

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTERDISCIPLINAR EM
DESENVOLVIMENTO COMUNITÁRIO - PPGDC

BRUNO MOREIRA SOARES

**EFEITOS DA INGESTÃO SUBCRÔNICA EM DIFERENTES DOSES DO EXTRATO
METANÓLICO DE *Baccharis dracunculifolia* (ALECRIM DO CAMPO) SOBRE
MARCADORES BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS DE UM MODELO ANIMAL DE
DIABETES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Irati
2015

BRUNO MOREIRA SOARES

**EFEITOS DA INGESTÃO SUBCRÔNICA EM DIFERENTES DOSES DO EXTRATO
METANÓLICO DE *Baccharis dracunculifolia* (ALECRIM DO CAMPO) SOBRE
MARCADORES BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS DE UM MODELO ANIMAL DE
DIABETES**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre em Desenvolvimento Comunitário, Curso de Pós-Graduação Interdisciplinar em Desenvolvimento Comunitário, área de concentração em Desenvolvimento Comunitário, da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

Orientador: Prof. Dr. Carlos R. M. Malfatti

Co-orientador: Prof. Dr. Jó Klanovicz

Irati

2015

Catálogo na Fonte
Biblioteca da UNICENTRO

S676e SOARES, Bruno Moreira.
Efeitos da ingestão subcrônica em diferentes doses do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo) sobre marcadores bioquímicos e histológicos de um modelo animal de diabetes / Bruno Moreira Soares. – Irati, PR : [s.n], 2015.
74f.

Orientador: Prof. Dr. Carlos R. M. Malfatti

Coorientador: Prof. Dr. Jó Klanovicz

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Desenvolvimento Comunitário. Área de concentração em Desenvolvimento Comunitário. Universidade Estadual do Centro-Oeste, Paraná.

1. Planta medicinal – dissertação. 2. *Diabetes mellitus*. 3. Glicose – insulina.
I. Malfatti, Carlos R. M. II. Klanovicz, Jó. III. UNICENTRO. IV. Título.

CDD 20 ed. 616.462

Dedico este trabalho a Daiane, meu grande amor e companheira,
Aos meus pais Rodrigo e Fátima, meus exemplos e grandes incentivadores,
A todos os pacientes diabéticos, que lutam diariamente pela vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e por tudo que tenho e sou hoje. Muito Obrigado Senhor por sempre estar aqui firme ao meu lado!

Agradeço a minha esposa Daiane pelo apoio, paciência e incentivo em todo o processo de elaboração desse estudo. Agradeço também aos meus "filhos peludos", Luke, Nina, Maia, Lola e Theofânio, pela lealdade e amor demonstrados durante todo esse processo. Amo muito vocês todos!

Agradeço aos meus pais Rodrigo e Fátima, a minha irmã Manuela e minhas sobrinhas Sophia e Antonella, meus sogros Roberto e Dirce e especialmente a minha irmã Gabriela pela grande ajuda na avaliação histológica e nas traduções de vários artigos e ao meu cunhado Marcos que me auxiliou grandemente nas compras de reagentes e demais materiais referentes as análises bioquímicas do estudo. Estendo também o meu agradecimento aos demais familiares e amigos que sempre estiveram ao meu lado para a efetivação dessa etapa de vida.

Agradeço minha parceira do Mestrado, Samarah, pois passamos por todas as fases do estudo juntos, tanto nas alegrias quanto nas tristezas, porém conseguimos com determinação e perseverança concluir mais uma fase em nossas vidas.

Agradeço pela ajuda dos meus colegas do laboratório durante a pesquisa, Andressa, Maíke, Jorge, Camila, Bruno e Rafaele. Agradeço ainda as minhas grandes amigas da "comunidade veicular" do mestrado, Patrícia, Silvana e Vânia.

Também agradeço ao Professor Ivo Keppers, Professor Durinézio de Almeida, Professora Herta Dalla Santa, Professor Marco Aurélio Romano e o Bioquímico Fabrício Holovka pela grande ajuda na parte logística para o desenvolvimento das várias etapas do estudo. Agradeço aos amigos do BIOMED, Luiz Augusto da Silva, Ricardo Pereira, Renan G. Michel, Genice Iurckevicz, André L. Snak e Jéssica Wouk pela ajuda nas etapas de confecção desse estudo.

Agradeço ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti pela competência e bom senso na orientação desse trabalho e pela confiança em mim depositada.

Agradeço aos amigos da Prefeitura de Pitanga, em especial a Elisabete, Valdir, Nilton, Ronaldo e Vilmar pelo apoio durante a elaboração deste trabalho.

Agradeço aos animais do experimento e a mãe natureza pelo alecrim do campo, pois sem eles não seria possível a realização desse estudo.

"Um trabalho tem sentido para uma pessoa quando
ela o acha importante, útil e legítimo."

Edgar Morin

RESUMO

Introdução: Atualmente, o diabetes *mellitus* (DM) vem ganhando grandes proporções, destacando-se como um problema de saúde pública mundial, acarretando implicações negativas às mais diversas dimensões que compõe os contextos comunitários. Deste modo, uma atenção especial de forma interdisciplinar tem sido empregada aos diferentes níveis preventivos e de enfrentamento do diabetes. Nesse sentido, várias espécies de plantas vêm sendo utilizadas para tratar e ou combater os sintomas do diabetes *mellitus*, tanto em modelos animais como estudos clínicos ou populacionais em seres humanos. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da ingestão subcrônica em diferentes doses do extrato metanólico da planta *Baccharis dracunculifolia*, em um modelo animal de DM sobre os parâmetros bioquímicos, hormonais e histológicos. **Métodos:** Foram utilizados 56 ratos machos adultos da linhagem *Wistar* tratados por 28 dias. Os animais foram organizados em 8 grupos de 07 indivíduos da seguinte forma: CT - Controle Tween ("Tween 80" + Água destilada), CB - Controle *Baccharis* (Extrato *B. dracunculifolia* - 200 mg/kg), CDT - Controle Diabéticos ("Tween 80" + Água destilada), DS - Diabéticos Sulfoniluréia (Sulfoniluréia - 10 mg/kg), DB50 - Diabéticos *Baccharis* 50 mg (Extrato *B. dracunculifolia* - 50 mg/kg), DB100 - Diabéticos *Baccharis* 100 mg (Extrato *B. dracunculifolia* - 100 mg/kg), DB200 - Diabéticos *Baccharis* 200 mg (Extrato *B. dracunculifolia* - 200 mg/kg), DB200S - Diabéticos *Baccharis* 200 mg + Sulfoniluréia (Extrato *B. dracunculifolia* - 200 mg/kg + Sulfoniluréia - 10 mg/kg). A indução do diabetes foi realizada pela administração de 60 mg/kg de estreptozotocina (STZ). Os animais foram avaliados quanto a evolução ponderal, consumo alimentar, ingestão hídrica e glicemia capilar e pós-prandial (TOTG). Ao final do tratamento subcrônico os animais foram eutanasiados para as coletas de sangue e tecidos para determinação de parâmetros bioquímicos, hormonais e confecção de lâminas histológicas. **Resultados e Discussão:** Para os grupos DB50 e DB100 em relação ao grupo CDT houve redução nos níveis de creatinina ($p < 0.05$), uréia ($p < 0.05$), triglicérides ($p < 0.05$) e glicose plasmática ($p < 0.05$). Os níveis de insulina plasmática apresentaram significância estatística ($p < 0.01$) entre os grupos diabéticos, com elevação de 81,1% a 94,4% entre as três doses administradas de extrato puro (DB50, DB100 e DB 200), quando comparados ao grupo diabético não tratado. Na glicemia capilar em jejum e pós-prandial, os grupos DB50, DB100, DB200 e DB200S, apresentaram diminuição de 54,3% a 63,4% ao jejum e de 37,9% a 45,0% no pós-prandial ao final do acompanhamento. Todos os tratamentos com *B. dracunculifolia*, em especial os grupos que receberam o extrato da planta de forma exclusiva (DB50, DB100 e DB200), foram eficazes em minimizar os danos teciduais do diabetes instalado ao longo do experimento na avaliação qualitativa histológica. **Conclusão:** O extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* promoveu queda dos níveis de glicose capilar ao jejum e pós-prandial de ratos induzidos à diabetes por STZ nas diferentes doses administradas. Houve redução de valores de glicose plasmática, triglicerídeos, creatinina e uréia de animais STZ induzidos tratados com a planta, especialmente nas concentrações de 50 e 100 mg. O extrato de *B. dracunculifolia* apresentou aparente proteção de danos em órgãos (fígado, rins e pâncreas) de animais diabéticos induzidos. Os grupos tratados com o extrato de *B. dracunculifolia* apresentaram concentrações superiores de liberação de insulina plasmática em todas as doses administradas do extrato.

Palavras-chave: *Baccharis*, Diabetes, Glicose, Insulina, Plantas medicinais.

ABSTRACT

Introduction: Currently diabetes mellitus (DM) is increasing, standing out as a worldwide public health problem, causing negative implications to various dimensions that make up the community settings. Thus, a special attention with interdisciplinary view has been employed at different levels and prevention of diabetes coping. In this way, several plant species have been used to treat or combat the symptoms of diabetes mellitus, both in animal models and clinical studies/population studies in humans. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the effects of subchronic ingestion of different doses of methanol extract of plant *Baccharis dracunculifolia* in an animal model of DM on the biochemical, hormonal and histological parameters. **Methods:** They were used in this study 56 Wistar adults male rats was treated for 28 days. The animals were divided into 8 groups, with 07 animals per group: CT - Tween Control ("Tween 80" + distilled water), CB - Control *Baccharis* (Extract B *dracunculifolia* - 200 mg / kg), CDT - Diabetic Control ("Tween 80"+ distilled water) DS - Sulfonylurea Diabetics (Sulfonylurea - 10 mg / kg), DB50 - Diabetic *Baccharis* 50 mg (Extract B *dracunculifolia* - 50 mg / kg), DB100 - Diabetic *Baccharis* (100 mg Extract B. *dracunculifolia* - 100 mg / kg), DB200 - Diabetic *Baccharis* (200 mg Extract B. *dracunculifolia* 200 mg / kg) DB200S - 200 mg *Baccharis* Diabetics + Sulfonylurea (Extract B *dracunculifolia* - 200 mg / kg + Sulfonylurea - 10 mg / kg). The diabetes induction was performed by administration of 60 mg / kg of streptozotocin (STZ). The animals were evaluated for weight, feed intake, water intake and fasting blood glucose and postprandial (OGTT). At the end of subchronic treatment, the animals were euthanized, and blood and tissues samples were collected for determination of biochemical and hormonal parameters, and preparation of histological slides. **Results and Discussion:** There was statistical difference for DB50 and DB100 groups regarding the CDT group to creatinine parameters ($p < 0.05$), urea ($p < 0.05$), triglycerides ($p < 0.05$) and plasma glucose ($p < 0.05$). The plasma insulin levels was statistically significant ($p < 0.01$) between the evaluated diabetic groups, an increase of 81,1% to 94,4 % between the three doses of pure extract (DB50 , and DB100 DB 200) , compared to diabetic untreated group. In fasting glucose and postprandial , the DB50 groups , DB100 , DB200 and DB200S, showed a decrease of 54,3 % to 63,4 % to fasting and 37,9 % to 45,0 % in the postprandial the end monitoring. All treatments with *B. dracunculifolia*, especially the groups that received the extract exclusively plant (DB50, DB100 and DB200), were effective in minimizing tissue damage of diabetes installed throughout the experiment histological qualitative assessment. **Conclusion:** Methanol extract of *Baccharis dracunculifolia* decreased levels of fasting capillary glucose and postprandial in rats with diabetes induced by STZ in different doses. There was a decrease in plasma glucose, triglycerides, creatinine and urea levels, in STZ-induced animals treated with the plant, particularly at concentrations of 50 and 100 mg. The *Baccharis dracunculifolia* extract presented an apparent damage protection in organs (liver, kidney and pancreas) in induced diabetic rats. The groups treated with the extract of *B. dracunculifolia* have higher concentrations of plasma insulin release in all administered doses of the extract.

Keywords: *Baccharis*, Diabetes, Glucose, Insulin, Medicinal plants.

Lista de Figuras

Figura 1 - Exemplos de <i>Baccharis dracunculifolia</i> coletadas na UNICENTRO	21
Figura 2 - Etapas de preparo do Extrato de <i>Baccharis dracunculifolia</i>	23
Figura 3 - Administração do tratamento nos animais por gavagem	24
Figura 4 - Protocolo experimental	25
Figura 5 - Punção caudal e dosagem em glicosímetro	26
Figura 6 - Efeito do <i>Baccharis dracunculifolia</i> no peso corpóreo dos animais	29
Figura 7 - Efeito do <i>B. dracunculifolia</i> no consumo alimentar dos animais	31
Figura 8 - Efeito do <i>Baccharis dracunculifolia</i> na ingestão hídrica dos animais	33
Figura 9 - Efeitos de <i>B. dracunculifolia</i> na glicemia capilar durante o período experimental	35
Figura 10 - Evolução da glicemia capilar no teste oral de tolerância a glicose	37
Figura 11 - Insulina animal plasmática ao final do experimento (eutanásia)	41
Figura 12 - Cortes histológicos de fígado dos grupos experimentais	43
Figura 13 - Cortes histológicos de rim dos grupos experimentais	44
Figura 14 - Cortes histológicos de pâncreas dos grupos experimentais	45
Figura 15 - Peso do fígado dos animais ao final do experimento (28 dias)	47
Figura 16 - Peso do rim dos animais ao final do experimento (28 dias)	48
Figura 17 - Peso do pâncreas dos animais final do experimento (28 dias)	49

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para diagnóstico de DM e seus estágio pré-clínicos	11
Tabela 2 - Principais classes de agente farmacológicos e de insulino terapia utilizados no controle do diabetes <i>mellitus</i> (DM)	13
Tabela 3 - Estudos realizados sobre o extrato de <i>Baccharis dracunculifolia</i> em diferentes modelos experimentais	18
Tabela 4 - Grupos experimentais avaliados	24
Tabela 5 - Efeitos do <i>Baccharis dracunculifolia</i> nos parâmetros bioquímicos dos animais (Média \pm DP, n=7)	39

Lista de Abreviaturas

AST	Aspartato transaminase
ALT	Alanina transaminase
CT	Controle Tween
CB	Controle <i>Baccharis</i>
CDT	Controle Diabéticos
DS	Diabéticos Sulfoniluréia
DB50	Diabéticos <i>Baccharis</i> 50 mg
DB100	Diabéticos <i>Baccharis</i> 100 mg
DB200	Diabéticos <i>Baccharis</i> 200 mg
DB200S	Diabéticos <i>Baccharis</i> 200 mg + Sulfoniluréia
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
HDL	Lipoproteína de alta densidade
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NaCl	Cloreto de sódio
RPM	Rotações por minuto
STZ	Estreptozotocina
T120	Tempo - 120 minutos
T30	Tempo - 30 minutos
T60	Tempo - 60 minutos
TOTG	Teste oral de tolerância a glicose

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO GERAL	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3 JUSTIFICATIVA	5
4 REVISÃO DA LITERATURA	7
4.1 DIABETES <i>MELLITUS</i>	7
4.1.1 Histórico do diabetes <i>mellitus</i>	7
4.1.2 Epidemiologia do diabetes <i>mellitus</i>	9
4.1.3 Classificação do diabetes <i>mellitus</i>	10
4.1.4 Fisiopatologia do diabetes <i>mellitus</i>	10
4.1.5 Diagnóstico do diabetes <i>mellitus</i>	11
4.1.6 Tratamento do diabetes <i>mellitus</i>	12
4.2 PLANTAS MEDICINAIS	13
4.2.1 Plantas medicinais e diabetes <i>mellitus</i>	14
4.2.2 <i>Gênero Baccharis (Asteraceae)</i>	16
4.2.3 <i>Baccharis dracunculifolia</i>	16
4.3 MODELO DE DIABETES EXPERIMENTAL E A SAÚDE HUMANA	18
5. MATERIAIS E MÉTODOS	20
5.1 QUESTÕES ÉTICAS	20
5.2 ANIMAIS DO EXPERIMENTO	20
5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	20
5.3.1 Material Botânico	20
5.3.2 Preparação do extrato	21
5.3.3 Indução ao diabetes <i>mellitus</i>	23
5.3.4 Distribuição dos grupos	23
5.3.5 Administração dos tratamentos	24
5.4 PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA	25
5.5 AVALIAÇÕES DE CONTROLE EXPERIMENTAL	26
5.5.1 Evolução ponderal, consumo alimentar e ingestão hídrica	26
5.5.2 Glicemia capilar em jejum	26
5.5.3 Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)	26

5.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS E HORMONAIIS	27
5.6.1 Análises bioquímicas	27
5.6.2 Análises hormonais	27
5.7 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	27
5.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	28
6 RESULTADOS	29
6.1 EVOLUÇÃO PONDERAL	29
6.2 CONSUMO ALIMENTAR	31
6.3 INGESTÃO HÍDRICA	33
6.4 GLICEMIA CAPILAR	35
6.5 TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE (TOTG)	37
6.6 DADOS BIOQUÍMICOS E HORMONAIIS	39
6.7 HISTOLOGIA	42
7 DISCUSSÃO	50
7.1 EVOLUÇÃO PONDERAL, CONSUMO ALIMENTAR, INGESTÃO HÍDRICA	50
7.2 GLICEMIA CAPILAR E TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE	51
7.3 DADOS BIOQUÍMICOS E HORMONAIIS	52
7.4 HISTOLOGIA	55
7.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
8 CONCLUSÃO	59
9 REFERÊNCIAS	60
10 ANEXOS	73

1 INTRODUÇÃO

Na atualidade, o diabetes *mellitus* (DM), pode ser considerado uma patologia global, atingindo os mais diversos contextos comunitários, sendo negativamente destacado como um grave problema de saúde pública mundial (BRASIL, 2006; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2011).

A ampla alteração do estilo de vida dos indivíduos de diversas sociedades, especialmente com o advento da globalização, proporcionou uma drástica mudança nos hábitos alimentares e baixos níveis de prática de atividade física diária. Por consequência, contribuíram decisivamente para o amplo desenvolvimento de doenças associadas à modernidade e globalização, onde destaca-se o DM, sendo observado tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, atingindo todas as classes sociais nas mais distintas comunidades (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2011; OMS, 2011).

Pesquisas evidenciam um grande potencial de morbimortalidade do DM, podendo gerar nos indivíduos acometidos por esta patologia várias complicações, tais como: retinopatias, neuropatias, cardiopatias e nefropatias, levando também a um grande número de casos de mortalidade. Atualmente, cerca de 3 milhões de óbitos ao ano são em decorrência do DM, sem levar em conta outros milhões que apresentam alguma limitação ou incapacidade advindo das morbidades desta patologia (BRASIL, 2006; PETERSEN e SHULMAN, 2006; OMS, 2011).

Vale ressaltar que a hiperglicemia observada no DM, pode ser considerada um dos principais fatores para o aparecimento das diversas alterações e complicações metabólicas ao longo da cronicidade da doença. Assim, otimizar o controle glicêmico é o ponto chave para propiciar uma melhor qualidade de vida a todos os indivíduos portadores do DM (RANG et al., 2004; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2011).

Aproximadamente, 300 milhões de pessoas apresentam o DM em todo o mundo, sendo que cerca de 90% destes indivíduos possuem o DM tipo 2 ou não-insulino dependente. No Brasil, o quadro atual do DM na população é muito preocupante, com cerca de 10 milhões de pacientes, o que leva o país a figurar entre as 20 nações com maior número de diabéticos proporcionalmente à população total (BRASIL, 2006; SBD, 2011; SBD, 2014).

Contudo, as projeções para o ano de 2030 não são animadoras, onde estimativas apontam que os casos de DM podem passar de 350 milhões em todo o mundo, nos mais diversos contextos sociais, porém com destaque para a evolução da doença em países em desenvolvimento ou em processo amplo de industrialização (WILD et al., 2004; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2011; SBD, 2011).

Diante desse panorama atual e projeções futuras, fica claro que o DM, deve ser tratado de forma interdisciplinar, como um grave problema de saúde pública mundial, levando implicações negativas às mais diversas dimensões que compõe os contextos comunitários, no que tange a aspectos biológicos, sociais, econômicos, psicológicos e culturais que permeiam e constituem a população, sejam em nível comunitário ou mesmo em proporções globais (BRASIL, 2006; PINHEIRO, 2006).

Portanto, é muito relevante o estudo e desenvolvimento de alternativas para a prevenção e o tratamento desta patologia e de suas morbidades, nos mais diversos níveis de enfrentamento do DM. Nesse sentido, ressalta-se a busca de novos fármacos com base na fitoterapia, na etnofarmacologia e na interdisciplinaridade, que possam auxiliar com eficácia terapêutica aos pacientes acometidos pelo DM, sobretudo pela presença da grande diversidade da flora natural brasileira (KALLUF, 2008; ALVES, 2007; BUSSMANN, 2009).

O emprego de plantas medicinais, para tratamentos de enfermidades, 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 ou empírica, constituindo-se em um importante recurso para a descoberta de novos fármacos ou compostos ativos, que possam ser úteis para a saúde e qualidade de vida populacional (ALVES, 2007; BUSSMANN, 2009).

