamento das complicações crônicas do diabetes melito: Consenso da Sociedade Brasileira de Diabetes e Conselho Brasileiro de Oftalmologia. Rev. Assoc. Med. Bras. [online]. 1999, vol.45, n.3, pp. 279-284.

GROSS, J. L.; NEHME,M. Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. Arq Bras Endocrinol Metab, São Paulo, v. 46, n. 1, 2002.

GROVER, J. K.; YADAV, S.; VATS, V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. Journal of ethnopharmacology, 2002, 81.1: 81-100.

HAERI, M. R.; LIMAKI, H. K.; WHITE, C. J. B.; WHITE, K. N. Non-insulin dependent anti-diabetic activity of (2S, 3R, 4S) 4-hydroxyisoleucine of fenugreek > Trigonella foenum graecum in streptozotocin-induced type I diabetic rats. Phytomedicine, 19.7: 571-574, 2012.

HENRY, John B. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20. ed. Barueri: Manole, 2008.

HIRATA, A. E.; ANDRADE, I. S.; VASKEVICIUS, P.; DOLNIKOFF, M. S. Monosodium glutamate (MSG) – obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. Braz J Med Biol Res, v. 30, p. 671-674, 1997.

HOCAYEN, P. A. S. Efeito da Administração Oral do Extrato de Baccharis dracunculifolia na obesidade induzida por Glutamato Monossódico (MSG). 2012 p108. Dissertação Mestrado - Universidade Estadual de Ponta Grossa Programa de pós

graduação em Biologia Evolutiva Associação ampla UEPG - UNICENTRO. Ponta Grossa, 2012.

IVORRA, M. D.; PAYA, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. Journal of Ethnopharmacology. v. 27, n. 3, p. 243-75, 1989

JANERO, D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radical Biology and Medicine, 9.6: 515-540, 1990.

JOHANSEN, J. S.; HARRIS, A. K.; RYCHLY, D. J.; ERGUL, A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovascular Diabetology, 2005.

JOSHI, S.C.; VERMA, A.R.; MATHELA, C.S. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. J. Chem. Toxicol. 48, 37-40, 2010.

JUSKIEWICZ, J.; ZDUNCZYK, Z.; JURGONSKI, A.; BRZUZAN, L.; GODYCKA-KLOS, I.; ZARY-SIKORSKA, E. Extract of green tea leaves partially attenuates streptozotocin-induced changes in antioxidant status and gastrointestinal functioning in rats. Nutrition Research, 28.5: 343-349, 2008.

KADOTA, S.; MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A.; TEZUKA, Y.; MATSUSHIGE, K.. Buds of Baccharis dracunculifolia: potent source of biologically active caffeoylquinic acids and labdane-type diterpenes of Brazilian própolis. Journal of Traditional Medicines. 20:5. 187-194, 2003.

KALLUF, L.J.H. Fitoterapia funcional: dos princípios ativos à prescrição de fitoterápicos. 1.ed. São Paulo: VP Editora, 2008. 304p

KASIVISWANATH R.; RAMESH A.; KUMAR K. E. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of Gmelina asiatica Linn. in normal and in alloxan induced diabetic rats. Biol Pharm Bull 28: 729-732, 2005.

KIM, Mi-Ja; KIM, Hye Kyung. Insulinotrophic and hypolipidemic effects of Ecklonia cava in streptozotocin–induced diabetic mice. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 5.5: 374-379, 2012.

LAGANI, V.; KOUMAKIS, L.; CHIARUGI, F.; LAKASING, E.; TSAMARDINOS, I. A systematic review of predictive risk models for diabetes complications based on large scale clinical studies. Journal of diabetes and its complications, 27 (2013) 407–413, 2012.

LEMOS, M.; BARROS, M. P.; SOUSA, J. P. B.; SILVA FILHO, A. A.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. Baccharis dracunculifolia, the main botanical source of Brazilian green propolis, displays antiulcer activity. Journal of pharmacy and pharmacology,59.4: 603-608, 2007.

LOAYZA, I.; ABUJDER, D.; ARANDA, R.; JAKUPOVIC, J.; COLLIN, G.; DESLAURIERS, H.; JEAN, F.L. Essential oils of Baccharis salicifolia, B. latifolia and B. dracunculifolia. Phytochemistry. 38:2. 381-389, 1995

LOPES, A. C. Tratado de Clínica Médica. 2 ed. São Paulo: Roca LTDA, 2009.