Diante do exposto, busca-se demonstrar a importância da realização da presente pesquisa, no que tange o meio científico e comunitário, onde torna-se relevante um trabalho focado na interdisciplinaridade, bem como o aprofundamento dos conhecimentos etnofarmacológicos do nosso rico bioma regional em plantas que apresentam potencial efeito antiglicêmicos e protetores aos indivíduos diabéticos, inicialmente em modelos animais e que por consequência possam ser exportados aos estudos clínicos ou populacionais com seres humanos.

Almeja-se contribuir para a prevenção e tratamento da gravidade, muitas vezes negligenciada do DM, especialmente no que diz respeito à questão socioeconômica e de saúde pública, visando contribuir de forma ímpar para a diminuição dos reflexos desfavoráveis que o DM pode desencadear na população, pautados em uma visão interdisciplinar para um enfrentamento multidimensional dessa patologia.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da ingestão subcrônica em diferentes doses do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* (Alecrim do campo) em um modelo animal de DM, sobre os parâmetros bioquímicos, hormonais e histológicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Avaliar a evolução ponderal, consumo alimentar e ingestão hídrica dos animais;
- ii. Avaliar os efeitos do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* em diferentes doses, sobre marcadores bioquímicos e hormonais;
- iii. Analisar os efeitos do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* em diferentes doses na histologia do rim, fígado e pâncreas;
- iv. Analisar a resposta das diferentes dosagens utilizadas do extrato da planta frente aos parâmetros supracitados.

3 JUSTIFICATIVA

Em função da necessidade de comprovação científica no uso de plantas medicinais regionais no tratamento do DM, resistência a insulina, redução do estresse oxidativo e demais fatores relacionados com o risco dessa patologia, o presente estudo está pautado em um modelo animal de DM, sendo utilizada a planta *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo), pertencente a família *Asteraceae*. Tendo em vista que em estudos realizados por Marles e Farnsworth (1995), demonstraram que a maior parte das plantas que obtiveram comprovada atividade hipogliceminate pertenciam a esta família. Além da mesma pertencer ao gênero *Baccharis*, em que já foram constatadas propriedades terapêuticas hipoglicemiantes em outra espécie do mesmo gênero, *Baccharis trimera* (carqueja), corroborando para o estudo da eficiência do uso desta planta no tratamento do DM (NEGRI, 2005).

Destaca-se que em estudos anteriores, já foram encontrados diversos princípios ativos em *Baccharis dracunculifolia*, especialmente compostos com atividades antioxidantes como ácidos fenólicos, flavonóides e ácido cumárico. Estes são alguns dos principais constituintes encontrados nas plantas que possuem importante efeito hipoglicemiante (NEGRI, 2005; FUKUDA, et al., 2006). Assim, confirma-se a relevância deste estudo para o âmbito científico, além de seus alcances socioeconômicos, visando a contribuição para a redução dos impactos negativos da DM nos diversos contextos comunitários.

Vale ressaltar também, que o Laboratório de Ciências Biomédicas (BIOMED) - UNICENTRO liderado pelo Prof. Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti, desde 2009, desenvolve pesquisas interdisciplinares nas áreas de bioquímica clínica, metabolismo hormonal e disfunções metabólicas. Sempre tendo como princípio o desenvolvimento de inovação tecnológica em bioprocessos, ligados à saúde comunitária e a interdisciplinaridade. O desenvolvimento de produtos e processos, associados à saúde humana, com foco no metabolismo de hormônios realizados pelo grupo de pesquisa do BIOMED culminou em patente devidamente registrada sob o número BR102012020540-8 ao estudar a planta *Baccharis Dracunculifolia* e DM. Foram encontrados resultados relevantes no que tange o efeito da amplificação da sinalização da secreção de insulina, por meio da ingestão de extrato de *Baccharis dracunculifolia* em animais diabéticos. Fatos esses que demonstram

domínio, por parte dos pesquisadores, das metodologias relacionadas a esses estudos e um grau já avançado nas pesquisas em desenvolvimento.

O grupo de pesquisa proponente deste projeto (BIOMED/UNICENTRO), já executou anteriormente dois estudos (HOCAYEN, 2012; PEREIRA, 2014) seguindo o mesmo protocolo experimental com interfaces diferentes dentro do tema DM e a ingestão de novos compostos naturais (*Baccharis Dracunculifolia*).

Pretende-se por meio deste trabalho dar continuidade a essa linha de pesquisa, com o intuito de aprofundar os conhecimentos a cerca da temática proposta no que tange o uso de plantas medicinais regionais para o tratamento de DM com a administração de diferentes doses do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* em um modelo animal de DM.

Assim, busca-se novas alternativas, uma maior padronização e melhor aplicabilidade das doses do extrato para o tratamento desta patologia que atinge a população como uma pandemia mundial, vindo também de encontro com a crescente demanda por inovação tecnológica e conhecimento interdisciplinar nos meios acadêmicos, levando sempre em consideração toda a riqueza e pluralidade de componentes que permeiam e constituem os contextos comunitários, sua relação com o DM e o uso de plantas medicinais regionais na saúde humana.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 DIABETES *MELLITUS*

O DM pode ser definido como uma doença caracterizada por hiperglicemia, e está associada à várias alterações e complicações em órgãos alvo, tais como rins, nervos, cérebro, olhos, coração e também no sistema circulatório. Essa patologia advém de defeitos na secreção e ação do hormônio insulina, produzido no pâncreas. As alterações podem ser em decorrência de processos patogênicos específicos, como por exemplo, na destruição das células beta do pâncreas produtoras de insulina (BRASIL, 2006; SBD, 2011).

O DM acarreta em uma série de desordens metabólicas, com múltiplas etiologias, desencadeando inúmeros comprometimentos orgânicos, que vão se agravando com a evolução da cronicidade dessa patologia. Ainda, apresenta características clínicas clássicas, como poliúria, polidipsia, cegueira, neuropatias e falência renal (SBD, 2011, WHO, 2011).

O DM ainda é considerado uma doença crônica que não faz distinção de classe social, etnia e sexo, atingindo um contingente global de indivíduos. A sua incidência tem elevado-se anualmente, onde configura-se nas últimas décadas como um grave problema de saúde pública mundial (WHO, 2011).

4.1.1 Histórico do diabetes *mellitus*

O DM é uma patologia com um histórico primitivo, sendo que os seus primeiros registros na história humana estão ligados a fatos relacionados ao Egito Antigo. Entretanto, há cerca de 2 milênios, na Grécia, o médico Areteu, realizou o primeiro relato sobre essa doença, sendo tratada, ainda nesse momento, como uma moléstia misteriosa, cercada de muita mitologia, principalmente por não se conhecer sobre as possíveis causas, bem como os efeitos devastadores do DM sobre as condições metabólicas e, em especial, à glicemia dos indivíduos (SBD, 2014).

O termo diabetes vem de origem grega, estando relacionado à palavra "sifão", pois os pesquisadores já notavam claramente nesse período, o excesso da ingestão de água e de excreção de urina pelos portadores dessa patologia (NIEMAN, 2011).

Contudo, desde os primeiros achados na Grécia Antiga, os trabalhos a cerca dessa doença, permaneceram por muitos séculos de forma estagnada. Somente na Idade Moderna, precisamente no Século XVII, que o estudioso em medicina Thomas Willis verificou, que a urina de alguns indivíduos que expunham alguns sintomas em comum apresentavam um gosto adocicado (SBD, 2011).

Já na idade contemporânea, por volta do século XIX, Dr. Chevreul, constatou que a característica adocicada encontrada na urina do diabético era advinda da glicose corporal. Assim, os pesquisadores passaram a realizar a triagem dos possíveis diabéticos, por meio da degustação da urina, devido ao gosto adocicado. Dessa forma, essa patologia ficou então conhecida como DM, pois o termo *mellitus* em latim tem o significado relacionado as palavras "doce ou mel" (SATTLEY, 2008; SBD, 2011). Ainda no século XIX, alguns pesquisadores alemães (Von Mering e Minkowski), verificaram a presença de uma substância que mediava o controle sanguíneo do açúcar e por consequência minimizava os sintomas do DM. Essa substância ou hormônio produzida era liberada pelo pâncreas e passou futuramente a ser denominada insulina (SBD, 2011).

A partir do fim do século XIX, elevaram-se muito as pesquisas como também o números de descobertas frente ao DM e a relação com as suas causas, diagnósticos e tratamentos. Por exemplo, em 1869 com a descoberta da presença das ilhotas no pâncreas por Paul Langerhans, a seguir em 1893 o cientista francês Gustave Laguesse sugeriu que essas ilhotas produziram uma substância que realizava o controle da glicemia, denominada como insulina, derivando do termo *insula* do latim, que significa "ilha" (OLIVEIRA; MILECH, 2004; SBD, 2011).

Uma das mais relevantes descobertas no que tange o DM, ocorreu em 1921, onde dois pesquisadores canadenses (Banting e Best), conseguiram observar o real papel da insulina no controle da glicemia. Posteriormente outros estudos puderam trabalhar em prol do desenvolvimento e do melhoramento da insulina ou outros fármacos (hipoglicemiantes orais) para o tratamento e melhor controle dessa patologia (OLIVEIRA; MILECH, 2004; SBD, 2011).

Ao longo do século XX até os dias atuais, vários outros fármacos ou compostos ativos vêm sendo estudados para otimizar a prevenção, tratamento e o controle do DM, porém mesmo com diversos estudos e processos de inovações tecnológicas na área endócrina e metabólica, o DM ainda atinge uma vasta gama da população, levando a quadros elevados as taxas de morbimortalidade,

caracterizando-se como uma epidemia mundial. Assim, a incessante busca de novas alternativas para o enfrentamento dessa doença é fundamental, com intuito da redução e melhor controle e qualidade de vida aos seus portadores (BRASIL, 2006; SBD, 2011; SBD, 2014).

4.1.2 Epidemiologia do diabetes *mellitus*

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente há dezenas de milhões de pessoas acometidas pelo DM no mundo. Na América Latina em 2010, estimativas apontaram mais de 18 milhões de indivíduos portadores dessa patologia, sendo que dentro de 20 anos, esse número pode-se elevar consideravelmente, chegando em torno de 30 milhões de diabéticos (BOGALHO, 2010). Vale ressaltar também, que a mortalidade mundial em decorrência do DM, em 2030 pode vir a aumentar em mais de 50% (OMS, 2011).

O Ministério da Saúde, publicou em 2010 uma estimativa apontando que quase 8 milhões de brasileiros com idade superior aos 18 anos apresentam o DM tipo 2. No Brasil, anualmente, o DM pode levar a mais de 40 mil óbitos diretos, sem contar as morbidades que grande parcela da população apresenta em decorrência do quadro dessa patologia. Nos últimos anos, observa-se, ainda que a doença atinge todas as regiões do país, nas mais distintas classes sociais, por isso se torna um grande desafio para as autoridades em saúde pública (MARTINS et al., 2008).

Vários são os fatores de risco para o desenvolvimento do DM, com destaque para os componentes genéticos, metabólicos, e, também, fatores externos relacionados à uma alimentação inadequada, sedentarismo, estresse, elevado processo de industrialização e urbanização e, especialmente, a obesidade (SBD, 2014).

A busca por um estilo de vida mais saudável tem um papel crucial tanto para a prevenção como no controle do DM, propiciando, dessa forma, inúmeros benefícios à saúde e melhor qualidade de vida as comunidades (OMS, 2011; SBD, 2011).

4.1.3 Classificação do diabetes *mellitus*

Os procedimentos de classificação do DM estão relacionados com características etiológicas. Contudo, os termos DM insulino-dependente e insulino não-dependente, não devem ser mais utilizados no que tange aos critérios atuais dessa patologia (SBD, 2011).

A classificação do DM pode ser realizada de quatro formas distintas: a) DM tipo 1, quando o organismo apresenta deficiência absoluta em produção de insulina, b) DM tipo 2, caracterizado pela resistência e insuficiente produção e secreção da insulina, c) DM gestacional, que pode acometer as mulheres durante o período de gestação, e d) outros tipos específicos de DM (ADA, 2006; FRÁGUAS; SOARES e BRONSTEIN, 2009; SBD, 2014). Cabe destacar que dentre os casos totais de DM, cerca de 90% representam os portadores de DM tipo 2, e 5 a 10% são os casos de pacientes com DM tipo 1 (LAGANI et al., 2012).

4.1.4 Fisiopatologia do diabetes *mellitus*

O DM consiste em uma patologia crônica que apresenta como característica fundamental um quadro hiperglicêmico. Sua etiologia é multicausal, em decorrência de defeitos ou alterações endócrinas observadas 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 do hormônio no organismo. O DM também pode ser ocasionada pelo o aparecimento destes dois fatores descritos de forma associada (LOPES, 2009; SBD, 2011).

A gênese do DM tipo 1 está essencialmente associada com a completa destruição das células β -pancreáticas responsáveis pela secreção da insulina, por meio de um mecanismo auto-imune mediado pelas células auto-reativas T-helper. Dessa maneira, as células T-helper, acabam por inibir a proteção natural do tecido pancreático, levando a um processo de inflamação e necrose das células β -pancreáticas. Esse evento é mediado pela elevação de inúmeras substâncias corporais, tais como: ocitocinas, interleucinas pró-inflamatórias e interferon (MONTI et al., 2009).

Já no DM tipo 2, seu início está intimamente relacionado com a presença de resistência insulínica. Há uma elevação dos níveis glicêmicos, ocasionando

inúmeras complicações e desarranjos no metabolismo, culminando em última instância, na redução significativa da secreção do hormônio insulina, em decorrência da falência das células pancreáticas (PAULI et al., 2011).

Dessa forma, os processos que envolvem o mecanismo de resistência insulínica podem estar relacionados à polimorfismos genéticos na fosforilação da tirosina nos receptores celulares, e na inibição da fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 e 2 (IRS 1 e 2), com conseqüente diminuição no envio de carreadores de glicose para a membrana das células alvo (WILCOX, 2005).

4.1.5 Diagnóstico do diabetes *mellitus*

Rotineiramente, o diagnóstico do DM tem sido efetuado com base nos níveis de glicose plasmática ou glicose plasmática em jejum e, também, com referência do Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) (ADA, 2010; SBD, 2014).

Segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes - SBD (2014), atualmente são três os critérios aceitos para o diagnóstico de DM com utilização da glicemia (Tabela 1):

- a) Sintomas de poliúria, polidipsia e perda ponderal acrescidos de glicemia casual > 200 mg/dl;
- b) Glicemia de jejum \geq 126 mg/d (com exame de contraprova para confirmação do diagnóstico);
- c) Glicemia de 2 horas pós-sobrecarga de 75 g de glicose > 200 mg/dl.

Tabela 1 - Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para diagnóstico de DM e seus estágios pré-clínicos

Categoria	Jejum (8 horas)	2h após 75g glicose (TOTG)
Normal	< 100	< 140
Tolerância a glicose diminuída	> 100 e < 126	\geq 140 e < 200
Diabetes <i>mellitus</i>	\geq 126	\geq 200

TOTG: Teste oral de tolerância a glicose.

Fonte: SBD (2014).

4.1.6 Tratamento do diabetes *mellitus*

A estratégia de tratamento, nos casos de DM tipo 1 e tipo 2, consiste na observação e análise dos níveis rotineiros de glicemia do portador e no nível de cronicidade de patologia. A associação do DM com quadros de obesidade, dieta inadequada e baixos níveis de atividade física podem contribuir negativamente para uma piora do quadro clínico (BRASIL, 2006; ADA, 2010; SBD, 2011).

O controle glicêmico pode ser efetuado de forma aguda, por meio da ingestão de fármacos hipoglicemiantes ou mesmo com a aplicação de insulina em casos mais severos de incapacidade de secreção pelas células pancreáticas.

O acompanhamento e controle da glicemia são de grande relevância, no intuito da preservação de tecidos, que podem ser muito danificados em decorrência de uma hiperglicemia crônica, levando a um alto risco de morbimortalidade (GALAGHER et al., 2008).

O tratamento do DM pode ser realizado em duas dimensões, ou seja, com caráter não medicamentoso ou medicamentoso. No tratamento não medicamentoso utiliza-se desde alterações no estilo de vida do paciente, por meio de um acompanhamento nutricional balanceado com uma dieta equilibrada, prática de atividade física frequente e monitorada, visando uma melhoria do bem estar físico e psíquico do paciente. Já o tratamento medicamentoso deverá ser prescrito por um profissional capacitado tanto nos casos de hipoglicemiantes orais como também aos pacientes que necessitem de insulino terapia (GALBO et al., 2007; SBD, 2011, SBD, 2014).

Independente do tratamento ofertado, os pacientes devem sempre ser acompanhados de forma contínua e por uma equipe multidisciplinar. Cada indivíduo deve obter o melhor tratamento, de acordo com o estágio da doença, possibilitando, dessa forma, uma melhor qualidade de vida a esses indivíduos (NIEMAN, 2011; SBD, 2014).

Na Tabela 2 descreve-se as principais classes de agentes farmacológicos e de insulino terapia disponíveis para o tratamento do DM.

Tabela 2 - Principais classes de agente farmacológicos e de insulino terapia utilizados no controle do DM

Medicamento	Classe	Mecanismo de ação	Meia-vida (horas)	Metabolismo	Excreção
Sulfoniluréia*	Tolbutamida	Secreção de	4 - 7	Hepático	Renal e Biliar
	Glibenclamida	Insulina	6 - 12	Hepático	Renal e Biliar
	Glimepirida		8 - 16	Hepático	Renal e Biliar
Biguanida*	Metformina	Sensibilização periférica à insulina		---	Renal
Tiazolidinediona*	Rosiglitazone	Sensibilização	3 - 4	Hepático	Renal
	Pioglitazone	periférica à insulina	3 - 7	Hepático	Renal
Análogos de GLP-1**	Exenatide	Secreção de	3,5	Hepático	Renal
	Liraglutide	Insulina	13	Hepático	Renal
Inibidores de α -Glucosidase*	Acarbose	Redução de	2 - 4	TGI	Renal
	Miglitol	absorção de glicose pelo intestino	2,5 - 5	Hepático	Renal
Secretagogos*	Nateglinida	Secreção de	1,5	Hepático	Renal
	Repaglinida	Insulina	1	Hepático	Renal e Biliar
Insulina/Análogos	Ação	Início	Pico	Duração	Classificação
Glargina	Lenta	2 - 4 h	não	20 - 24 h	Análogo
Determir		1 - 3 h	6 - 8 h	18 - 22 h	Análogo
NPH	Intermediária	2 - 4 h	4 - 10 h	10 - 18 h	Insulina
Regular	Rápida	0,5 - 1 h	2 - 3 h	5 - 8 h	Insulina
Asparte		5 - 15 min.	0,5 - 2 h	3 - 5 h	Análogo
Lispro	Ultrarrápida	5 - 15 min.	0,5 - 2 h	3 - 5 h	Análogo
Glulisina		5 - 15 min.	0,5 - 2 h	3 - 5 h	Análogo

*Administração por via oral; **Administração por meio de injeção subcutânea. TGI= Trato gastrointestinal. GLP-1: Glucagon-like peptide-1. NPH: Neutral Protamine Hagedorn.

Fonte: Chitre e Burke (2006) e SBD (2014).

4.2 PLANTAS MEDICINAIS

Ao longo da história, o uso de plantas medicinais vem sendo empregado na medicina popular (LEITE, 2009). Segundo a OMS, (2002), aproximadamente 80% da população global utiliza plantas medicinais como principal forma de ingresso às suas necessidades básicas de saúde.

Por meio da utilização empírica, foram descobertos vários compostos que são amplamente utilizados e difundidos no meio da medicina popular. Esse fato propiciou subsídios importantes para a descoberta de novos fármacos de grande relevância para o tratamento de algumas doenças (BUSSMANN, 2009).

Inúmeras substâncias químicas, obtidas de plantas regionais, têm proporcionado à indústria farmacêutica uma das mais importantes fontes de componentes para a pesquisa de novos produtos naturais com propriedades terapêuticas, medicamentos e suplementos, especialmente nas últimas décadas para o tratamento de diversas doenças (VERDI et al., 2005). Nesse sentido, a utilização de tais plantas medicinais ou mesmo de seus compostos ativos, na prevenção ou tratamento de patologias crônicas é fundamentado essencialmente na medicina tradicional de vários grupos étnicos e em dados etnofarmacológicos, pautados em estudos e experiências de campo e comunitárias no vasto bioma brasileiro (LEITE, 2009).

O uso de ervas medicinais para tratar enfermidades é uma prática muito antiga, sendo descrita ao longo da história humana praticamente em todas as civilizações globais e em diferentes povos e época. Dessa forma, torna-se relevante considerar os conhecimentos e procedimentos que cercam essa prática milenar em diferentes comunidades e suas especificidades e peculiaridades, legitimando dessa forma os sujeitos inseridos localmente (BUSSMANN, 2009).

É de extrema importância resgatar e conhecer as práticas e saberes da população no que diz respeito às informações etnobotânicas e etnofarmacológicas. Essas informações foram construídas ao longo dos processos históricos e consolidados no senso comum, que permearam as mais diversas comunidades, legitimando, de tal modo, por meio de padronizações e estudos científicos todo esse saber comunitário a cerca do uso de plantas medicinais regionais e suas implicações para a saúde humana (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 2002; BUSSMANN; 2009).

4.2.1 Plantas medicinais e diabetes *mellitus*

O DM é uma patologia que atinge milhões de pessoas em todo o mundo, trazendo inúmeras complicações à saúde dos pacientes e gerando enormes gastos governamentais como saúde e previdência (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2011; OMS, 2011). Neste contexto, diferentes pesquisas podem

auxiliar na busca de novas alternativas de tratamento para melhoria da qualidade de vida e tratamento dos diabéticos (ADA, 2010; SBD, 2014). Ressalta-se a busca de fármacos hipoglicemiantes com base na fitoterapia, devido a grande diversidade do bioma brasileiro (VERDI et al., 2005; HOCAYEN, 2012; PEREIRA, 2014).

Nesse contexto, a etnofarmacologia por meio da realização de estudos experimentais, busca na natureza plantas que apresentem uma opção para formulação de novos medicamentos, para o tratamento de doenças que assolam a população, como o DM. Dessa forma, podem fornecer dados para a obtenção de fármacos mais eficazes, específicos e economicamente mais acessíveis à população baseados no conhecimento popular e sistemas tradicionais de medicina (SIMÕES et al., 2010).

Os resultados de pesquisas com plantas medicinais podem ter desdobramentos em vários níveis da sociedade. Individualmente, a descoberta de princípios ativos eficientes pode determinar a melhoria da qualidade de vida, em patologias crônicas ou a própria sobrevivência do paciente afetado. Na sociedade, a descoberta de fontes naturais pode estar vinculada ao desenvolvimento de fitoterápicos e o benefício comunitário e desenvolvimento regional. No setor empresarial, a indústria farmacêutica busca novas drogas que gerem grande rentabilidade. Por fim, no nível ecológico, o crescimento do interesse medicinal aumenta a importância da conservação à biodiversidade e diversidade cultural do ecossistema, salvaguardando e perpetuando a interdependência de plantas como fonte de medicamentos de origem vegetal (BRASIL, 2006; ADA, 2010).

De acordo com a OMS (2002), o uso de plantas medicinais seria uma importante alternativa para tratamento de doenças crônicas como o DM, principalmente nos países em desenvolvimento.

Atualmente a maior parte das plantas utilizadas como hipoglicemiantes no tratamento do DM, ao serem experimentalmente avaliadas, têm comprovada a sua atividade hipoglicemiante. O mecanismo de ação pelos quais as plantas baixam os níveis de glicose sanguínea pode ser atribuído ao aumento da liberação de insulina, através da estimulação das células β -pancreáticas; resistência aos hormônios, que aumentam a taxa de glicose; aumento do número e da sensibilidade do sítio receptor de insulina; diminuição da perda de glicogênio; aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos e; eliminação de radicais livres (VOLPATO et al., 2002; LEITE, 2009).

Algumas plantas com efeito comprovadamente testado, fazem parte do gênero *Baccharis* (Família *Asteraceae*). Apresentam grande dispersão pelo Sudeste e Sul do Brasil, sendo de fácil acesso à população e muito presentes no cotidiano. Assim, podem ser considerado, uma possível alternativa para o tratamento do DM e de outras patologias crônicas (LEITE, 2009).

4.2.2 Gênero *Baccharis* (*Asteraceae*)

A família *Asteraceae* é o grupo ordenado mais abundante dentro das Angiospermas, incluindo cerca de 1.100 gêneros e 25.000 espécies. Essas plantas apresentam aspecto extremamente diverso, compreendendo especialmente, pequenas ervas ou arbustos (HEYWOOD et al., 2007). Aproximadamente 98% das plantas deste grupo são de pequeno porte, encontrados em variados tipos de habitat, preferencialmente, nas regiões tropicais montanhosas da América do Sul (JOLY, 2002).

O gênero *Baccharis*, pertencente a família *Asteraceae*, é constituído por cerca de 500 espécies disseminadas, especialmente, por vários países da América do Sul, incluindo o Brasil, que apresenta em torno de 120 espécies de *Baccharis* descritas. O consumo popular do gênero *Baccharis* ocorre, sobretudo, por meio de infusões, sendo indicada para a prevenção e tratamento de diversas enfermidades, tais como, anemias, processos inflamatórios, problemas gástricos, hepáticos e também para o DM (VERDI et al., 2005; LEMOS et al., 2007).

De todo o grupo do gênero *Baccharis*, as espécies atualmente que são mais pesquisadas, em relação à sua composição físico-química e atividades biológica, são a *Baccharis megapotamica*, *Baccharis incarum*, *Baccharis trimera*, *Baccharis trinervis*, *Baccharis salicifolia*, *Baccharis crispa*, *Baccharis coridifolia*, *Baccharis grisebachii*, *Baccharis tricuneata* e *Baccharis dracunculifolia* (VERDI et al., 2005; LEITE, 2009).

4.2.3 *Baccharis dracunculifolia*

Entre as inúmeras espécies pertencente ao gênero *Baccharis* estudadas recentemente está a planta medicinal *Baccharis dracunculifolia*, que é também popularmente conhecida como alecrim-do-campo, alecrim-de-vassoura, vassourinha,

vassoureira, vassoura, erva-de-são-joão-maria, (TAKEDA e FARAGO, 2001). Largamente enfatizada e utilizada para a cura de diversas enfermidades na medicina popular ou tradicional brasileira (MENEZES, 2005).

O *Baccharis dracunculifolia* se apresenta na forma de um arbusto, que se desenvolve facilmente em várias regiões do Brasil, especialmente nas regiões do sul e do cerrado brasileiro.

A sua utilização na medicina popular é amplamente aceita, principalmente devido à sua atividade antiinflamatória, no tratamento de doenças do sistema digestório, no combate ao cansaço físico, inapetência, afecções febris, debilidade orgânica e de outras desordens hepáticas e pancreáticas (MENEZES, 2005; LEMOS et al., 2007). Vários estudos recentes demonstraram que o *Baccharis dracunculifolia* apresenta também atividades biológicas como antiulcerogênica (LEMOS et al., 2007), imunomoduladora (MISSIMA et al., 2007), anticariogênica (LEITÃO et al., 2004).

Este fato estimula novos estudos com essa planta medicinal dentro do campo experimental e, por consequência, em nível clínico, com o intuito de averiguar a presença de outros compostos ativos que possam contribuir positivamente para o tratamento de doenças crônicas como o DM, que assola grande parcela da população mundial atualmente (BUSSMANN, 2009, LEITE, 2009; SBD, 2011; SBD, 2014).

Na Tabela 3 estão descritas diversas pesquisas realizadas com o *Baccharis dracunculifolia*, e sua respectivas atividades biológicas.

Tabela 3 - Estudos realizados sobre o extrato de *Baccharis dracunculifolia* em diferentes modelos experimentais

Estudos de outros grupos de pesquisa		
Referência	Modelo	Resultados
Leitão et al. (2004)	Culturas de <i>Streptococcus mutans</i>	Efeito Bacteriostático na dose de 0,4 mg/mL
Silva Filho et al. (2004)	Bioatividade da substância tripanocida extraída de <i>Baccharis dracunculifolia</i> .	A concentração de 3,0 mg mL (-1), apresentou 100% de lise de formas tripomastigotas da cepa Y de <i>Trypanosoma cruzi</i> .
Menezes (2005)	Extrato aquoso de <i>B. dracunculifolia</i> , utilizando o modelo de pleurisia em camundongos	Atividade anti-inflamatória na dose de 200 mg/kg
Fukuda et al. (2006)	Crescimento dos compostos isolados contra células de leucemia (L1210)	3 terpenos fenólicos e 5 álcoois sesquiterpênicos exibiram atividade citotóxica frente as células de leucemia.
Lemos et al. (2007)	Propriedade anti-ulcerogênica do extrato hidroalcoólico de partes aéreas <i>B. Dracunculifolia</i>	Doses de 50, 250 e 500 mg/kg de extrato bruto diminuíram significativamente o índice de lesão
Fabri et al. (2011)	<i>In vitro</i>	Atividade antimicrobiana e antioxidante
Estudos do grupo de pesquisa BIOMED		
Referência	Modelo	Resultados
Pereira (2014)	Modelo de diabetes induzida por estreptozotocina	O tratamento durante 28 dias com dose de 400 mg/kg promoveu elevação dos níveis de secreção insulínica e redução da glicemia nos animais diabéticos tratados.
Oliveira et al. (2014)	Humanos saudáveis	O tratamento agudo com uma dose de 20/mg/kg levou a uma redução de 25% na glicemia dos indivíduos tratados. Foram identificados altos níveis de compostos fenólicos no extrato da planta.
Hocayen et al. (2015)	Modelo de obesidade induzida por glutamato monossódico	O tratamento durante 30 dias com uma dose de 400 mg/kg propiciou uma elevação de 30% da insulina nos animais obesos tratados. Foram encontrados elevados níveis de compostos fenólicos no extrato.

4.3 MODELO DE DIABETES EXPERIMENTAL E A SAÚDE HUMANA

O amplo interesse da comunidade científica em investigar os principais processos e mecanismos que envolvem o controle do DM, tem levado ao desenvolvimento de múltiplos modelos experimentais que simulem as diversas características clínicas e metabólicas dessa patologia. Esse modelos de análise

desenvolvidos, visam propiciar dados e informações de grande relevância na tentativa de uma melhor elucidação da multicomplexidade e interdisciplinaridade de fatores envolvidos no DM e suas complicações e morbidades para os seres humanos (SUTHAGAR et al., 2009; MISHRA et al. 2012; VERMA et al., 2012).

Atualmente, os modelos existentes utilizados na indução do DM podem ser classificados em três métodos: dietético, genético e químico. O padrão de DM experimental empregado nesse trabalho foi baseado em um modelo químico, por meio da administração de estreptozotocina (STZ). A STZ é um análogo da glicose, simula essencialmente características presentes no DM tipo 1 (destruição das células β -pancreáticas) , mas, também, apresenta por consequência características de redução na sensibilidade periférica à insulina verificada claramente no DM tipo 2. Dessa forma, esse modelo, permite averiguar uma vasta gama de observações e constatações durante o tratamento dos sujeitos do estudo (SHARMA et al., 2011; SZKUDELSKI, 2012).

Assim, o modelo de DM experimental que utiliza a STZ é considerado, para triagem inicial, um bom modelo para estudos de agentes antidiabéticos, sendo largamente empregados (IVORRA et al.; 1989; VERMA et al., 2012).

Os modelos experimentais de DM reproduzem as características clínicas da patologia, fazendo com que os animais apresentem semelhanças laboratoriais, clínica e histológicas com a doença em seres humanos. Portanto, os estudos experimentais de cunho interdisciplinar, tornam-se essenciais para a melhor elucidação dos mecanismos da doença, bem como para o desenvolvimento de novas alternativas no tratamento e controle dos casos de DM que vem sendo constatados nos mais diversos contextos comunitários e afligem grande parcela da população global (SUTHAGAR et al., 2009; MISHRA et al., 2012; VERMA et al., 2012).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 QUESTÕES ÉTICAS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA/Unicentro) sob o número 008/2014, Anexo 1.

5.2 ANIMAIS DO EXPERIMENTO

Foram utilizados 56 ratos machos, albinos da linhagem *Wistar* com 120 dias e peso inicial médio de 350 gramas. Os ratos foram adquiridos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM - Campus Maringá).

Os animais foram conduzidos em caixas e em veículo refrigerado (21 +/- 2°C), próprio para o transporte. Acondicionados em sala de experimentação animal do BIOMED/LABEN durante o tempo de tratamento do estudo.

Durante o experimento, os animais foram mantidos em local com temperatura controlada, em torno de 21 +/- 2°C, com fotoperíodo de 12 horas claro/12 horas escuro. Os ratos foram alojados em estantes metálicas, dentro de gaiolas para roedores com base em polipropileno, autoclavável, resistente a ácidos, nas medidas de 41x34x16 cm, tampa de arame de aço carbono com tratamento de zincagem, malha 7,5 mm, além de bebedouro de 700 ml específicas para animais de pesquisa.

A água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento. Foram utilizados ração comercial para roedores Nuvilab CR-1 (Quimtia[®], Brasil). No decorrer do estudo foi realizada pesagens dos animais e da ração consumida por eles. Também será avaliado o consumo de água semanalmente para verificação e acompanhamento do desenvolvimento dos animais.

5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

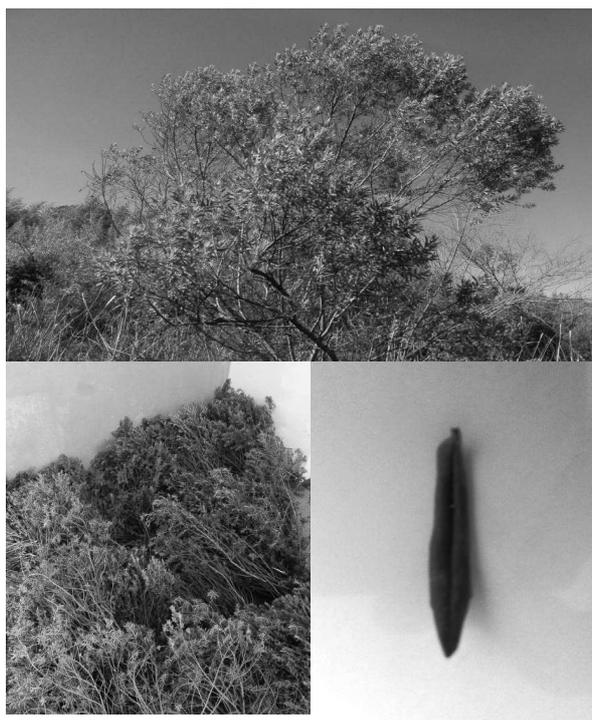
5.3.1 Material Botânico

Segundo Lima (2006), a seleção de espécies medicinais para investigação científica pode ser realizada por três critérios: randômica, etnofarmacológica e

quimiotaxonômica ou filogenética. No presente estudo utilizou-se a investigação pelo critério quimiotaxonômico, em virtude de espécies do mesmo gênero já terem sido estudadas como hipoglicemiantes e terem apresentado resultados científicos positivos. A planta *Baccharis dracunculifolia* (Figura 1) foi coletada durante o mês de julho de 2014, durante 2 dias distintos, com temperatura média de aproximadamente 15 °C e umidade relativa do ar em torno de 70%.

As coletas foram realizadas no Campus Cedeteg da UNICENTRO no município de Guarapuava, PR, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude Sul 25°23'36" e Longitude Oeste 51°27'19". As plantas colhidas foram encaminhadas para o Laboratório de Ciências Biomédicas, localizado no mesmo Campus, para iniciar o processo de preparação do extrato.

A exsicata da planta foi depositada no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (HMBM) e registrada com o número 388374 (Anexo 2).



Fonte: O Autor.

Figura 1 – Exemplos de *Baccharis dracunculifolia* coletadas na UNICENTRO.

5.3.2 Preparação do extrato

O processo de secagem da planta ocorreu de forma natural à sombra, em varais, durante 20 dias em temperatura ambiente (15 a 25°C). A secagem teve por

finalidade a retirada da umidade e com isso impedir reações de hidrólise e de crescimento microbiano (SIMÕES et al., 2010).

Na sequência, as plantas secas foram desfolhadas, moídas em moinho de rolos automatizado, peneiradas em tamises de aço inox nº 48 de malha mesh/tyler com abertura de 0,3 mm e acondicionadas em recipientes plásticos selados, para posterior preparação do extrato.

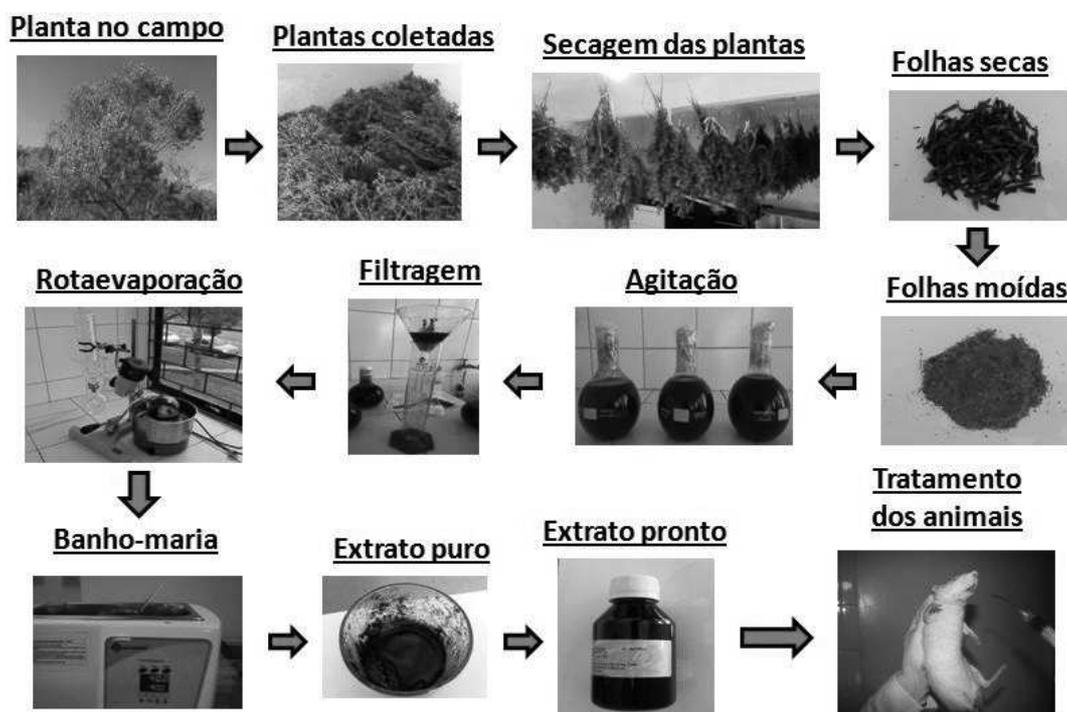
Para a obtenção do extrato da planta, as folhas moídas e peneiradas foram submetidas ao processo de extração por agitação. Foram feitas 04 amostras utilizando 50 g das folhas moídas para cada 220 mL de metanol, que permaneceram por uma semana no agitador magnético, totalizando 3400 g de planta pulverizada.

Posteriormente, a solução foi filtrada em papel filtro. O filtrado foi, então, evaporado inicialmente em rotaevaporador (20-25 rpm), a uma temperatura controlada (60 °C). Em seguida, permaneceu em banho-maria durante 3 dias com temperatura de 40 °C, para retirada do solvente (metanol) e obtenção do extrato bruto das folhas da planta.

Para a obtenção do extrato final da *B. dracunculifolia*, o extrato bruto foi diluído em solução de "Tween 80" (veículo) e água destilada, na proporção 1/8. A diluição teve que ser realizada com solução de "Tween", uma vez que o extrato bruto puro não se diluiu em água, tal procedimento visa facilitar a administração nos animais via gavagem.

O extrato final apresentou um rendimento de 11% em relação ao peso em quilogramas bruto das folhas utilizadas inicialmente, sendo armazenado em recipientes âmbar acondicionados em temperatura de refrigeração (5 °C).

O fluxograma completo de preparação do extrato metanólico de *B. dracunculifolia* segue ilustrado na Figura 2.



Fonte: O Autor.

As setas horizontais designam a ordem das etapas de produção do extrato da planta.

Figura 2 - Etapas de preparo do Extrato de *Baccharis dracunculifolia*.

5.3.3 Indução ao diabetes *mellitus*

Para a indução ao diabetes experimental, a estreptozotocina (STZ) (60 mg/kg), diluída em tampão citrato pH 4,5 foi injetada nos animais por via intraperitoneal, em dose única. Os controles não diabéticos receberam injeção de NaCl 0,9% por via intraperitoneal, na dose única e equimolar da STZ.

Após 72 horas da aplicação da STZ, a glicemia foi controlada pela coleta de sangue, por punção caudal, e analisada em um glicosimêtro da marca *Contour TS Bayer*[®], para confirmação do quadro de DM nos animais, sendo utilizado o padrão de 250mg/dl ou maior para a confirmação dos animais diabéticos na análise em jejum (PEREIRA, 2014).

5.3.4 Distribuição dos grupos

Foram formados 8 grupos, compostos por 7 animais cada, com acondicionamento de 3 a 4 animais por caixa. Os grupos foram estabelecidos de

forma aleatória, compondo 8 grupos de acordo com o tratamento subcrônico, durante os 28 dias do experimento (Tabela 4).

Tabela 4 - Grupos experimentais avaliados.

Grupos	Tratamento	n
1 - CONTROLE TWEEN (CT)*	“Tween 80” + Água destilada	07
2 - CONTROLE <i>BACCHARIS</i> (CB)*	Extrato <i>B. dracunculifolia</i> (200 mg/kg)	07
3 - CONTROLE DIABÉTICOS (CDT)#	“Tween 80” + Água destilada	07
4 - DIABÉTICOS SULFONILURÉIA (DS)#	Sulfoniluréia (10 mg/kg)	07
5 - DIABÉTICOS <i>BACCHARIS</i> 50 mg (DB50)#	Extrato <i>B. dracunculifolia</i> (50 mg/kg)	07
6 - DIABÉTICOS <i>BACCHARIS</i> 100 mg (DB100)#	Extrato <i>B. dracunculifolia</i> (100 mg/kg)	07
7 - DIABÉTICOS <i>BACCHARIS</i> 200 mg (DB200)#	Extrato <i>B. dracunculifolia</i> (200 mg/kg)	07
8 - DIABÉTICOS <i>BACCHARIS</i> 200 mg + SULFONILURÉIA (DB200S)#	Extrato <i>B. dracunculifolia</i> (200 mg/kg) + Sulfoniluréia (10 mg/kg)	07

* Grupos 1 e 2: não diabéticos; # Grupos 3 a 8: diabéticos induzidos (via STZ).