LYRA, R.; OLIVEIRA, M.; LINS, D.; CAVALCANTI, N. Prevenção do Diabetes Mellitus Tipo 2. Arq Bras Endocrinol Metab vol 50 nº 2 239-249 Abril 2010.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.Química Nova, 25(3), 429-438, 2002

MAFRA, D.; ABDALLA, D. S. A.; COZZOLINO S. M. F. "Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica."Revta Nutr 12: 205-212 1999.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS III, J. B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. J. Biochem. Mol. Toxicol. 17:24–38; 2003

MAROO J.; VASU, V. T.; AALINKEEL R.; GUPTA S. Glucose lowering effect of aqueous extract of Enicostemma littorale Blume in diabetes: a possible mechanism of action. J Ethnopharmacol 81: 317-320, 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas medicinais. Viçosa: Editora UFV, 2000.

MELO, J. G. D.; MARTINS, J. D. G. R.; AMORIM, E. L. C. D., ALBUQUERQUE, U. P. D. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (Aesculus hippocastanum L.), capim-limão (Cymbopogon citratus (DC.) Stapf) e centela (Centella asiatica (L.) Urban). Acta Bot Bras, 21, 27-36, 2007.

MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; NAGAOKA, T.; MATSUHIGE, K.; HUERTAS, A. A.; KADOTA, S. Liquid chromatography–mass spectrometry analysis of propolis. Phytochemical Analysis, 12(6), 366-373, 2001.

MISHRA, S. B.; VERMA, A.; MUKERJEE, A.; VIJAYAKUMAR, M. Amaranthus spinosus L. (Amaranthaceae) leaf extract attenuates streptozotocin-nicotinamide induced diabetes and oxidative stress in albino rats: A histopathological analysis./Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine S1647-S1652, 2012

MISHRA, S. B.; VERMA, A.; MUKERJEE, A.; VIJAYAKUMAR, M. Anti-hyperglycemic activity of leaves extract of Hyptis suaveolens L. Poit in streptozotocin induced diabetic rats. Asian Pac J Med; 4(9): 689-693, 2011.

MOORADIAN, A. D. Antioxidants and diabetes. Nestle Nutr. Workshop Ser. Clin. Perform. Programme 11:107–122; 2006.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 41.2: 121-142, 2005.

NETTO, A.P. Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial. Vol.45 n.1, 2009.

NIEMAN, D.C. Exercício e Saúde. São Paulo: Manole, 2011, p. 600.

OLIVEIRA, A. C. P.; ENDRINGER, D, C,; AMARIM, L. A. S.; BRANDÃO, M. G. L. COELHO, M. M. Effect of the extracts and fractions of Baccharis trimera and Syzygium cumini on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. Journal of ethnopharmacology, 102.3: 465-469, 2005.

PAGLIUSO, R. G.; GOLONI-BERTOLO FILHO, E. M.; PAVARINO-BERTELLI, E. C. Estresse oxidativo e disfunção crônica do enxerto renal. Arq Ciênc Saúde, 13.2: 223-7, 2006.

PATTABIRAMAN K.; MUTHUKUMARAN P. Antidiabetic and antioxidant activity of Morinda tinctoria roxb fruits extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Asian J Pharm Tech; 1(2): 34-39, 2011.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; LANCHA JR., A. H. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. Arq Bras Endocrinol Metab., v. 47, n. 2,p. 111-127, 2003.

PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Etiology of Insulin Resistance. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 5A, p. 105-165, 2006.

PINHEIRO, A.C.S.; PAIS, A.A.; TARDIVO, A.C.B. and ALVES, M.J.Q.F.. Efeito do extrato aquoso de cabelo de milho (Zea mays L.) sobre a excreção renal de água e eletrólitos e pressão arterial em ratos Wistar anestesiados. Rev. bras. plantas med. [online]., vol.13, n.4, pp. 375-381 2011.

RANG, H. P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

REAVEN, Gerald M. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes, 1988, 37.12: 1595-1607.

REIS, J. S.; VELOSO, C. A.; MATTOS, R. T.; PURISH, S.; NOGUEIRA-MACHADO, J. A. Estresse oxidativo: revisão da sinalização metabólica no diabetes tipo 1; Oxidative stress: a review on metabolic signaling in type 1 diabetes. Arq. bras. endocrinol. metab, 52.7: 1096-1105, 2008.

ROCHA, F.D.; TEIXEIRA, V.L.; PEREIRA, R.C.; KAPLAN, M.A.C. Diabetes mellitus e estresse oxidativo: produtos naturais como alvo de novos modelos terapêuticos. Revista Brasileira de Farmácia. 87, 49-54 2006.

RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto Rio Grande –Minas Gerais. Ciênc. Agrotec., 25:1.102-123, 2001.