5.3.5 Administração dos tratamentos

Os respectivos tratamentos foram administrados em uma dose diária (conforme Tabela 4) por meio de gavagem, sempre realizadas no período matutino, na fase ativa e escura dos animais (Figura 3).



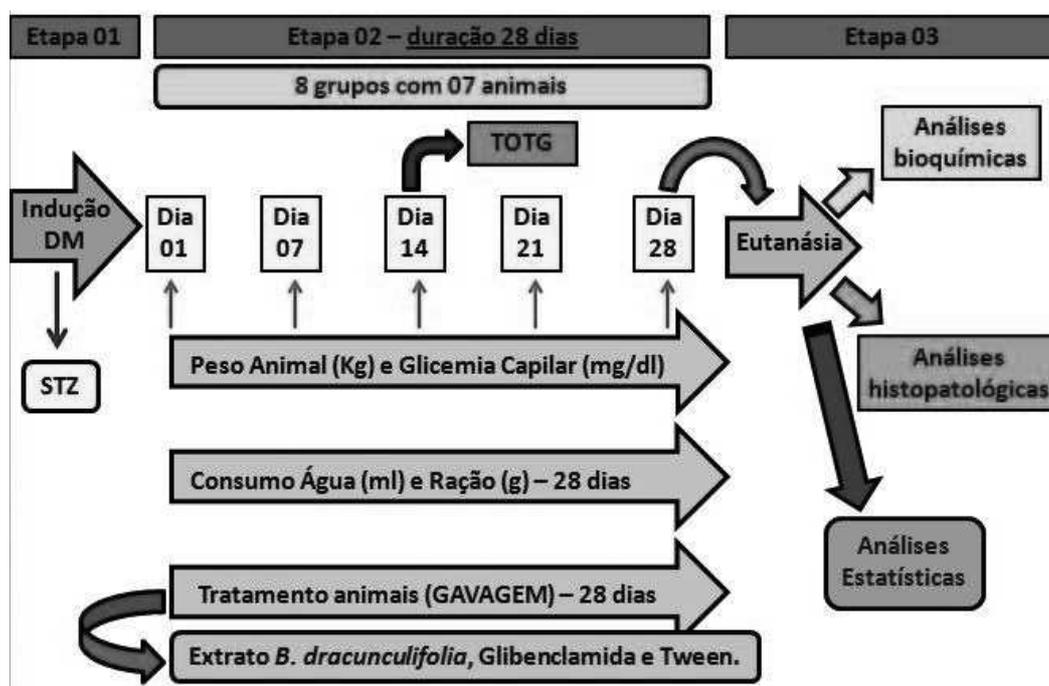
Fonte: Pereira (2014).

Figura 3 – Administração do tratamento nos animais por gavagem.

5.4 PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA

O protocolo experimental pode ser observado na Figura 4. Inicialmente organizou-se a divisão dos grupos experimentais, mediante a indução prévia do diabetes nos animais de forma aleatória (Etapa 1). Os animais foram tratados (de acordo com a tabela 4) e avaliados semanalmente quanto à evolução ponderal, consumo alimentar e ingestão hídrica, além da avaliação de glicemia capilar em jejum e do teste oral de tolerância a glicose (Etapa 2).

Ao final dos 28 dias de tratamento, os animais em jejum prévio de 12 horas foram eutanasiados por deslocamento cervical para a retirada de amostras de sangue (através de punção cardíaca) e tecidos. Nas amostras de sangue foram determinados parâmetros bioquímicos e hormonais como glicose, colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol, LDL-colesterol, creatinina, uréia, aspartato transaminase, alanina transaminase e insulina. Foram realizadas, também, a coleta de rins, pâncreas e fígado para confecção de lâminas histológicas (Etapa 3).



Os dados foram coletados ao longo dos 28 dias do protocolo experimental. As setas verticais em vermelho indicam os respectivos dias da coleta de peso do animal (kg) e glicemia capilar (mg/dl). As demais setas indicam a ordem das etapas do experimento. STZ: estresseozotocina; TOTG: teste oral de tolerância a glicose.

Figura 4 - Protocolo experimental.

5.5 AVALIAÇÕES DE CONTROLE EXPERIMENTAL

5.5.1 Evolução ponderal, consumo alimentar e ingestão hídrica

Para o acompanhamento do desenvolvimento, os ratos foram pesados semanalmente, desde o início do experimento até a eutanásia. Foram aferidas, também, a ração ingerida e o consumo de água semanal.

5.5.2 Glicemia capilar em jejum

Para a realização do controle glicêmico, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas para os dias 1, 7, 14 e 21 do estudo. Na avaliação foi coletada uma gota de sangue via veia caudal (Figura 5). A glicemia foi determinada por meio do glicosímetro de fitas (*Contour TS Bayer*[®]) e seus valores expressos em mg/dl.



Fonte: Pereira, 2014.

Figura 5 – Punção caudal e dosagem em glicosímetro.

5.5.3 Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)

No TOTG, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas para o 14^o dia do experimento. Neste, foi realizada a 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 30, 60 e 120 minutos após a administração, correspondendo a T30, T60 e T120. A glicemia foi determinada por meio do glicosímetro de fitas (*Contour TS Bayer*[®]) e seus valores expressos em mg/ dl.

5.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS E HORMONAIS

No final do experimento (dia 28), os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical com guilhotina manual. Foram coletadas amostras de sangue por meio de punção cardíaca (4 a 5 ml) para análises bioquímicas e hormonais. O sangue foi centrifugado à 2500 rpm por 10 minutos, para posteriores análises.

5.6.1 Análises bioquímicas

As determinações de alanina transaminase (UI/ L), aspartato transaminase (UI/L), colesterol total (mg/ dl), HDL-colesterol (mg/ dl), LDL-colesterol (mg/ dl), glicose (mg/ dl), triglicerídeos (mg/ dl), creatinina (mg/ dl) e uréia (mg/ dl) foram realizados utilizando kits comerciais enzimáticos específicos da Labtest[®] no analisador automatizado Labmax 240 (Labtest, MG, BRASIL).

5.6.2 Análises hormonais

A insulina animal plasmática foi determinada pelo método de radioimunoensaio e os seus resultados foram expressos em mcU/ ml (DPCimmulite 2000R, Los Angeles, EUA).

5.7 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Ao final do ensaio (28º dia), foram coletadas amostras de órgãos vitais (pâncreas, rim e fígado). Estes foram pesados e avaliados macroscopicamente. Posteriormente, foram acondicionadas em formaldeído 10% (v/v) por 7 dias para o preparo de lâminas histológicas.

Os fragmentos foram processados de acordo com as técnicas para inclusão em blocos de parafina, cortados em micrótomo a 3-4 micrômetros e corados pela técnica da Hematoxilina-Eosina (H.E.). Os órgãos foram avaliados quanto a presença ou não de alterações histopatológicas.

5.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os resultados foram representados como média e desvio-padrão. Os testes estatísticos foram avaliados pelo *software* SPSS 13.0 para Windows®.

Foi realizada a análise de normalidade das variáveis utilizando o teste de Shapiro-Wilk e, após, devido a normalidade constatada nas variáveis, foi aplicado o teste estatístico ANOVA de uma via, considerando significância de $p < 0.05$. Para identificar as diferenças significativas foi utilizado o teste Post-hoc Student-Newman-Keuls.

6 RESULTADOS

6.1 EVOLUÇÃO PONDERAL

Os dados da evolução de peso corpóreo dos animais são expostos na Figura 6.

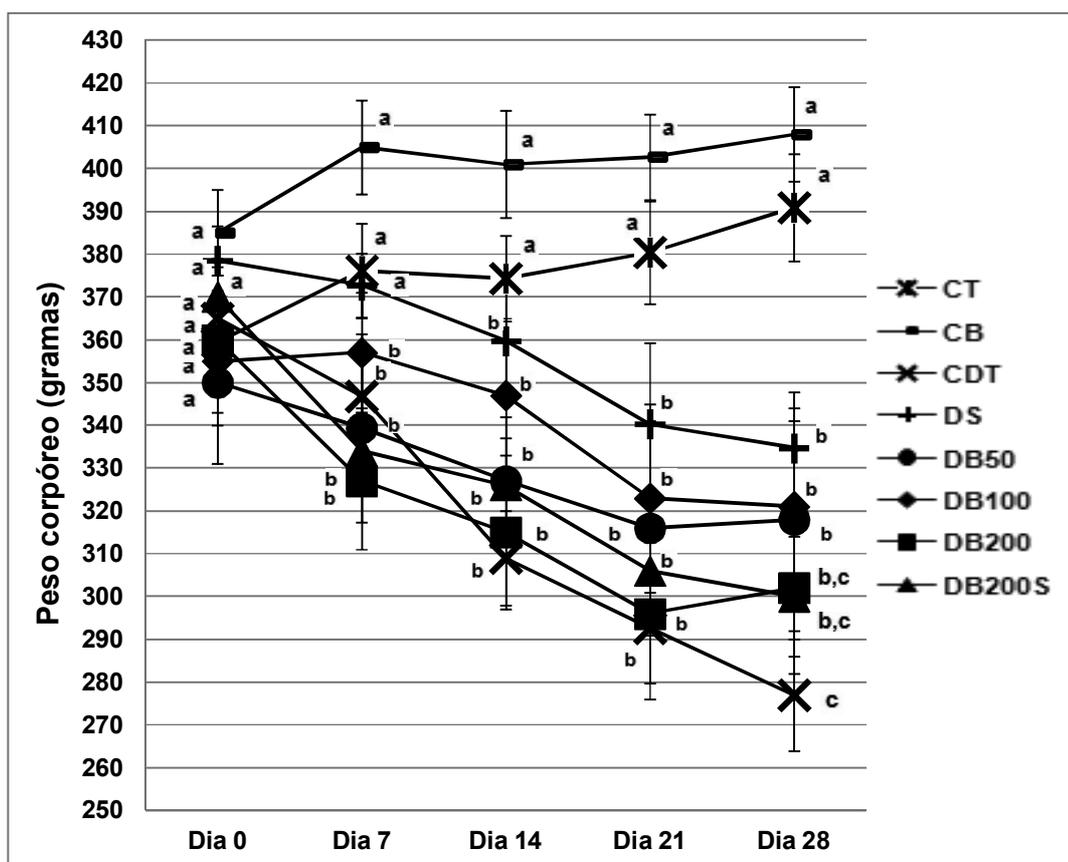


Figura 6 - Efeito do *Baccharis dracunculifolia* no peso corpóreo dos animais.

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Valores de peso corpóreo em gramas durante o experimento; Dia 0 representa início do tratamento. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b,c) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0,05$; StudentNewman-Keuls após ANOVA oneway).

A partir do 7º dia de pesagem após o início do tratamento, houve (Figura 6) diferença estatística em favor do maior volume de peso corpóreo em gramas entre 5,3% e 15,0% para o grupo CT (376,1 g; $p < 0,05$) e de 13,4% a 23,8% no grupo CB (405,0 g; $p < 0,05$) na comparação com o grupo diabético não tratado CDT (346,8 g;

$p < 0.05$) e diabéticos tratados nas doses DB50 (339,4 g; $p < 0.05$), DB100 (357,0 g; $p < 0.05$), DB200 (327,0 g; $p < 0.05$) e DB200S (334,0 g; $p < 0.05$). Somente o grupo DS (372,7 g) não apresentou diferença estatística com os grupos não diabéticos nesse momento de avaliação.

Na avaliação de peso corpóreo nos dias 14 e 21, os grupos controle não diabéticos (CT e CB) permaneceram demonstrando valores superiores de peso corpóreo entre 4,1% a 21,1% (14º dia) e 11,8% a 29,9% (21º dia) para CB ($p < 0.05$) e de 11,5% a 29,7% (14ª dia) e 18,3% a 37,5% (21ª dia) para CT ($p < 0.05$) na comparação com os demais grupos diabéticos (*tween*, sulfoniluréia e extrato da planta).

Ao final do tratamento (28º dia), os grupos não diabéticos CT (16,7% a 41,1%; 390,9 g; $p < 0.05$) e CB (21,9% a 47,3%; 408,0 g; $p < 0.05$) ainda tiveram um maior peso corpóreo em gramas quando comparados aos demais grupos diabéticos avaliados.

Salienta-se que o grupo CDT, a partir do 14º dia até ao fim do experimento demonstrou em média de 3,6% a 27,4% ($p < 0.05$) menor peso corpóreo quando comparado aos demais grupos avaliados nesse trabalho. Vale ressaltar que no 28º dia, os grupos DB50 (14,8%; 318,0 g; $p < 0.05$) e DB100 (15,9%; 321 g; $p < 0.05$), apresentaram valores de peso corpóreo superiores ao grupo diabético *tween* - CDT (277,0 g; $p < 0.05$), mostrando ao final do experimento uma minimização da perda de peso corpóreo em gramas nesses grupos tratados com o extrato da planta *B. dracunculifolia*, especialmente nessas dosagens inferiores.

6.2 CONSUMO ALIMENTAR

Os resultados de consumo alimentar podem ser verificados na Figura 7.

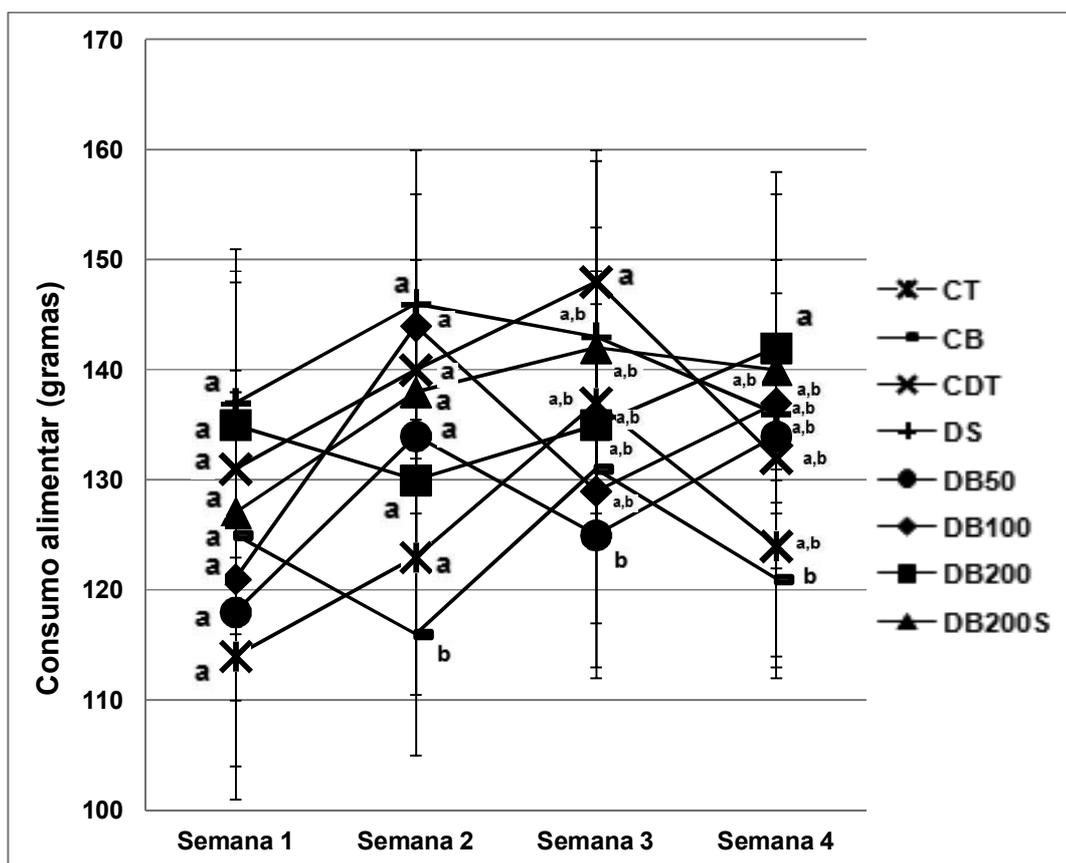


Figura 7 - Efeito do *B. dracunculifolia* no consumo alimentar dos animais.

Controle tweek - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Valores de consumo de ração em gramas durante as 04 semanas do experimento. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0.05$; StudentNewman-Keuls após ANOVA oneway).

Quanto ao consumo alimentar de ração (semana 1), não houve (Figura 7) diferença estatística entre os grupos avaliados nesse primeiro momento. Já na semana 2, constatou-se diferença estatística do grupo CB (116,0 g; $p < 0.05$) com os demais grupos avaliados, em favor de uma diminuição entre 5,7% e 20,5% ($p < 0.05$) no consumo de ração pelo grupo CB nessa comparação.

Para a semana 3 foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos DB50 (125,0 g; $p < 0.05$) e CDT (148,0 g; $p < 0.05$), com elevação do nível de consumo

de ração de 18,4% ($p < 0.05$) do grupo diabético CDT na comparação com o grupo DB50.

Ao final do tratamento (semana 04), novamente o grupo CB (121,0 g; $p < 0.05$) demonstrou 14,8% menor consumo de ração em gramas na comparação com o grupo DB 200 (142,0 g; $p < 0.05$) nessa avaliação.

6.3 INGESTÃO HÍDRICA

A ingestão hídrica semanal dos animais ao longo do tratamento está descrita na Figura 8.

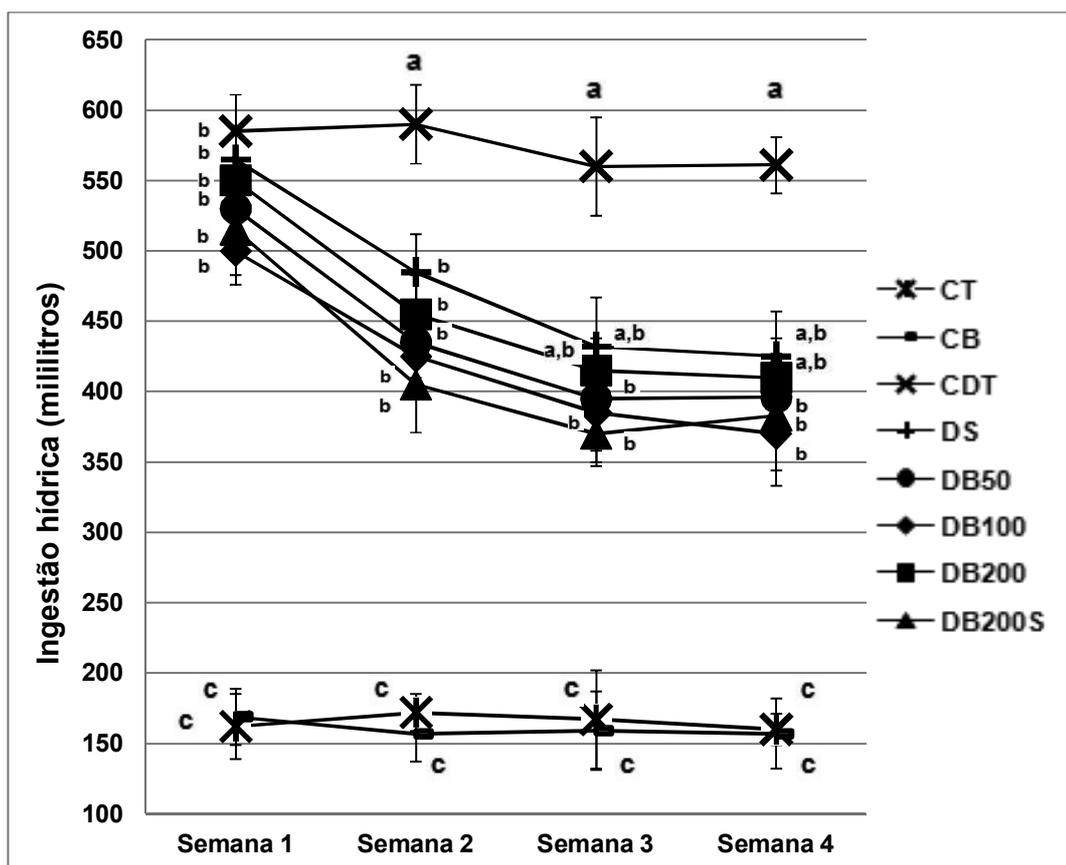


Figura 8 - Efeito do *Baccharis dracunculifolia* na ingestão hídrica dos animais.

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Valores de ingestão hídrica em mililitros durante as 04 semanas do experimento. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b,c) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0.05$; StudentNewman-Keuls após ANOVA oneway).

Não verificou-se (semana 1) diferença estatística entre todos os grupos diabéticos analisados. Entretanto, observou-se uma menor ingestão hídrica dos grupos CB (169,0 ml; $p < 0.05$) e CT (162,0 ml; $p < 0.05$) na associação com os grupos diabéticos nessa avaliação.

Na semana 2, houve diferença estatística entre os grupos diabéticos planta DB50 (435,0 ml; $p < 0.05$), DB100 (425,0 ml; $p < 0.05$), DB200 (455,0 ml; $p < 0.05$) e

DB200S (405,0 ml; $p < 0.05$) tanto com os grupos não diabéticos CT (172,0 ml; $p < 0.05$) e CB (157,0 ml; $p < 0.05$) como em relação ao grupo diabético - CDT (590,0 ml; $p < 0.05$), onde os grupos tratados com extrato de *B. dracunculifolia* (DB50, DB100, DB200 e DB200S) mostraram uma minimização da ingestão hídrica, especialmente na comparação com o grupo diabético não tratado (CDT).

A partir da semana 3, os grupos DB50 (395,0 ml; $p < 0.05$), DB100 (385,0 ml; $p < 0.05$) e DB200S (370,0 ml; $p < 0.05$) foram estatisticamente diferentes dos demais grupos, apresentando valores intermediários entre os grupos não diabéticos CT (167,0 ml; $p < 0.05$) e CB (159,0 ml; $p < 0.05$) e o grupo controle diabético CDT (560,0 ml; $p < 0.05$) até o fim do experimento (semana 4).

Ressalta-se que o grupo CDT (570,4 ml; $p < 0.05$), a partir da semana 2 até a semana 4, mostrou uma maior ingestão hídrica em relação aos outros grupos analisados, com uma elevação do consumo de água em 39,6% ($p < 0.05$), 45,0% ($p < 0.05$), e 47,7% ($p < 0.05$), na comparação com os grupos DB50 (408,6 ml; $p < 0.05$), DB100 (393,3 ml; $p < 0.05$) e DB200S (386,0 ml; $p < 0.05$), respectivamente.

6.4 GLICEMIA CAPILAR

Os dados referentes a avaliação semanal da glicemia capilar ao longo do experimento (21 dias), estão dispostos na Figura 9.

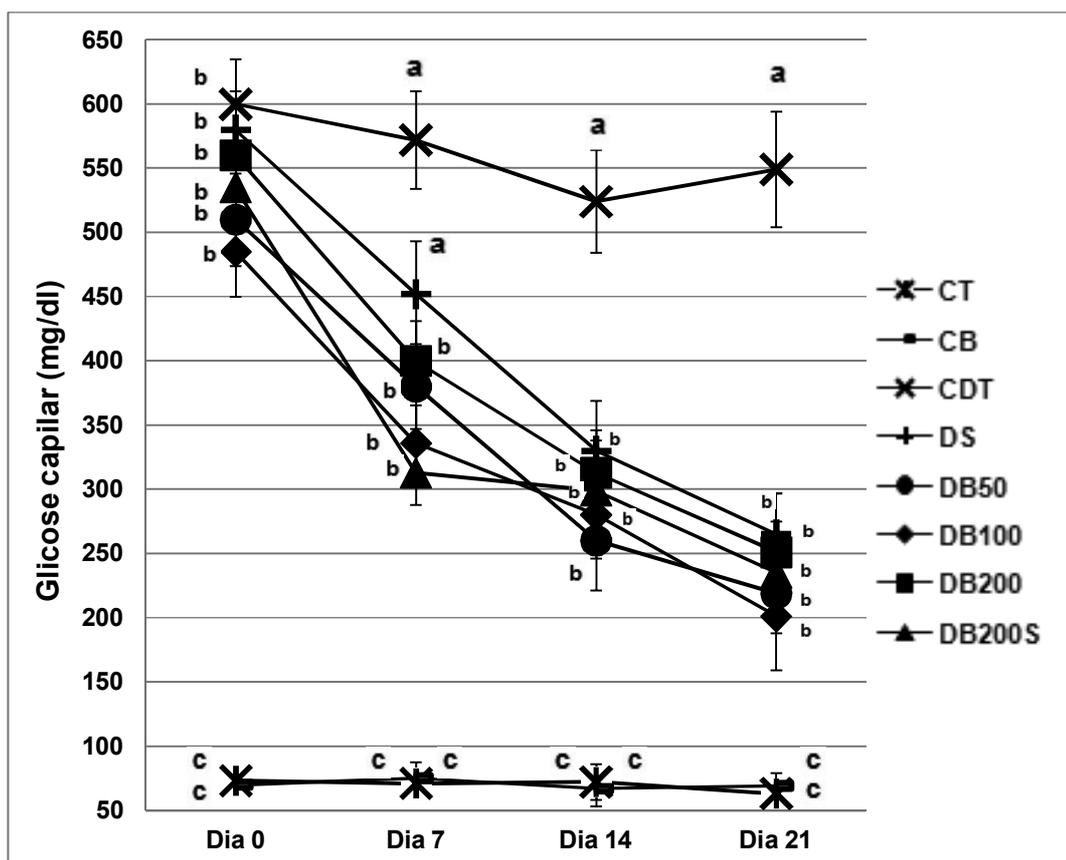


Figura 9 - Efeitos de *B. dracunculifolia* na glicemia capilar durante o período experimental.

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Valores de glicemia capilar durante o experimento; Dia 0 representa início do tratamento. Dados representam a média \pm DP (n=56). (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.

A partir do 7º dia de tratamento, houve uma diminuição dos níveis de glicose capilar nos grupos que receberam o extrato da planta, DB50 (33,5%; 380,0 mg/dl; $p < 0.05$), DB100 (41,3%; 336,0 mg/dl; $p < 0.05$), DB200 (30,1%; 400 mg/dl; $p < 0.05$) e DB200S (45,3%; 313,0 mg/dl; $p < 0.05$) em comparação com o grupo diabético tween - CDT (572,0 mg/dl; $p < 0.05$). A partir do 14º dia o grupo DS (37,0%; 330 mg/dl;

$p < 0.05$) também demonstrou redução da glicemia capilar na relação com o grupo CDT (524 mg/dl; $p < 0.05$).

A redução dos níveis de glicemia capilar nos grupos diabéticos tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*, permaneceram ao longo da semana final de acompanhamento (21º dia), sendo observadas diferenças estatísticas entre os grupos DB50 (60,1%; 219,0 mg/dl; $p < 0.05$), DB100 (63,4%; 201,0 mg/dl; $p < 0.05$), DB200 (54,3%; 251,2 mg/dl; $p < 0.05$), DS (51,7%; 265,5 mg/dl; $p < 0.05$) e DB200S (57,2%; 235,4 mg/dl; $p < 0.05$) na comparação com o grupo CDT (549,4 mg/dl; $p < 0.05$).

Quanto aos grupos CT e CB, estes mostraram sempre ao longo do estudo valores lineares e inferiores de glicose capilar (CT=76,0%; $p < 0.05$; CB=75,4%; $p < 0.05$) na comparação com os grupos diabéticos em média das 4 verificações.

Vale salientar, que ao final da avaliação (21º dia), os grupos diabéticos que receberam o extrato DB50 (57,1%; 219,1 mg/dl; $p < 0.05$), DB100 (58,5%; 201,2 mg/dl; $p < 0.05$) e DB200 (55,1%; 251,5 mg/dl; $p < 0.05$) ainda apresentaram uma importante redução dos valores de glicose capilar em comparação com os valores desses mesmos grupos ao início do tratamento (dia 0).

6.5 TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE (TOTG)

Os resultados indicativos à resposta da glicemia sanguínea dos animais após o estímulo com concentração padrão de glicose (pós-prandial) são apresentados na Figura 10.

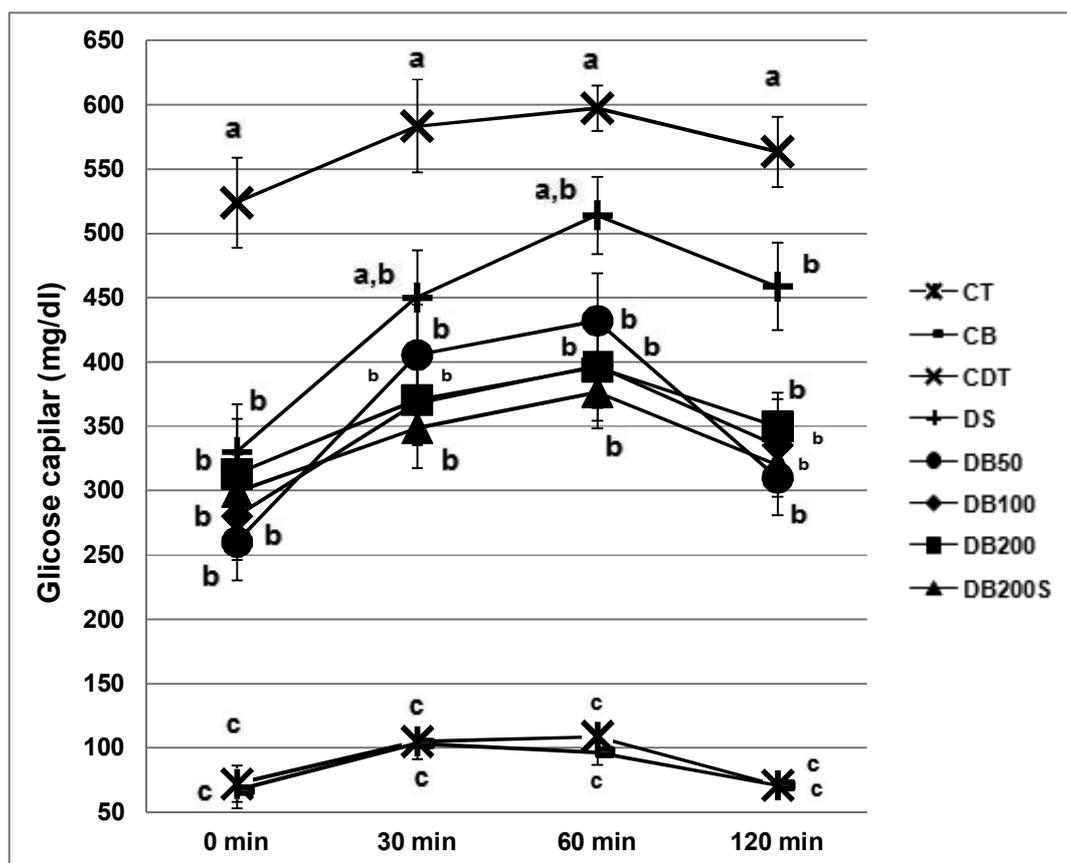


Figura 10 - Evolução da glicemia capilar no teste oral de tolerância a glicose.

Controle tweek - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Valores de glicemia capilar durante o TOTG. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b,c) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0,05$; StudentNewman-Keuls após ANOVA oneway). As medidas foram realizadas após 12h de jejum alimentar.

Os grupos diabéticos DB50 (0 min.= 50,4%; 30 min.= 30,5%; 60 min.= 27,6%; 120 min.= 45,0%; $p < 0,05$), DB100 (0 min.= 46,6%; 30 min.= 36,9%; 60 min.= 33,5%; 120 min.= 40,5%; $p < 0,05$), DB200 (0 min.= 40,3%; 30 min.= 36,5%; 60 min.= 33,7%; 120 min.= 37,9%; $p < 0,05$) e DB200S (0 min.= 42,9%; 30 min.= 40,3%; 60 min.= 36,9%; 120 min.= 43,2%; $p < 0,05$) demonstraram redução nos níveis de

glicemia capilar em todos os pontos da curva (0, 30, 60 e 120 minutos) quando comparado ao grupo CDT. O grupo DS (0 min.= 37,0%; 120 min.= 18,5%; $p<0.05$) apresentou redução glicêmica na associação com o grupo CDT apenas ao jejum e após 120 minutos

Na avaliação de jejum e nas quantificações 30, 60 e 120 minutos do TOTG, os grupos tratados com o extrato DB50 (0 min.= 260,1 mg/dl; 30 min.= 405,4 mg/dl, 60 min.= 432,2 mg/dl, 120min.= 310,0 mg/dl; $p<0.05$), DB100 (0 min.= 280,4 mg/dl; 30 min.= 368,2 mg/dl, 60 min.= 397,2 mg/dl, 120min.= 335,0 mg/dl; $p<0.05$), DB200 (0 min.= 313,1 mg/dl; 30 min.= 370,2 mg/dl, 60 min.= 396,2 mg/dl, 120min.= 350,0 mg/dl; $p<0.05$) e DB200S (0 min.= 299,0 mg/dl; 30 min.= 348,4 mg/dl, 60 min.= 376,5 mg/dl, 120min.= 320,0 mg/dl; $p<0.05$), apresentaram na curva, valores glicêmicos inferiores ao grupo controle diabético (CDT) e superiores aos grupos não diabéticos (CT e CB).

6.6 DADOS BIOQUÍMICOS E HORMONAIS

Os parâmetros bioquímicos avaliados ao final do tratamento são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Efeitos do *Baccharis dracunculifolia* nos parâmetros bioquímicos dos animais (Média ± DP, n=7).

Parâmetros Bioquímicos	Grupos							
	CT	CB	CDT	DS	DB50	DB100	DB200	DB200S
Glicose (mg/dl)	103,7 ± 48,8 ^{c,*}	115,2 ± 44,1 ^{c,*}	536,7 ± 66,9 ^{a,*}	327,3 ± 88,5	268,8 ± 42,6 ^{b,*}	254,4 ± 38,1 ^{b,*}	309,2 ± 79,4	236,7 ± 54,0 ^{b,*}
Colesterol total (mg/dl)	76,6 ± 19,2	84,3 ± 16,3	89,2 ± 10,7	84,2 ± 11,1	78,2 ± 9,2	78,3 ± 11,1	79,7 ± 12,6	79,2 ± 7,6
HDL-colesterol (mg/dl)	22,1 ± 9,8	24,8 ± 9,5	20,3 ± 9,2	23,4 ± 6,1	21,4 ± 5,5	20,1 ± 6,3	21,6 ± 9,2	26,5 ± 5,4
LDL-colesterol (mg/dl)	31,3 ± 20,4	40,7 ± 14,7	41,1 ± 16,5	44,1 ± 13,6	33,9 ± 12,3	31,5 ± 9,1	31,4 ± 20,9	31,04 ± 7,7
Triglicerídeos (mg/dl)	106,8 ± 25,6 ^{b,#}	94,2 ± 37,2 ^{b,#}	189,8 ± 39,6 ^{a,#}	112,7 ± 24,5 ^{b,#}	104,3 ± 33,5 ^{b,#}	103,8 ± 60,6 ^{b,#}	103,6 ± 40,1	107,8 ± 36,7
Creatinina (mg/dl)	0,59 ± 0,30	0,60 ± 0,20	0,83 ± 0,30 ^{a,#}	0,61 ± 0,09	0,54 ± 0,09 ^{b,#}	0,61 ± 0,10 ^{b,#}	0,56 ± 0,06 ^{b,#}	0,60 ± 0,12
Uréia (mg/dl)	40,6 ± 13,4 ^{c,#}	52,4 ± 13,3 ^{c,#}	118,3 ± 26,2 ^{a,#}	89,0 ± 30,2	96,9 ± 35,7 ^{b,#}	95,6 ± 28,2 ^{b,#}	104,4 ± 25,5	110,8 ± 34,6
AST (UI/L)	124,2 ± 45,2 ^{b,#}	145,8 ± 64,4 ^{b,#}	326,6 ± 74,3 ^{a,#}	164,0 ± 74,4	192,0 ± 81,7	208,2 ± 85,3	211,4 ± 58,5	210,5 ± 80,7
ALT (UI/L)	58,2 ± 23,7 ^{b,#}	77,3 ± 27,2 ^{b,#}	326,9 ± 87,1 ^{a,#}	255,3 ± 89,7	201,1 ± 81,0	248,5 ± 93,5	222,5 ± 88,8	268,5 ± 76,5

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Os dados foram expressos como média e DP. (a,b,c) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos (os símbolos acima dos números indicam as diferenças estatísticas usando ANOVA, com post test de Student-Newman-Keuls; onde [#] = p < 0,05 e ^{*} = p < 0.01). As medidas foram realizadas após 12h de jejum alimentar.

Fonte: Dados primários do experimento.

Pela análise dos grupos diabéticos (CDT, DB50, DB100, DB200, DB200S e DS) constatou-se (Tabela 5) diferença estatística em favor da redução de glicose ($p < 0.01$), triglicerídeos ($p < 0.05$), creatinina ($p < 0.05$) e uréia ($p < 0.05$) na comparação dos grupos tratados DB50, DB100, DB200 e DB200S com o grupo diabético não tratado (CDT).

Na avaliação da glicose plasmática, os grupos DB50 (50,1%; 268,8 mg/dl; $p < 0.01$), DB100 (52,6%; 254,4 mg/dl; $p < 0.01$) e DB200S (55,9%; 236,7 mg/dl; $p < 0.01$) apresentaram valores estatisticamente inferiores de glicose plasmática em relação ao grupo CDT (536,7 mg/dl; $p < 0.01$).

Para os triglicerídeos os grupos DB50 (45,0%; 104,3 mg/dl; $p < 0.05$), DB100 (45,3%; 103,8 mg/dl; $p < 0.05$), e DS (40,6%; 112,7 mg/dl; $p < 0.05$) mostraram redução nos níveis de triglicerídeos, na comparação com o grupo diabético não tratado - CDT (189,8 mg/dl; $p < 0.05$). Os grupos supracitados apresentaram valores de triglicerídeos próximos aos grupos não diabéticos CT (106,8 mg/dl) e CB (94,2 mg/dl).

Os grupos diabéticos tratados DB50 (34,9%; 0,54 mg/dl; $p < 0.05$), DB100 (26,5%; 0,61 mg/dl; $p < 0.05$) e DB200 (32,5%; 0,56 mg/dl; $p < 0.05$) mostraram também uma diminuição dos níveis de creatinina quando comparados ao grupo CDT (0,83 mg/dl; $p < 0.05$). Do mesmo modo, na análise de uréia, pode-se, notar, novamente nos grupos diabéticos que receberam o extrato da planta DB50 (18,1%; 96,9 mg/dl; $p < 0.05$) e DB100 (19,2%; 95,6 mg/dl; $p < 0.05$) valores inferiores ao grupo diabético *tween* - CDT (118,3 mg/dl; $p < 0.05$) nos níveis de uréia constatados ao final do experimento.

Quanto aos parâmetros supracitados, vale ressaltar que os grupos com doses inferiores de extrato da planta (DB50 e DB100) foram os que demonstraram melhores resultados, tanto em comparação com o grupo CDT como com os grupos CT e CB. Contudo, não houveram diferenças ($p > 0.05$) na comparação dos grupos diabéticos tratados com o extrato da planta entre si para os parâmetros glicose, triglicerídeos, creatinina e uréia.

Já para os demais parâmetros bioquímicos avaliados, os grupos diabéticos também não apresentaram diferença estatística entre si utilizando-se $p < 0.05$.

Os resultados de insulina plasmática após a eutanásia estão representados na Figura 11.

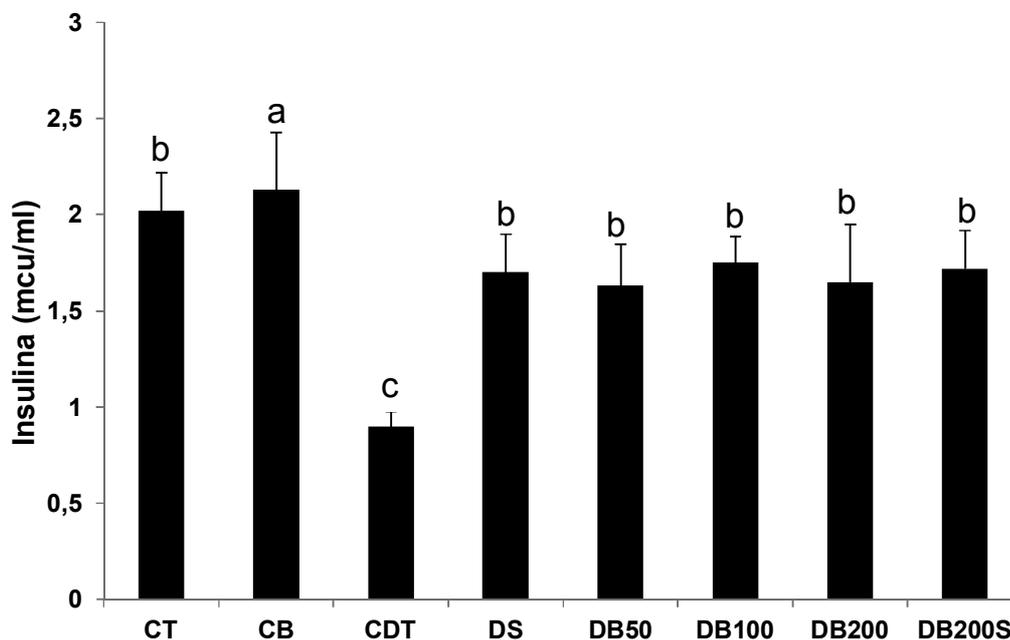


Figura 11 - Insulina animal plasmática ao final do experimento (eutanásia).

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Valores de insulina animal plasmática. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b,c) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0.01$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway). As medidas foram realizadas após 12h de jejum alimentar.

Ao final do experimento, a insulina plasmática, apresentou significância estatística ($p < 0.01$) entre os grupos diabéticos avaliados, com concentrações elevadas de insulina, para todos os grupos que receberam o extrato de *B. dracunculifolia* (DB50, DB100, DB200 e DB200S).

Contudo, entre as três doses administradas de extrato puro (DB50, DB100, DB200), observou-se resultados muito próximos e positivos na amplificação da secreção insulínica nos animais avaliados para os grupos DB50 (81,1%; 1,63 mcu/ml; $p < 0.01$), DB100 (94,4%; 1,75 mcu/ml; $p < 0.01$) e DB 200 (83,3%; 1,65 mcu/ml; $p < 0.01$), mesmo em doses reduzidas do extrato (DB50), quando comparado ao grupo CDT (0,90 mcu/ml; $p < 0.01$).

Entre os grupos CB e CT também foram encontradas diferenças significativas, com níveis superiores de insulina plasmática para o grupo CB (2,13 mcu/ml; $p < 0.01$) na comparação com o grupo CT (2,02 mcu/ml; $p < 0.01$).