ROOMAN, I.; HEREMANS, Y.; HEIMBERG, H.; BOUWENS, L. Modulation of rat pancreatic acinoductal transdifferentiation and expression of PDX-1 in vitro. Diabetologia;43:907–14, 2000.

ROY, T.; LLOYD, C. E. Epidemiology of depression and diabetes: a systematic review. Journal of affective disorders, 2012, 142: S8-S21

SABU, M.C.; KUTTAN, R. Antidiabetic activity of Aegle marmelos and its relationship with its antioxidant properties. Indian Journal of Physiology & Pharmacology, v.48, n.1, p.81-8, 2004.

SANTANA, R. B.; XU, L.; BABAKHANLOU, C.; AMAR, S.; GRAVES, D. T.; TRACKMAN, P. C. A role for advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. Diabetes, 52.6: 1502-1510, 2003.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. Free Radical Biol. Med., 30, 1191, 2001.

SERPA NETO, A.; ROSSI, F. M. B.; VALLE, L. G. M.; TEIXEIRA, G. K.; ROSSI, M. Liver markers, prevalence of the metabolic syndrome abnormalities and effect of Roux-en-Y gastric bypass in morbidly obese subjects; Marcadores hepáticos, prevalência de alterações da síndrome metabólica e efeito do bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux em pacientes obesos mórbidos. Einstein (Säo Paulo), 2011, 9.4.

SHARMA, S. B.; NASIR, A.; PRABHU, K. M.; MURTHY, P. S.; DEV, G. Antihyperlipidemic effect of active principle isolated from seed of Eugenia jambolana on alloxan-induced diabetic rabbits. Journal of medicinal food, 14.4: 353-359, 2011.

SHEIKH-ALI, M.; CHEHADE, J. M.; MOORADINA, A.D. The antioxidant paradox in diabetes mellitus. Am J Ther. May;18(3):266-78, 2011.

SHIMIZU, K.; ASHIDA, H.; MATSUURA, Y.; KANAZAWA, K. Antioxidative bioavailability of artepillin C in Brazilian propolis. Archives of Biochemistry and Biophysics, 424.2: 181-188, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GUSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTEZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editorada UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

SIMÕES-PIRES, C. A.; QUEIROZ, E. F.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Isolation and on-line identification of anti-oxidant compounds from three Baccharis species by HPLC-UV-MS/MS with post-column derivatisation.Phytochemical Analysis, 16(5), 307-314, 2005.

SOUSA, C. D. M.; SILVA, H. R., VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. D.; ARAÚJO, D. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Química nova, 30(2), 351-355, 2007.

SUDHEESH S.; PRESANNAKUMAR G.; VIJAYAKUMAR, S; VIJAYALAKSHMI N. R. Hypolipidemic effect of flavonoids fromSolanum melogena. Plant Foods for Human Nutrition, v. 51, 1997;321-330.

SUTHAGAR, E.; SOUDAMANI, S.; YUVARAJ, S.; ISMAIL KHAN, A.; ARULDHAS, M.M.; BALASUBRAMANIAN, K. Effects of streptozotocin (STZ)-induced diabetes and insulin replacement on rat ventral prostate Biomedicine & Pharmacotherapy 63 43e50, 2009.

SZKUDELSKI, T. Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. Experimental Biology and Medicine, 237.5: 481-490, 2012.

TAKADA, J.; MACHADO, M.A.; PERES, S.B.; BRITO, L.C.; BORGES-SILVA, C.N.; COSTA, C.E.M.; FONSECA-ALANIZ, M.H.; ANDREOTTI, S.; LIMA, F.B. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. Metabolism Clinical and Experimental, v.56, 977–984, 2007.

THENT, Z. C.; DAS, S.; HENRY, L. J. Role of Exercise in the Management of Diabetes Mellitus: the Global Scenario. PLOS ONE, 2013, 8.11: e80436.

TOBEY, T. A. Relationship between insulin resistance, insulin secretion, very low density lipoprotein kinetics, and plasma triglyceride levels in normotriglyceridemic man. Metabolism, 1981, 30.2: 165-171.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. Quim Nova, 30.5: 1323-38, 2007.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? Química nova, 2005, 28.3: 519-528.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero Baccharis (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. Quim Nova, 28.1: 85-94, 2005.

VERMA, N.; AMRESH, G.; SAHU, P. K.; RAO, C. V.; SINGH, A. P. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activity of ethyl acetate fraction of Rhododendron arboreum Smith flowers in streptozotocin induced diabetic rats and its role in regulating carbohydrate metabolism Singh Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 696-701, 2012.