6.7 HISTOLOGIA

Ao longo do período de estudo (28 dias), não foram visualizadas quaisquer alterações histopatológicas ou situações atípicas em relação aos aspectos clínicos dos animais saudáveis (grupos CT e CB). Quanto aos animais diabéticos, verificou-se amplamente os sinais e sintomas clínicos relacionados à patologia induzida (DM), sobretudo os animais que receberam apenas o *tween* (grupo CDT).

Nas Figuras 12, 13 e 14 são expostas as micrografias de cortes histológicos de fígado, rim e pâncreas, respectivamente, em aumento de 400 vezes à microscopia óptica, com as imagens representativas de componentes histológicos dos tecidos avaliados de cada grupo experimental da pesquisa.

Na análise qualitativa das lâminas micrografadas, verificou-se que as alterações celulares no grupo diabético controle (CDT) avaliado, foram compatíveis com a doença induzida. Para os grupos de animais não diabéticos (CB e CT) não foram verificadas alterações histológicas nos tecidos analisados. Os grupos diabéticos tratado com extrato da planta e sulfoniluréia (DB50, DB100, DB200, DB200S e DS) apresentaram dano tecidual de menor intensidade, quando comparado ao grupo CDT. Nesse contexto, verificou-se qualitativamente uma maior preservação dos hepatócitos e menor acúmulo de gordura nos tecidos hepáticos; menores alterações nos aspectos glomerulares e redução de lesões tubulares, de conteúdo hídrico e de comprometimento nuclear no interior celular para o tecido renal e, uma ampla melhoria na estrutura organizacional celular global do tecido pancreático, com minimização de danos relacionados ao volume, número e fibrose das ilhotas de Langerhans pancreáticas.

De forma geral, todos os tratamentos, em especial os grupos que receberam o extrato da planta de forma exclusiva (DB50, DB100 e DB200) foram eficazes em minimizar possíveis danos teciduais do diabetes instalado ao longo do experimento, mostrando características histológicas nesse grupos similares aos animais dos grupos CT e CB.

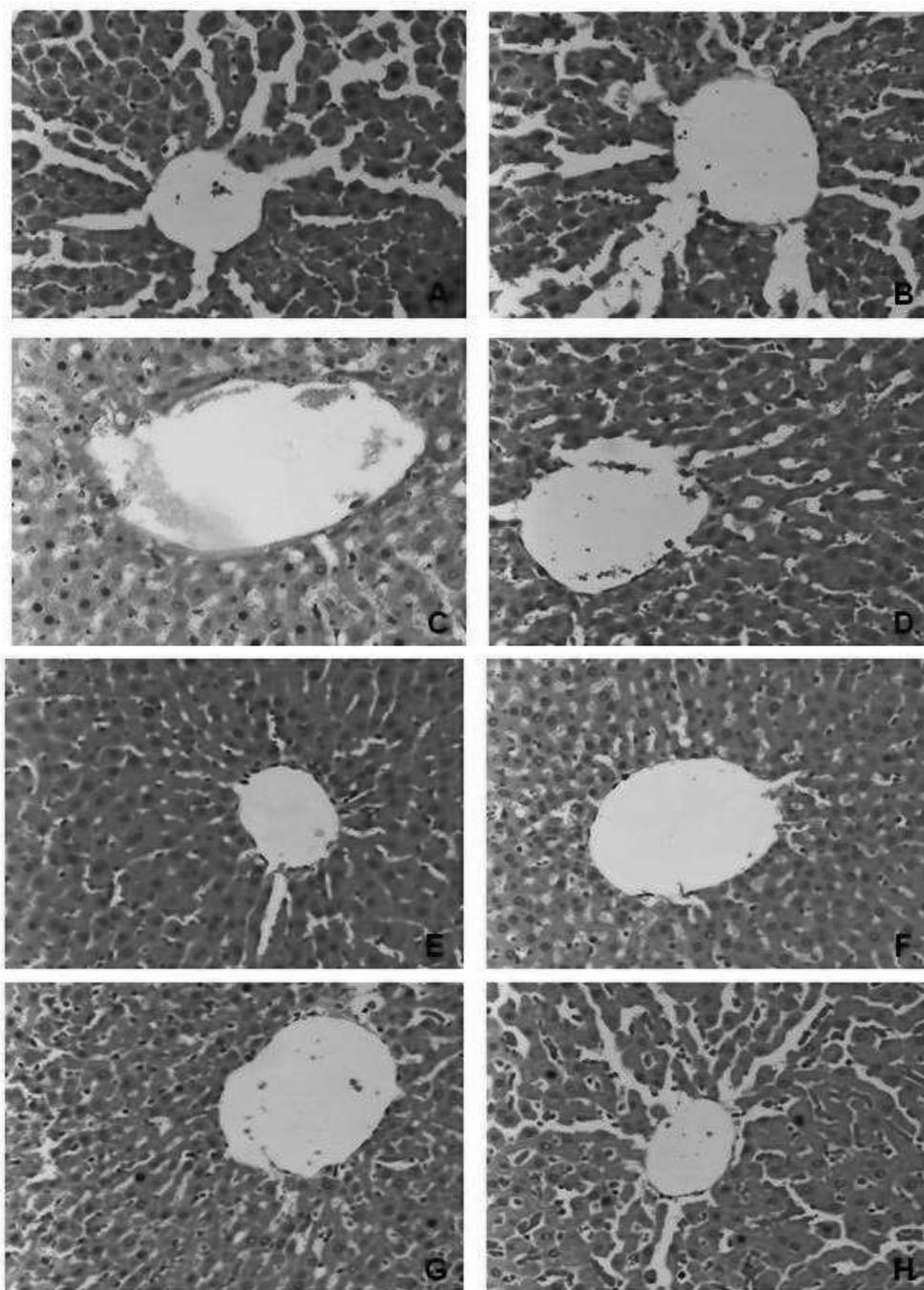


Figura 12 - Cortes histológicos de fígado dos grupos experimentais.

Micrografias de fígado ao final do período de 28 dias de tratamento. Micrografias de (A) controle tween - CT; (B) controle *Baccharis* - CB; (C) controle diabéticos - CDT; (D) diabéticos sulfoniluréia - DS; (E) diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; (F) diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; (G) diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e (H) diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Microscopia óptica, aumento 400X.

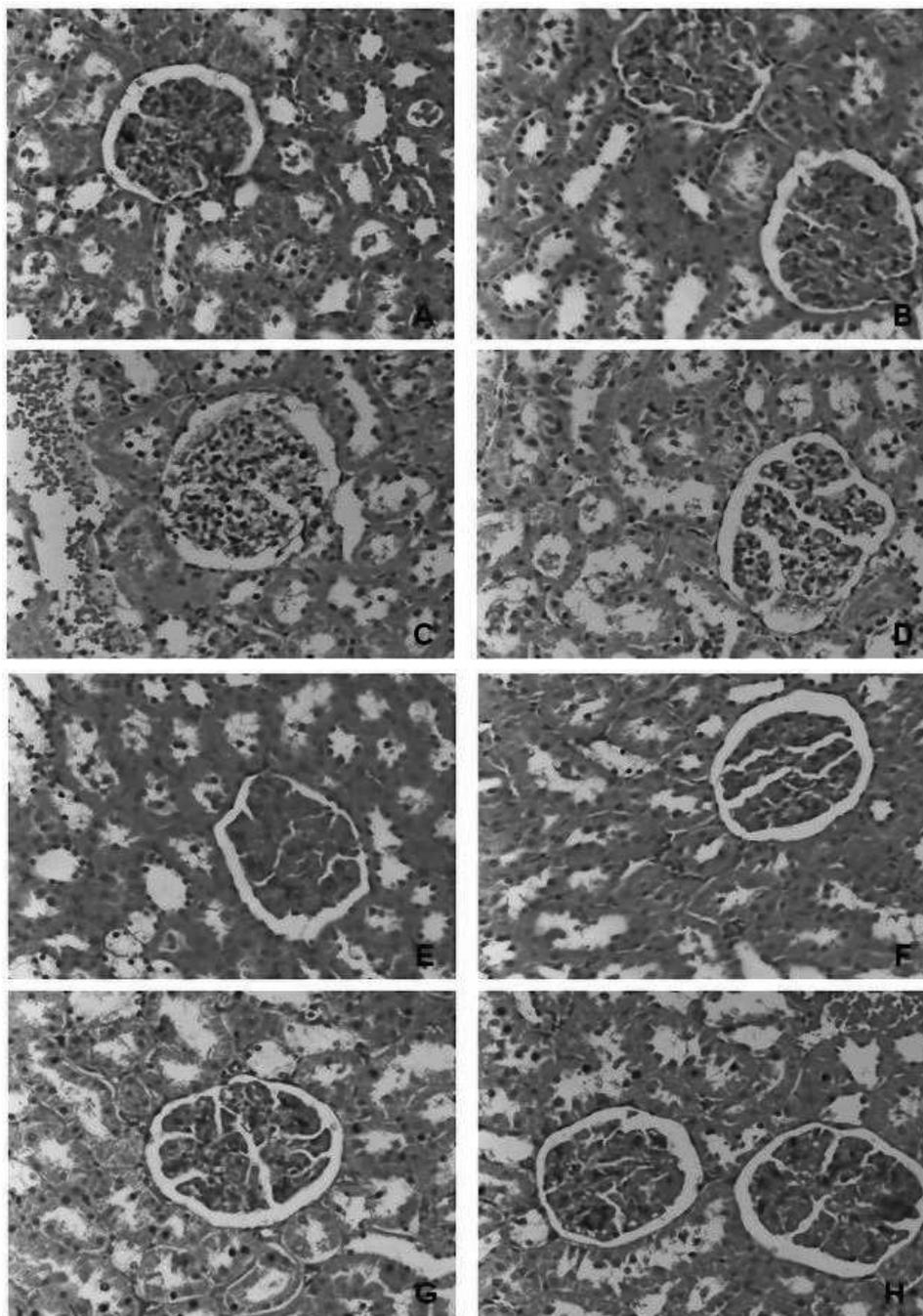


Figura 13 - Cortes histológicos de rim dos grupos experimentais.

Micrografias de rim ao final do período de 28 dias de tratamento. Micrografias de (A) controle tween - CT; (B) controle *Baccharis* - CB; (C) controle diabéticos - CDT; (D) diabéticos sulfoniluréia - DS; (E) diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; (F) diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; (G) diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e (H) diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Microscopia óptica, aumento 400X.

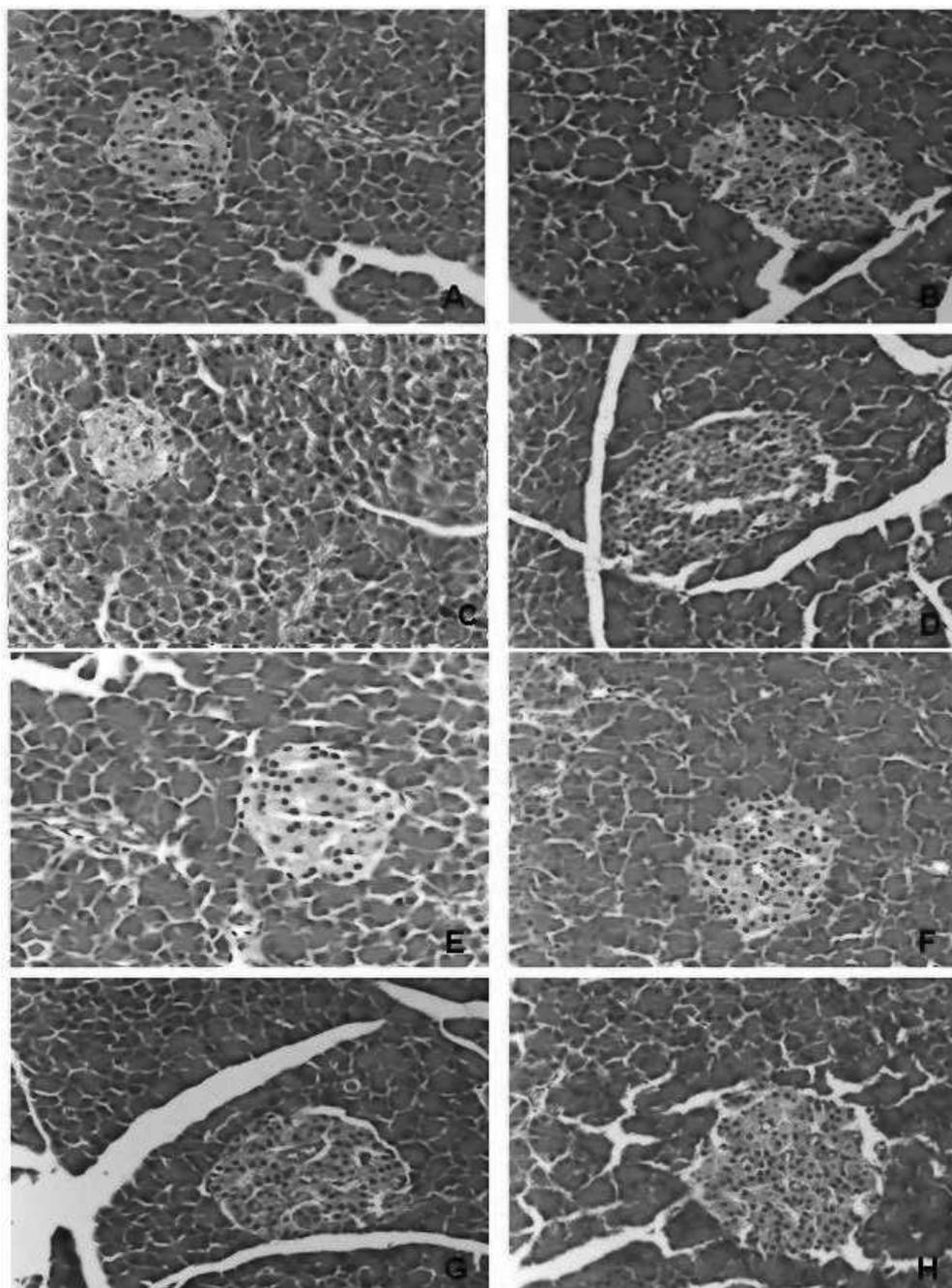


Figura 14 - Cortes histológicos de pâncreas dos grupos experimentais.

Micrografias de pâncreas ao final do período de 28 dias de tratamento. Micrografias de (A) controle tween - CT; (B) controle *Baccharis* - CB; (C) controle diabéticos - CDT; (D) diabéticos sulfoniluréia - DS; (E) diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; (F) diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; (G) diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e (H) diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Microscopia óptica, aumento 400X.

As Figuras 15, 16 e 17 apresentam os achados referentes ao peso dos órgãos fígado, pâncreas e rim ao final do experimento.

Em relação a avaliação macroscópica, os animais do grupo CDT mostraram uma elevação do volume e peso do fígado em 13,8% (14,60 g; $p < 0.05$), do rim em 9,6% (1,68 g; $p < 0.05$) e do pâncreas em 34,8% (0,57 g; $p < 0.05$), na comparação média com os grupos CB, DB50 e DB100 que apresentaram valores em gramas para o fígado (12,80 g; 12,90 g e 12,80 g), rim (1,50 g; 1,57 g e 1,53 g) e pâncreas (0,40 g; 0,44 g e 0,43 g) respectivamente. Foram constatados, também, palidez nesses tecidos (CDT) na comparação com grupos diabéticos plantas (DB50, DB100, DB200) e, particularmente, com os controles não diabéticos (CT e CB).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre CDT apenas com os grupos diabéticos sulfoniluréia (DS e DB200S) para o tecido hepático e com os grupos DS e DB200 para o tecido renal. No pâncreas foi constatado um maior volume pancreático do grupo CDT (26,7%; $p < 0.05$), quando comparado a todos os outros grupos avaliados (diabéticos e não diabéticos).

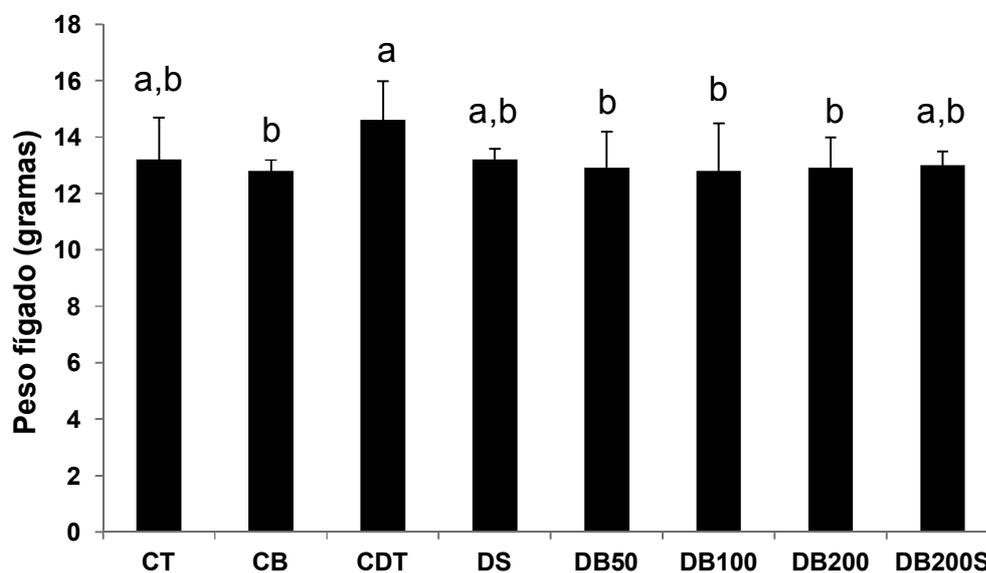


Figura 15 - Peso do fígado dos animais ao final do experimento (28 dias).

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

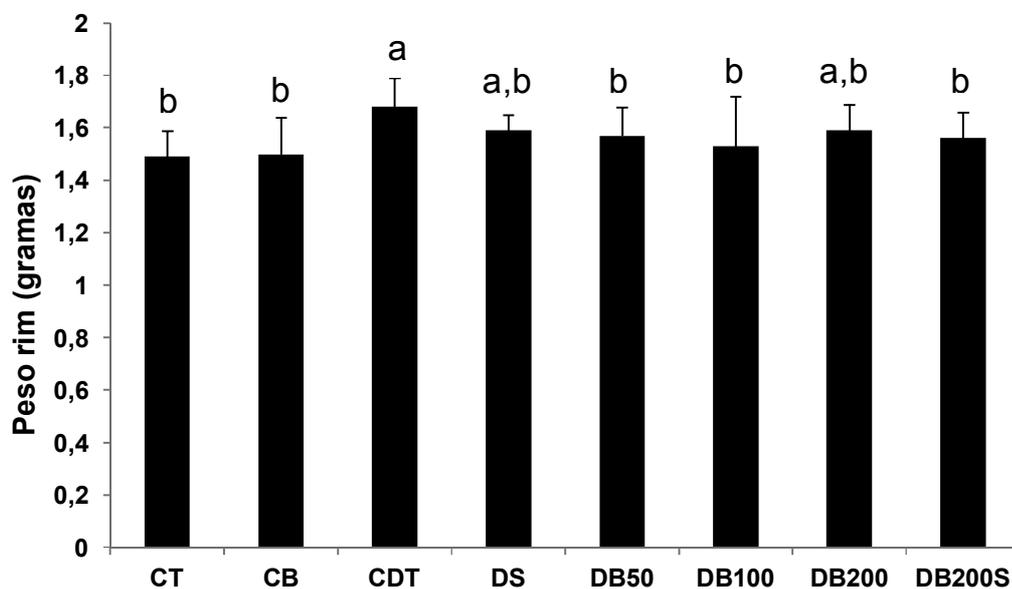


Figura 16 - Peso do rim dos animais ao final do experimento (28 dias).

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

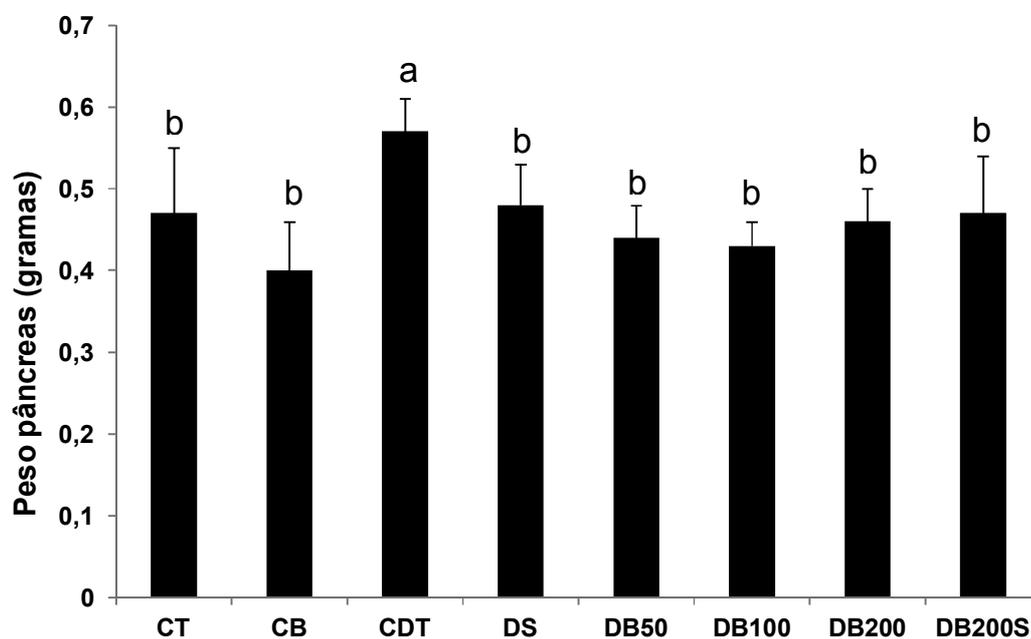


Figura 17 - Peso do pâncreas dos animais ao final do experimento (28 dias).

Controle tween - CT; controle *Baccharis* - CB; controle diabéticos - CDT; diabéticos sulfoniluréia - DS; diabéticos *Baccharis* 50 mg - DB50; diabéticos *Baccharis* 100 mg - DB100; diabéticos *Baccharis* 200 mg - DB200 e diabéticos *Baccharis* 200 mg + sulfoniluréia - DB200S. Dados representam a média \pm DP (n=56). (a,b) letras diferentes são estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0.05$; Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

7 DISCUSSÃO

7.1 EVOLUÇÃO PONDERAL, CONSUMO ALIMENTAR E INGESTÃO HÍDRICA

Os animais foram acompanhados semanalmente quanto a sua evolução ponderal, consumo alimentar de ração e ingestão hídrica, na comparação entre os animais não diabéticos (CT e CB), diabéticos tratados com planta (DB50, DB100 e DB200) e/ou hipoglicemiante (DS e DB200S) e diabéticos placebo (CDT).

Na avaliação semanal da evolução ponderal (Figura 6), os grupos diabéticos, de uma forma geral, mostraram peso corpóreo inferior quando comparados ao controles não diabéticos (CT e CB), contudo, a partir do 14º dia até ao fim do experimento o grupo diabético tween (CDT) demonstrou um menor peso dos animais quando comparado ao demais grupos diabéticos avaliados, com diferença estatística para os grupos DS, DB50 e DB100.

No consumo alimentar, foram visualizados (Figura 7) dados de consumo de ração com valores próximos entre todos os grupos, especialmente ao longo das duas primeiras semanas avaliadas. Em linhas gerais, pode-se perceber que os controles não diabéticos mostraram menor consumo de ração em gramas na comparação com os outros grupos, onde os animais diabéticos não tratados apresentaram um consumo alimentar ligeiramente superior na média e os demais grupos tratados com o extrato de *B. dracunculifolia* obtiveram dados intermediários com diversas oscilações durante as etapas de avaliação realizadas.

Pela avaliação da ingestão hídrica dos animais, notou-se (Figura 8) ao longo das 4 semanas analisadas, uma maior ingestão do grupo diabético não tratado (CDT), essencialmente a partir da 2ª avaliação (semana b2) até a finalização do estudo, com valores estatisticamente inferiores de consumo de água para os grupos tratados, com ênfase para os grupos que receberam as menores doses de administração do extrato (DB50 e DB100).

De maneira geral, os dados supracitados, corroboram com outros estudos que utilizaram o mesmo modelo experimental, quanto a evolução de peso corpóreo, consumo alimentar de ração e ingestão hídrica de ratos diabéticos e não diabéticos, na associação com a agressividade e características observadas no diabetes induzido nesse experimento (TAKADA et al., 2007; SOUZA et al., 2009; SALES et al., 2010; GANDHI et al., 2012, LOBATO, 2014; PEREIRA, 2014).

Salienta-se que na presente pesquisa, foram observadas melhorias ao longo do período subcrônico, nos 3 parâmetros de desenvolvimento animal avaliados, sobretudo quanto à evolução de peso corpóreo e de ingestão hídrica na comparação dos animais que receberam o extrato da planta nas suas diferentes doses com o grupo de animais diabéticos *tween* (CDT).

7.2 GLICEMIA CAPILAR E TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE (TOTG)

A glicemia capilar em jejum foi verificada durante 4 momentos (início, dia 07, 14 e 21) ao longo do experimento, onde foi observado pelo tratamento com o extrato da planta *B. dracunculifolia* uma redução dos níveis de glicose capilar ao jejum dos grupos tratados, especialmente a partir da 2ª verificação (7ª dia) até o fim do acompanhamento (21ª dia), principalmente no que tange a comparação das doses inferiores do extrato (50 e 100 mg), na relação com os animais diabéticos não tratados.

No que se refere ao teste oral de tolerância a glicose (TOTG), todos os grupos tratados com *B. dracunculifolia* em suas diferentes doses e associações apresentaram níveis de glicemia capilar estatisticamente diferentes dos demais grupos, mostrando valores de glicose capilar entre os grupos não diabéticos (CT e CB) e o grupo controle diabético (CDT), e também valores inferiores aos animais que receberam, de forma exclusiva, o hipoglicemiante sulfoniluréia.

Dessa forma, sugere-se que a atividade antiinflamatória e antioxidante presente no extrato da planta *B. dracunculifolia*, pode ter levado a redução da glicemia capilar tanto em jejum ao longo dos 21 dias, como também na avaliação pelo TOTG (0, 30, 60 e 120 minutos), especialmente aos grupos tratados (DB50, DB100 e DB200), inclusive com resultados de glicose capilar similar ou mesmo inferior na comparação com o grupo que recebeu exclusivamente a sulfoniluréia (DS) e estatisticamente inferior ao grupo diabético não tratado (CDT) em ambas as avaliações.

Essas atividades bioativas e potencialmente hipoglicemiantes presentes nas plantas do gênero *Baccharis* e, por consequência, em *Baccharis dracunculifolia*, são advindas da sua composição química, essencialmente pela presença de compostos fenólicos, como os ácidos fenólicos e flavonóides cumarinas, que seriam importantes adjuvantes para a redução da glicemia e demais proteções aos danos

causados pela agressividade do modelo de diabetes induzido (MENEZES, 2005; ABAD; BERMEJO, 2007; LEMOS, 2007; TAKADA et al., 2007; ANSARULLAH et al., 2011).

7.3 DADOS BIOQUÍMICOS E HORMONAIS

O modelo de indução de diabetes por meio da STZ, gera inúmeros comprometimentos nas funções renais, hepáticas e pancreáticas, devido a agressividade do diabetes instalado, levando a alterações severas em parâmetros bioquímicos e componentes morfológicos e funcionais desses órgãos (ZAFAR et al., 2009; PEREIRA, 2014).

Esses efeitos corroboram com o observado no presente trabalho, onde evidenciou-se níveis elevados ($p < 0.05$) para as análises de creatinina, uréia e enzimas hepáticas (AST e ALT) no grupo diabético (CDT) não tratado com o extrato de *B. dracunculifolia*. Os grupos tratados exclusivamente com a planta nas concentrações inferiores (DB50 e DB100), apresentaram redução de creatinina ($p < 0.05$) e uréia ($p < 0.05$). Houve também uma melhora da função morfológica e estrutural no tecido renal constatado pela avaliação qualitativa, na comparação com o grupo CDT. Em relação às enzimas hepáticas (AST e ALT), apesar de não se verificar diferença estatística, para os resultados de comparação entre diabéticos tratados e não tratado, observou-se (Tabela 5), uma redução nos níveis de enzimas hepáticas dos grupos tratados em suas diversas doses e associações, quando comparados ao *grupo diabético tween*.

Os dados sugerem, uma minimização dos danos teciduais e maior preservação do funcionamento hepático e renal nos animais diabéticos tratados com extrato da planta, sobretudo nos grupos DB50 e DB100, associando os efeitos positivos do uso subcrônico do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* frente a esses parâmetros avaliados (RESENDE et al., 2012; REZENDE et al., 2014).

Na medicina tradicional e na etnofarmacologia, várias plantas são amplamente estudadas e utilizadas para comprometimentos em tecidos hepáticos, renais e pancreáticos, com comprovação científica consolidada. Exemplos são a *Vernonia polyanthes*, *Allium cepa*, *Bredemeyera floribunda*, *Allium sativum*, *Eugenia uniflora*, *Phalaris canariensis*, *Phyllanthus niruri* e *Polymnia sonchifolia* e outras inúmeras plantas do gênero *Baccharis* como *Baccharis megapotamica*,

Baccharis incarum, *Baccharis trimera*, *Baccharis trinervis*, *Baccharis salicifolia*, *Baccharis crispa*, *Baccharis coridifolia*, *Baccharis grisebachii*, *Baccharis tricuneata* e *Baccharis dracunculifolia* (VERDI et al., 2005; LEITE, 2009; PINHEIRO et al., 2011).

Verificou-se (Tabela 5) níveis aumentados de triglicerídeos ($p < 0.05$) para o grupo CDT, na comparação com os demais grupos, com destaque, novamente, aos animais que receberam o extrato da planta em doses inferiores (DB50 e DB100). Vale salientar, que os grupos diabéticos tratados com a planta ainda mostraram valores de triglicerídeos próximos aos níveis observados nos grupos não diabéticos (CT e CB).

Assim, o aumento nos níveis de triglicerídeos, associado à elevação de enzimas hepáticas e do colesterol total são comumente visualizadas em animais com diabetes, essas alterações sugerem forte indicativo de disfunção hepática, com implicações graves no que se refere a esteatose e necrose celular nesse órgão (GHOSH;SURYAWANSHI,2001; TRIPATHI;SRIVASTAVA, 2006; REZENDE et. al, 2014). Entretanto, este efeito não foi observado nessa pesquisa (Tabela 5) para o colesterol total, bem como suas frações avaliadas (HDL e LDL), ao contrário do que foi observado para o triglicerídeos nessa mesma avaliação comparativa, principalmente para o animais tratados com doses de 50 mg e 100mg de extrato da planta.

Diversos estudos sugerem que o efeito antioxidante presente em algumas plantas, como na *Baccharis dracunculifolia*, pode estar intimamente relacionado com a redução nos parâmetros de lipídios sanguíneos. Tais efeitos poderiam estar relacionado com a otimização da hidrólise de alguns tipos de lipoproteínas, sendo justificado essencialmente pela grande presença de flavonóides que atuariam modulando o trabalho de algumas enzimas, como por exemplo a lecitina colesterol aciltransferase (DA SILVA, 2001; LEMOS, 2007; WANI, 2011; KIM, 2012; RESENDE et al., 2012).

Outros estudos em modelo animal e humano sugerem que a atividade antioxidante presente na composição do extrato de *B. dracunculifolia*, também está relacionada com uma redução de glicemia plasmática em jejum ou melhores níveis de absorção da glicose pós-prandial. Os compostos fenólicos, com destaque para a artelipina C presente em *Baccharis dracunculifolia*, podem levar ao aumento da captação de glicose, em decorrência da elevação de expressão gênica e proteica de GLUT-1 e GLUT-4, propiciando um melhor controle glicêmico e conseqüentemente

menores riscos e danos associados com as desordens metabólicas visualizadas no diabetes e suas morbidades (ANSARULLAH et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; REZENDE et al., 2014).

Efeitos similares, foram evidenciados nesse trabalho no que se refere a análise de glicose plasmática em jejum, onde verificou-se (Tabela 5) uma redução dos níveis de glicose em jejum ($p < 0.01$) dos animais tratados com o extrato de *B. dracunculifolia* nos grupos DB50 e DB100, na comparação com o grupo CDT. Mais uma vez, as doses inferiores (50 mg e 100 mg / kg peso corpóreo) apresentaram um efeito importante para a melhoria em níveis bioquímicos nos animais, igualmente ao verificado para os parâmetros bioquímicos creatinina, uréia e triglicerídeos.

A atividade antioxidante constatada no extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia*, também mostra-se efetiva para a amplificação de secreção insulínica em animais obesos e diabéticos (HOCAYEN, 2012; PEREIRA, 2014). Similarmente aos resultados de insulina plasmática constatados no presente trabalho (Figura 11), onde todos os grupos diabéticos tratados com *B. dracunculifolia*, tiveram níveis aumentados para a liberação insulínica nos grupos tratados com as três doses administradas de extrato puro (DB50, DB100 e DB 200). Destaca-se que a partir da dose de 50 mg/ kg de peso corpóreo (DB50), já houve uma excelente resposta na amplificação da secreção de insulina na comparação ao grupo diabético *tween* (CDT) e, por consequência, também verificou-se níveis de insulina próximos ao grupo não diabético *tween* (CT).

Resultados que concordam com outros trabalhos, que já verificaram uma elevação da secreção insulínica em modelos animais de diabetes e obesidade, através do tratamento com diferentes tipos de formulações a base de plantas medicinais de forma exclusiva ou associada a outros compostos farmacológicos (DORNAS et al., 2009; WU et al., 2013, HOCAYEN et. al, 2015).

A presença de diversos componentes antioxidantes no extrato da planta, como flavonóides e compostos fenólicos, com destaque para a artelipina C, podem ter propiciado, por meio de mecanismos ainda não totalmente elucidados, uma amplificação da secreção insulínica e uma maior proteção a danos teciduais nos animais diabéticos tratados com extrato nas diferentes doses administradas, mostrando haver similaridade na ação secretagoga, mesmo em doses inferiores (50 e 100mg / kg peso corpóreo) relatados em outros estudos com o mesmo protocolo

experimental (ALENCAR et al., 2005; SIMÕES-PIRES et al, 2005; RESENDE et al., 2012; REZENDE et al., 2014).

Hocayen (2012), avaliando um tratamento crônico em doses diárias de 400 mg / kg peso corpóreo do extrato metanólico *B. dracunculifolia* em um modelo animal de obesidade induzida por glutamato monossódico, demonstrou em ilhotas de pâncreas isoladas uma indução de até 100% na liberação de insulina nesses animais obesos. De forma similar, Pereira (2014), também desenvolveu um estudo com protocolo experimental análogo ao realizado nesse trabalho, administrando o extrato de *Baccharis dracunculifolia* por 28 dias em doses de 400 mg / kg peso corpóreo em um modelo de diabetes induzido por STZ. Foi verificado nesse trabalho, diferença estatística na liberação de insulina entre os animais diabéticos, onde os animais tratados com a dose de 400 mg / kg peso corpóreo da planta, obtiveram concentrações superiores, quando comparados ao grupo diabético salina, sugerindo uma melhoria na liberação insulínica em decorrência das substâncias antioxidantes presente na planta avaliada.

Os estudos de Hocayen (2012) e Pereira (2014), mostraram dados relacionados à amplificação de secreção insulínica por intermédio do tratamento com *B. dracunculifolia*, e sua provável ação na redução do estresse oxidativo oriundo da patologia induzida. Esses resultados corroboram com a presente pesquisa, especialmente no que se refere a maximização de liberação insulínica e níveis satisfatórios dos parâmetros bioquímicos, observados nos grupos tratados com o extrato da planta e, por consequência, uma aparente diminuição do estresse oxidativo nesses animais. Destaca-se que esses efeitos foram verificados em doses muito inferiores de aplicação do mesmo extrato (*B. dracunculifolia*), com concentrações de 04 e 08 vezes inferiores (50 mg e 100 mg / kg peso corpóreo) as doses mencionadas (400 mg / kg peso corpóreo) nos trabalhos supracitados.

7.4 HISTOLOGIA

Na avaliação qualitativa histológica foram verificados contrastes em relação às estruturas morfológicas nos tecidos hepáticos, renais e pancreáticos, particularmente, nos animais diabéticos tween e diabéticos tratados com as diversas doses e associações do extrato da planta e da sulfoniluréia. No grupo diabético

tween (CDT) foram detectados danos e alterações histológicas, que já eram esperados devido à indução do diabetes pelo modelo de STZ.

Em relação a avaliação do tecido hepático (Figura 12), pode-se notar que os animais dos grupos CT e CB, apresentavam hepatócitos organizados em fileiras, delimitadas por tecido conjuntivo, que continham capilares sinusóides. Estes apresentam morfologia típica, citoplasma abundante, de aspecto homogêneo e núcleo em posição central no citoplasma. Já para o grupo CDT, observou-se alterações morfológicas brandas no citoplasma dos animais diabéticos, como aspecto vacuolar, devido à presença de gotículas de lipídio e deslocamento do núcleo para a periferia da célula. Em contrapartida, todos os tratamentos, em especial os grupos que receberam o extrato da planta *B. dracunculifolia* (DB50, DB100, DB200 e DB200S) foram eficazes em reverter o acúmulo de gordura, apresentando características histológicas semelhantes aos animais CT e CB (MONTENEGRO; FRANCO, 2004; ROBBINS et al., 2005).

No tecido renal (Figura 13) foram verificadas algumas alterações relacionadas com o diabetes induzido. Observou-se um desarranjo global na organização do tecido renal avaliado (grupo CDT), com conseqüente acúmulo hídrico intracelular, deslocamento nuclear e elevação da relação núcleo/ citoplasma. Ainda, foi verificada alterações nos aspectos glomerulares com a presença de algumas lesões tubulares e, também, no interstício celular (ROBBINS et al., 2005; BOGLIOLO; BRASILEIRO FILHO, 2006).

Quanto ao tecido pancreático (Figura 14), pôde-se constatar cortes histológicos de pâncreas, composto por células glandulares exócrinas e endócrinas. As células da ilhota se coram menos intensamente pela técnica de Hematoxilina e Eosina quando comparadas as células acinosas. As ilhotas são formadas por células arredondadas, organizadas em cordões cercados por capilares sanguíneos responsáveis por transportar seus hormônios. Envolvendo a ilhota e separando-a da porção exócrina restante há uma fina camada de tecido conjuntivo. A porção exócrina possui ductos de diferentes calibres e porções secretoras com formas arredondadas (ROBBINS et al., 2005). No que se refere aos achados histológicos do presente estudo, pode-se verificar uma estrutura organizacional celular global bastante comprometida, apresentando redução do tamanho e número das ilhotas de Langerhans com aparente fibrose em ilhotas remanescente e, por conseqüência, uma penetração de leucócitos nas região das células acinares, especialmente pela

comparação dos animais diabéticos não tratados (CDT) com os demais grupos que receberam o extrato da planta em suas diferentes doses e/ou associações (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000; ROBBINS et al., 2005)

Contudo, os componentes histológicos avaliados (fígado, rim e pâncreas) dos grupos de animais não diabéticos (CT e CB) mostraram, de maneira geral, normalidades nas morfologias teciduais nos órgãos analisados.

Os resultados da avaliação histológica evidenciadas na presente pesquisa, concordam com Rezende et al. (2014), que avaliando camundongos tratados com extrato das folhas de *Baccharis dracunculifolia*, em doses de 50 e 100 mg/ kg de peso corpóreo, constatou-se que o extrato de folhas utilizado apresenta propriedades hepatoprotetoras *in vivo*, propiciando características histológicas próximas a normalidade nos animais tratados, com efeitos compatíveis a silimarina, um fármaco hepatoprotetor consolidado.

Pelas avaliações histológicas qualitativas (Figuras 12, 13 e 14) e de volume em gramas (Figuras 15, 16 e 17) dos órgãos analisados, percebeu-se que todos os tratamentos com extrato da planta foram efetivos em minimizar os danos e alterações oriundos da evolução do diabetes induzido por STZ na comparação com o grupo diabético *tween*, em especial as doses com concentrações inferiores do extrato de *B. dracunculifolia* (DB50 e DB100). Dessa forma, esses achados histológicos verificados corroboram com os demais parâmetros avaliados nesse trabalho, sobretudo no que diz respeito aos efeitos positivos do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* sobre os parâmetros histológicos analisados.

7.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho relacionou um modelo experimental de indução de diabetes por STZ em ratos *wistar*, frente a um tratamento com extrato metanólico da planta regional Alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) em diferentes doses e associações. Esse experimento teve o intuito de verificar o impacto desse extrato sobre os marcadores bioquímicos, hormonais e histológicos e demais alterações no desenvolvimento e comportamento animal ao longo de um período subcrônico de acompanhamento.

No modelo de indução de diabetes utilizado (modelo químico - STZ), foram observados uma série de modificações metabólicas e estruturais, que geram

inúmeros comprometimentos ao desenvolvimento animal, com prováveis alterações nos marcadores bioquímicos glicêmicos e lipídicos e por consequência agravos nos parâmetros relacionados aos tecidos renal, hepático e pancreático (MISHRA et al 2011; PATTABIRAMAN; MUTHUKUMARAN, 2011; MISHRA et al. 2012; VERMA et al., 2012).

No período subcrônico desenvolvido, ao longo de 28 dias, foi possível constatar as diversas modificações bioquímicas, hormonais, histológicas e de desenvolvimento e sua compatibilidade com o esperado para o diabetes experimental induzido nos animais, ao qual implicou em uma série de alterações metabólicas e fisiológicas caracterizando a patologia induzida por meio da STZ que foram indispensáveis para a efetivação desse estudo.

Em linhas gerais, os achados apresentados nesse trabalho corroboram com as avaliações de outros estudos preliminares (HOCAYEN, 2012; PEREIRA, 2014; HOCAYEN et. al; 2015), especialmente no que tange à melhoria dos marcadores bioquímicos, hormonais e histológicos dos animais nos grupos tratados com o extrato da planta *B. dracunculifolia*, mesmo em suas doses inferiores quando comparados com os animais diabéticos sem o tratamento.

Diante do contexto apresentado nesse estudo, sugere-se maior viabilidade e aplicabilidade desse extrato em doses menores (50 mg e 100 mg) ou mesmo pelo isolamento de substâncias bioativas presentes no *B. dracunculifolia* para estudos posteriores, com a possibilidade de formulação futura de um medicamento ou produto natural de baixo custo e de fácil acesso à população, visando assim uma diminuição dos danos causados pelo diabetes, bem como os gastos governamentais com tratamentos e procedimentos, legitimando, dessa forma, por meio de uma proposta interdisciplinar, a utilização empírica de uma planta medicinal regional, cotidianamente utilizada em nossas comunidades por diversas gerações para o enfrentamento de um grave problema de saúde pública que acomete os mais diversos contextos comunitários.