VESSBY, J.; BASU, S.; MOHSEN, R.; BERNE, C.; VESSBY, B. Oxidative stress and antioxidant status in type 1 diabetes mellitus. JIntern Med. 251(1):69-76, 2002.

VIDARI, G.; VITA FINZI, P.; ZARZUELO, A.; GÁLVEZ, J.; ZAFRA, C.; CHIRIBOGA, X.; BERENGUER, B.; LA CASA, C.; LASTRA, C. A.; MOTILVA, V.; MARTÍN, M. J. Antiulcer and antidiarrhoeic effect of Baccharis teindalensis. Pharmaceutical biology, 41.6: 405-411, 2003.

WANI, V. K.; DUBEY, R. D.; SENGOTTUBELU, S.; SIVAKUMAR, T. Antidiabetic activity of methanolic root extract of Mukia maderaspatana in alloxan-induced diabetic rats. Int J Pharm Tech Res; 3(1): 214-220, 2011

WU, K.; LIANG, T.; DUAN,X.; XU, L.; ZHANG, K.; LI, R. Anti-diabetic effects of puerarin, isolated from Pueraria lobata (Willd.), on streptozotocin-diabetogenic mice through promoting insulin expression and ameliorating metabolic function. Food and Chemical Toxicology, 60: 341-347, 2013..

ZAFAR, M.; NAQVI, S. N.; AHMED, M.; KAIMKHANI Z. A. Altered kidney morphology and enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Int J Morphol; 27(3): 783-790, 2009.

ZAGURY L. Atualização brasileira sobre diabetes / Sociedade Brasileira de Diabetes. Rio de Janeiro : Diagraphic, 2005. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/atualizacaodiabetes2006.pdf>. Acessado em: 01/10/2013

8. ANEXOS

UNICENTRO

Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

COMITÊ DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 044/2012 - CEUA/UNICENTRO Guarapuava, 05 de julho de 2012

Senhor Pesquisador

1. Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado: **"Avaliação do estresse oxidativo e resposta inflamatória, de um modelo animal de diabetes, tratado cronicamente com extrato de *BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA*"**, parecer 029/2012 foi analisado e considerado **PENDENTE SEM REAVALIAÇÃO**, pelo Comitê de Ética em Uso de Animais de nossa Instituição em Reunião Ordinária no dia 04 de Julho de 2012.

2. Em atendimento à Resolução 196/96 do CNS, deverá ser encaminhado ao CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.

3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:

– Os ***Relatórios Parciais*** deverão ser encaminhados ao CEUA assim que tenha **transcorrido um ano da *pesquisa*.**

– Os ***Relatórios Finais*** deverão ser encaminhados ao CEUA em até **30 dias após a conclusão da pesquisa.**

– **Qualquer alteração na pesquisa** que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise do CEUA.

Pesquisador: Ricardo Aparecido Pereira

Atenciosamente

Prof. Rosilene Rebeca
Coordenadora do CEUA/UNICENTRO
Port. 1.983/2011 - GR/UNICENTRO

AO SENHOR: Carlos Ricardo Maneck Malfatti
DEFARM: Departamento de Farmácia
UNICENTRO

Prefeitura Municipal de Curitiba
Secretaria Municipal do Meio Ambiente
Departamento de Produção Vegetal
Divisão do Museu Botânico Municipal
HERBÁRIO MBM

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que foi depositado no Herbário MBM um exemplar da planta conhecida popularmente como ALECRIM-DO-CAMPO, cujo nome científico é *Baccharis dracunculifolia* DC., pertencente à família Asteraceae, coletada pelo pesquisador Carlos Ricardo Maneck Malfatti, s/nº, em 04/10/2012, no Campus CEDETEG, Universidade Estadual do Centro Oeste, município de Guarapuava, Paraná.
O exemplar foi identificado pelo botânico Osmar dos Santos Ribas e recebeu, como registro de tombamento no Herbário MBM, o número **385123**, estando a disposição para quaisquer eventuais consultas.

Por ser verdade, firmo a presente.

Curitiba, em 23 de agosto de 2013.

MAPV- 23.08.2013
Osmar dos Santos Ribas
Chefe de Divisão
MAT. 78.674

OSMAR DOS SANTOS RIBAS
Chefe Divisão do Museu Botânico Municipal
Curador do Herbário MBM

MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL – Caixa Postal 1142 – CEP 80.001 – 970 – Curitiba – Paraná
Fone: (41) 3362-1800 Fax: (41) 3264-7365 **e-mail:** herbariombm@smma.curitiba.pr.gov.br