8 CONCLUSÃO

A partir da avaliação dos resultados obtidos por meio deste trabalho, pode-se concluir que:

- i. O extrato metanólico da planta *Baccharis dracunculifolia* promove redução dos níveis de glicose capilar ao jejum e pós-prandial em animais induzidos a diabetes por STZ nas diferentes doses administradas, inclusive nas doses inferiores de 50 mg e 100mg;
- ii. Houve diminuição de valores de glicose plasmática, triglicerídeos, creatinina e uréia em ratos STZ induzidos e tratados com o extrato da planta, especialmente nas concentrações inferiores (50 mg e 100 mg);
- iii. Nas diferentes doses administradas o extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* apresenta aparente proteção de danos em órgãos (fígado, rins e pâncreas) de animais diabéticos induzidos, por meio da análise qualitativa histológica;
- iv. Os ratos tratados com a planta apresentam concentrações superiores de liberação insulínica em todas as doses administradas do extrato (50, 100 e 200 mg).

A pesquisa apresenta dados que permitem almejar uma melhor viabilidade e aplicabilidade do extrato da planta *Baccharis dracunculifolia* a nível populacional para futuras formulações de fármacos ou de produtos naturais. Destaca-se que as doses inferiores (50 mg e 100 mg/kg de peso corpóreo) de tratamento tem efeitos positivos similares às concentrações superiores administradas frente ao danos causados pelo modelo de indução do diabetes em animais utilizados nesse experimento.

Esse trabalho possibilitou ainda, a aplicação e correlação de diversos conhecimentos científicos de forma interdisciplinar com o intuito da legitimação do senso comum por meio da utilização de uma planta medicinal, muito comum no uso comunitário regional em prol do enfrentamento de uma patologia presente em todos os contextos populacionais.

9 REFERÊNCIAS

ABAD, M.J.; BERMEJO, P. *Baccharis* (Compositae): a review update. **Arkivoc**, v. 7, n. 1, p. 76-96, 2007.

ALBUQUERQUE, U.P. Etnobotânica: uma aproximação teórica e epistemológica. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 78, n. 3, p. 60-64, 1997.

ALBURQUEQUE, U.P.; ANDRADE, L.H.C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de Caatinga no Estado do Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 273-285, 2002.

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**, v. 35, n.4, p. 909-915, 2005.

ALVES, N.M. **Estudo farmacognóstico e da toxicidade experimental (aguda e subaguda) do Guatambu (*Aspidosprema subincanum* Mart)**. Brasília: UNB, 2007. 98 f. Dissertação (Ciências da Saúde) - Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, 2007.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION – ADA. Diagnosis and classification of Diabetes *Mellitus*. **Diabetes Care**, v. 33, s. 1, p. S62-S69, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION – ADA. Physical Activity/Exercise and Diabetes *Mellitus*. **Diabetes Care**, v.29, s.1, p. 1433-38, 2006.

ANSARULLAH, A.; BHARUCHA, B; DWIVED, M; LADDHA, N.C.; BEGUM, R.; HARDIKAR, A.A.; RAMACHANDRAN, A. Antioxidant rich flavonoids from *Oreocnide integrifolia* enhance glucose uptake and insulin secretion and protects pancreatic b-cell from streptozotocin insult. **Complementary and Alternative Medicine**. v. 11, n. 126, p. 1-13, 2011.

BOGALHO, P. Diabetes tipo 2, prevalência, diagnóstico e abordagem. **Sociedade de endocrinologia Diabetes e Metabolismo**. 1ª ed. Lisboa, 2010.

BOGLIOLO, L.; BRASILEIRO FILHO, G. **Patologia**. 7ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

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).

BUSSMANN R.W. **Ethnobotany and Biodiversity and Conservation**. Disponível em: <www.olorien.org/rbusmann/academicCV.php>. Acesso em: 09 abr. 2014.

CHITRE, M.M.; BURKE, S. Treatment algorithms and the pharmacological management of type 2. **Diabetes spectrum**, v. 19, n. 4, p. 249-255, 2006.

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

DA SILVA, R. R.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. **ALAN**. v.51, n.3, p. 258-264, 2001.

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**, v. 19, n. 2, p. 488-500, 2009.

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

FABRI, R.L.; NOGUEIRA, M.S.; DUTRA, L.B.; BOUZADA, M.L.M.; SCIO, E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família *Asteraceae*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5 ed. Parte I Brasília: ANVISA, 2010.

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

FRANCO, L.J.; LESSA, I.; HAGE, E.C. **O adulto brasileiro e as doenças da modernidade: epidemiologia das doenças crônicas não-transmissíveis**. Rio de Janeiro: Hucitec, 1998.

FUKUDA, M.; OHKOSHI, E.; MAKINO, M.; FUGIMOTO, Y. Studies on the constituents of the leaves of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) and their cytotoxic activity. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, n. 10, p. 1465-1468, 2006.

GALBO, H.; TOBIN, L; VAN LOON, L.J. Responses to acute exercise in type 2 diabetes, with an emphasis on metabolism and interaction with oral hypoglycemic agents and food intake. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 32, n. 3, p. 567-575, 2007.

GALLAGHER, E.J.; LEROITH, D; KARNIELI, E. The Metabolic Syndrome from Insulin Resistance to Obesity and Diabetes. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v.37, n. 3, p.559-579, 2008.

GANDHI, G.R.; IGNACIMUTHU, S.; PAULRAJ, M.G. Hypoglycemic and b-cells regenerative effects of *Aegle marmelos* (L.) Corr. barkextract instreptozotocin-induced diabetic rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n.4, p. 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**, v. 39, n.8, p.748-759, 2001.

HEYWOOD, V. H.; BRUMMIT, R. K.; CULHAM, A.; SEBERG, O. Flowering plant families of the world. **Curtis's Botanical Magazine**, v.24, n.1, p.198-200, 2007.

HOCAYEN, P.A.S. **Efeito da Administração Oral do Extrato de *Baccharis dracunculifolia* na obesidade induzida por Glutamato Monossódico (MSG).** Ponta Grossa: UEPG - UNICENTRO, 2012. f. 108. Dissertação Mestrado - Universidade Estadual de Ponta Grossa Programa de pós graduação em Biologia Evolutiva Associação ampla UEPG - UNICENTRO, Ponta Grossa, 2012.

HOCAYEN, P.A.S.; GRASSIOLLI, S.; LEITE, N.C.; POCHAPSKI, M.T.; PEREIRA, R.A.; SILVA, L.A.; SNAK, A.L.; MICHEL, R.G.; KAGIMURA, F. Y.; CUNHA, M.A.A.; MALFATTI, C.R.M. Methanol extract of *Baccharis dracunculifolia* enhances glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic islets of monosodium glutamate induced-obesity model rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 1, n. 7, p. 1-8, 2015.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION – IDF. Disponível em: <<http://www.idf.org/>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

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**, v. 9, n. 6, p. 515-540, 1990.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução a taxonomia vegetal.** 13. ed. São Paulo: Cia Editora Nacional, 2002.

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

KIM, M.J.; KIM, H.K. Insulinotrophic and hypolipidemic effects of *Ecklonia cava* in streptozotocin–induced diabetic mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, n. 5, p. 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**, v. 27, n. 4, p. 407–413, 2012.

LEITÃO, D.P.; DA SILVA FILHO, A.A.; POLIZELLO, A.C.M.; BASTOS, J.K.; SPADORO, A.C.C. Comparative evaluation of in-vitro effects of Brazilian green própolis and *Baccharis dracunculifolia* extracts on cariogenic factors of *Streptococcus mutans*. **Biology Pharmaceutical Bulletin.**, v. 27, n. 11, p. 1834-1839, 2004.

LEITE, M.F. **Desenvolvimento e caracterização de microemulsões contendo extrato e óleo essencial de *B.dracunculifolia* para enxguatório bucal.** São Paulo: USP, 2009. 166 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 2009.

LEMO, M.; BARROS, M. P.; SOUSA, J.P.B.; DA SILVA FILHO, A.A.; BASTOS, J.K.; DE ANDRADE, S.F. *Baccharis dracunculifolia*, the main botanical source of Brazilian green própolis, displays antiulcer activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, n. 4, p. 603-608, 2007.

LIMA, G.R. **Proposta de resolução específica para manipulação de plantas medicinais e fitoterápicos.** Brasília: UNB, 2006. 40 f. Monografia (Pós Graduação em Ciências da Saúde) - Programas de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, UNB, Brasília, 2006.

LOBATO, R.V. **Efeitos metabólicos da ingestão de beta-glucanos em ratos com diabetes *mellitus* tipo 1 induzidos por estreptozotocina.** Lavras: UFLA, 2014. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, 2014.

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

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. São Paulo: Nova Odessa, 2002.

MARLES, R.J.; FARNSWORTH, N.R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Review Phytomedicine**, v. 2, n. 2, p. 137-189, 1995.

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

MARTINS, P.M. **Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim-limão P. (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf)**. Viçosa: UFV, 2000. 77 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, 2000.

MARTINS, J.; ROBATTO, L.; MANUEL JÚNIOR.; BENEVIDES, R.; NAPOLI, S. Análise Temporal Da Mortalidade por Diabetes *Mellitus* Nas Cinco Regiões Brasileiras. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 1, p. 32-36, 2008.

MENEZES, H. Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato aquoso de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 1, p. 33-33, 2005.

MISHRA, S.B.; VERMA, A.; MUKERJEE, A.; VIJAYAKUMAR, M. Antihyperglycemic activity of leaves extract of *Hyptis suaveolens* L. *Poit* in streptozotocin induced diabetic rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 9, p. 689-693, 2011.

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**, v. 2, n. 3, p. 1647-1652, 2012.

MISSIMA, F.; DA SILVA FILHO, A.A.; NUNES, G.A.; BUENO, P.C.P.; SOUSA, J.P.B.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J.M. Effect of *Baccharis dracunculifolia* D.C.

(Asteraceae) extracts and its isolated compounds on macrophage activation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.59, n.3, p.463-468, 2007.

MONTENEGRO, M.R. (ed.); FRANCO, M. (ed.). **Patologia: Processos Gerais**. 4.ed São Paulo: Atheneu, 2004.

MONTI, P.; HENINGER, A.K.; BONIFACIO, E. Differentiation, expansion, and homeostasis of autoreactive T cells in type 1 diabetes *mellitus*". **Current Diabetes Reports**, v. 9, n. 2, p. 113–118, 2009

MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. **Medicinal plants of Brazil**. Michigan: Inc. Algonac, 2000.

MURUSSI, M.; COESTER, A.; GROSS, J.L.; & SILVEIRO, S.P. Nefropatia Diabética no Diabete Melito Tipo 2: Fatores de Risco e Prevenção. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, v.47, n.3, p. 207-219, 2003.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 2, p. 121-142, 2005.

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

OLIVEIRA, R.F.O.F. **Diabetes Dia-a-Dia: guia para o diabético, seus familiares, amigos e membros das equipes de saúde**. 2 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002.

OLIVEIRA, J.E.P.; MILECH, A. **Diabetes Mellitus – Clínica, Diagnóstico e Tratamento multidisciplinar**. São Paulo: Atheneu, 2004.

OLIVEIRA, T.A.; DA SILVA, L.A.; MICHEL, R.G.; SNAK, A.L.; PEREIRA, R. A.; MALFATTI, C.R.M.; OLIVEIRA NETO, S.; WOELLNER, A.P.; PEZOTI, A. R.; DALLASTRA, L.M.; MARTINS, G.A.G. Effect of acute administration of *Bacharris dracunculifolia* on glycemic basal levels in healthy individuals. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n.12, p. 148-151, 2013.

OLIVEIRA, T.A.; MICHEL, R.G. ; SNAK, A.L.; PEREIRA, R.A.; DA SILVA, L.A. ; KAGIMURA, F.Y.; CUNHA, M.A.A.; Malfatti, C.R.M. *Baccharis dracunculifolia* with high levels of phenol compounds reduces blood glucose in healthy human. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 8, n. 24, p. 670-673, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. **Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005.** Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1_spa.pdf>, 2002. Acesso em: 19 abr. 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. **Diabetes.** Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>, 2011>. Acesso em: 14 mar. 2014.

PAULI, J.R. Obesidade e Diabetes: Bases moleculares da etiopatogenia. In: CYNTRA, D.E.; ROPELLE, E.R.; PAULI, J.R. **Obesidade e Diabetes: Fisiopatologia e Sinalização Celular.** Sarvier: São Paulo, 2011.

PATTABIRAMAN K.; MUTHUKUMARAN P. Antidiabetic and antioxidant activity of *Morinda tinctoria* roxb fruits extract in streptozotocin-induced diabetic rats. **Asian Journal Pharmaceutical Technology and Innovation**, v. 1, n. 2, p. 34-39, 2011.

PEREIRA, R.A. **Efeitos do tratamento do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* sobre alterações bioquímicas e histológicas de um modelo animal de diabetes.** Guarapuava: Unicentro, 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Centro – Oeste, Guarapuava, 2014.

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

PINHEIRO, L.S.; MELO, A.D.; CAIRES, L.C.; RESENDE, C.F.; MARANGON, P.B.; COSTA, M.B.; GARCIA, R.M. Determinação do comportamento alimentar e da variação dos níveis glicêmicos em ratos Wistar normais e com diabetes induzido por

Estreptozotocina – resultados preliminares. In: SEMANA DE BIOLOGIA E MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA – UFJF (29º e 12º: 2006: Juiz de Fora). **Anais**. Juiz de Fora: Editora UFJF, 2006, p. 204-207.

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. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.13, n.4, p. 375-381, 2011.

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

RESENDE, F.A.; MUNARI, C.C.; MONTEIRO NETO, M.A.B.; TAVARES, D.C.; BASTOS, J.K.; SILVA FILHO, A.A.; VARANDA, E.A. Comparative studies of the (anti) mutagenicity of *Baccharis dracunculifolia* and artemisinin C by the bacterial reverse mutation test. **Molecules**, v.17, n. 3, p.2335-2350, 2012.

REZENDE, T.P.; CORREA, J.O.A.; AARESTRUP, B.J.V.; AARESTRUP, F.M.; SOUSA, O.V.; SILVA FILHO, A.A. Protective Effects of *Baccharis dracunculifolia* leaves extract against carbon tetrachloride- and acetaminophen induced hepatotoxicity in experimental animals. **Molecules**, v.19, n. 7, p.9257-9272, 2014.

ROBBINS, S.L.; KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Patologia: Bases Patológicas das doenças**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

SALES, A.L.C.C.; TEIXEIRA, J.M.R.; SOARE, L.F.M.; DAMASCENO, D.C.F.; ALMEIDA, I.P.; NUNES, P.H.M.; MARTINS, M.C.C. Dieta enriquecida em fibras e ácidos graxos poli-insaturados: efeitos no controle glicêmico e perfil lipídico de ratos diabéticos. **Ars Veterinaria**, v.26, n.3, 138-146, 2010.

SARTORELLI, D.S. ; FRANCO, J.L. Tendência do diabetes *mellitus* no Brasil: o papel da transição nutricional. **Caderno de Saúde Pública**, v.19, s.1, p. 29-36, 2003.

SATTLEY, M. **The History of Diabetes: Diabetes Health**. Disponível em: <<http://www.diabeteshealth.com/read/2008/12/17/715/the-history-of-diabetes/>>, 2008. Acesso em: 02 mai. 2014.

SCHEFFEL, R.S. et al. Prevalência de complicações micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes melito do tipo 2 em atendimento ambulatorial. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 3, p.263.267,2004.

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**, v. 14, n. 4, p. 353-359, 2011.

SILVA FILHO, A. A.; BUENO, P. C. P.; GREGÓRIO, L. E.; SILVA, M. L. A. D; ALBUQUERQUE, S.; BASTOS, J. K. In vitro trypanocidal activity evaluation of crude extract and isolated compounds from *Baccharis dracunculifolia* D.C. (*Asteraceae*). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 56, n. 9, p. 1195-1199, 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. 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**, v. 16, n. 5, p. 307-314, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES - SBD. **Diagnóstico e tratamento do diabetes *mellitus* e tratamento do diabetes *mellitus* tipo 2: Recomendações da Sociedade Brasileira de Diabetes**. São Paulo: AC Farmacêutica, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES – SBD. **Diabetes**. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/aprendendo/historia/historiaprimeiros.php>>, 2011 . Acesso em: 12 mar. 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES - SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014/Sociedade Brasileira de Diabetes**. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014.

SOUZA, A.; VENDRAMINI, R.C.; BRUNETTI, I.L.; REGASINI, L.O.; BOLZANI, V.S.; SILVA, D.H.S.; PEPATO, M.T. Tratamento crônico com extrato alcoólico de *Pterogyne nitens* não melhora parâmetros clássicos do diabetes experimental. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2, p. 412-417, 2009.

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**, v. 63, n. 1, p. 43-50, 2009.

SZKUDELSKI, T. Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. **Experimental Biology and Medicine**, v. 237, n. 5. p. 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, n. 7, p. 977– 984, 2007.

TRIPATHI, B. K.; SRIVASTAVA, A. K. Diabetes Mellitus: Complications and therapeutics, **Medical Science Monitor**, v. 12, n. 7, p. 130-147, 2006.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I.M.C.; PIZZOLATTI, M.G. Gênero *Baccharis* (*Asteraceae*): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 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. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 9, p. 696-701, 2012.

VOLPATO, G.T.; DAMASCENO, D.C.; CALDERON, I.M.P.; RUDGE, M.V.C. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do diabetes *mellitus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.**, v. 4, n. 2, p.35-45, 2002.

WANI, V. K.; DUBEY, R. D.; SENGOTTUBELU, S.; SIVAKUMAR, T. Antidiabetic activity of methanolic root extract of *Mukia maderaspatana* in alloxan-induced diabetic rats. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, n. 1, p. 214-220, 2011.

WILCOX, G. Insulin and Insulin Resistance. **The Clinical Biochemist Reviews**, v.26, n.2, p.19-39, 2005.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H.G. Global prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and Projections for 2030. **Diabetes Care**, v. 27, n.5, p. 1047-1053, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Diabetes**. Nota descritiva, n.132. Geneva: WHO, 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**, v. 60, n, 10, p. 341-347, 2013.

ZAFAR, M.; NAQVI, S. N.; AHMED, M.; KAIMKHANI Z. A. Altered kidney morphology and enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. **International Journal of Morphology**, v. 27, n. 3, p. 783-790, 2009.

ZIMMET, P.; ALBERTI, K.G.M.M.; SHAW, J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 782-787, 2001.

10 ANEXOS

Anexo 1 - Carta de aprovação do projeto de pesquisa - CEUA/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 008/2014 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 10 de Junho de 2014

Senhor Pesquisador,

1. Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado: “Efeito da ingestão crônica em diferentes doses de extrato de *Baccharis dracunculifolia* sobre marcadores bioquímicos, hormonais e imunológicos em um modelo animal de diabetes”, parecer 008/2014 foi analisado e considerado **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Uso de Animais de nossa Instituição no dia 06 de Junho de 2014.

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: Bruno M. Soares

Atenciosamente,

Prof. Rosilene Rebeca
Vice-Coordenadora do CEUA/UNICENTRO
Port. 532/2014 - GR/UNICENTRO

Ao Senhor
Prof. Bruno M. Soares
UNICENTRO-CEDETEG

Home Page: <http://www.unicentro.br>

Campus Santa Cruz: Rua Pres. Zaccarias 875 – Cx. Postal 3010 – Fone: (42) 3621-1000 – FAX: (42) 3621-1090 – CEP 85.015-430 – GUARAPUAVA – PR
Campus CEDETEG: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03 – Fone/FAX: (42) 3629-8100 – CEP 85.040-080 – GUARAPUAVA – PR

Anexo 2 - Exsicata da planta *Baccharis dracunculifolia* (Herbário - Museu Botânico Municipal de Curitiba)



Prefeitura Municipal de Curitiba
Secretaria Municipal do Meio Ambiente
Superintendência de Obras e Serviços
Departamento de Produção Vegetal
Divisão do Museu Botânico Municipal
Av. Eng. Oreste Roguski, s. n.
CEP: 80.210-390, Bairro Jardim Botânico
Fone: (41) 3362-1800 - Fax (41) 3364-7365
e-mail: museobotanico@mma.curitiba.pr.gov.br
www.curitiba.pr.gov.br

DECLARAÇÃO

Declaro para os fins que se fizerem necessários que foi tombada no acervo do Herbário do Museu Botânico Municipal (Herbário MBM) uma exsicata de uma planta coletada por Samarah Perszel de Freitas.

A referida planta, conhecida popularmente como "ALECRIM-DO-CAMPO" pertence à família Asteraceae e seu nome científico é *Baccharis dracunculifolia* DC.

Foi coletada no Campus da Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, município de Guarapuava, Paraná, no dia 15/03/2014, sendo identificada pelo botânico Osmar dos Santos Ribas em 11/IV/2014.

Recebeu, como registro de tombamento, o número 388374 e está depositada no acervo do Herbário MBM a disposição da comunidade científica para todas e quaisquer eventuais consultas.

Curitiba, 17 de abril de 2014

MAEY-3 17.04.2014

Osmar dos Santos Ribas
Chefe de Divisão

Osmar dos Santos Ribas
Chefe de Divisão do Museu Botânico Municipal
Curador do Herbário MBM

Museu Botânico Municipal
Herbário MBM
Caixa Postal 1142
80.001-970 – Curitiba – Paraná – Brasil