

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EVOLUTIVA
(Associação Ampla entre UEPG e UNICENTRO)

PALLOMA DE ALMEIDA SOARES HOCAYEN

**Efeito da Administração Oral do Extrato de
Baccharis dracunculifolia na obesidade induzida
por Glutamato Monossódico (MSG)**

Ponta Grossa

2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EVOLUTIVA
(Associação Ampla entre UEPG e UNICENTRO)

PALLOMA DE ALMEIDA SOARES HOCAYEN

**Efeito da Administração Oral do Extrato de
Baccharis dracunculifolia na obesidade induzida
por Glutamato Monossódico (MSG)**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva da Universidade Estadual de Ponta Grossa em associação com a Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti

Ponta Grossa

2012

Ficha catalográfica Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG.

H685 e Hocayen, Palloma de Almeida Soares
 Efeito da administração oral do extrato de *Baccharis*
dracunculifolia na obesidade induzida por glutamato monossódico
(MSG) / Palloma de Almeida Soares Hocayen. Ponta Grossa,
2012.
 91 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – área de
concentração Biologia Evolutiva), Universidade Estadual de Ponta
Grossa e Universidade Estadual do Centro Oeste.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti.

1. Diabetes mellitus. 2. B. dracunculifolia. 3. Glutamato. 4. ilhotas
pancreáticas. I. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em
Ciências Biológicas. II. Malfatti, Carlos Ricardo Maneck.. III. T.

CDD: 571.2

“Dedico este trabalho e título ao grande Amor da Minha Vida, meu marido Antônio João, pois sem ele ao meu lado este sonho jamais teria sido alcançado.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, possibilitando vivenciar este momento especial.

Agradeço ao Amor da Minha Vida, meu marido Antônio João, companheiro incansável de todas as horas, que esteve ao meu lado sempre sacrificando finais de semana, férias, para que pudesse estar me ajudando em tudo, me auxiliando sempre, me dando força, coragem, incentivo, Orientação e muito Amor, contribuindo decisivamente para a conclusão deste trabalho.

Agradeço a minha família, meus pais Márcia e Robinson e minha irmã Danielle, por terem sempre torcido por mim, mesmo estando longe.

Agradeço ao orientador professor Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti, pela confiança e pela oportunidade na execução deste trabalho.

Agradeço ao professor Dr. Roberto Artoni por todo o apoio dado, como professor e amigo em todos os momentos que necessitei durante a pesquisa.

Agradeço a professora Dra. Sabrina por sua enorme e essencial ajuda e orientação, que foi fundamental para que este trabalho pudesse ser realizado.

Agradeço ao professor Dr. Paulo Vitor Farago pela ajuda na escolha da planta que foi analisada neste trabalho, além do uso dos laboratórios do curso de farmácia.

Agradeço a professora Dr. Márcia Thaís pelo grande auxílio, apoio e disposição durante a realização do trabalho.

Agradeço a aluna Letícia e Nayara pela grande ajuda nas partes práticas da pesquisa.

Agradeço ao bioquímico Ricardo pela grande ajuda e auxílio nos exames bioquímicos, que foram importantes neste trabalho.

*“O futuro pertence àqueles que
acreditam na beleza de seus
sonhos.”*

(Eleanor Roosevelt)

Resumo

Nos últimos anos o Diabetes vem ganhando grandes proporções, devido a mudanças nos hábitos de vida das pessoas, má alimentação e sedentarismo, que são fatores centrais no desenvolvimento da doença. Para tanto, várias espécies de plantas vêm sendo utilizadas etnofarmacologicamente ou em ensaios clínicos para tratar e ou combater os sintomas do Diabetes Mellitus. O presente estudo utilizou o extrato metanólico da planta *Bracharis dracunculifolia* (alecrim do campo), pertencente a família Asteraceae, com o objetivo de avaliar o efeito de sua administração na obesidade hipotalâmica em modelo de animais MSG. A metodologia se baseou na preparação do extrato metabólico de *B. dracunculifolia*, por meio de processos de secagem, pulverização, agitação orbital do extrato em metanol, filtragem e rotaevaporação além do teste de toxicidade do extrato frente a *Artemia salina*. Para a obtenção de animais MSG, foram aplicados nos animais ainda neonatos injeção de glutamato monossódico (MSG), durante cinco dias consecutivos, na dose de 4mg/g de peso corporal, para indução da obesidade. O tratamento com o extrato metanólico foi realizado nos animais aos 180 dias de vida, durante 30 dias. Foi avaliado o peso, consumo de água e ração durante todo o experimento. E após os animais terem sido sacrificados realizou-se o isolamento de ilhotas pancreáticas, que foram incubadas em concentrações crescentes de glicose (5,6mM; 8,3mM; 16,7mM). Os resultados obtidos no estudo demonstraram baixa toxicidade do extrato de *B. dracunculifolia*. Os animais MSG obtiveram indução da obesidade comprovada pelo aumento do Índice de Lee, e maior teor de gorduras viscerais e subcutânea em relação aos controles. Os animais MSG apresentaram menor peso, consumiram menos água e menos ração e apresentaram intolerância a glicose. Os parâmetros bioquímicos não obtiveram diferenças significativas, com exceção dos triglicerídeos que apresentou-se maior nos animais MSG, não tendo o extrato conseguido restaurar este parâmetro. No isolamento de ilhotas pancreáticas, os animais MSG que receberam o extrato de *B. dracunculifolia* apresentaram uma secreção significativa de insulina pelas ilhotas isoladas, ressaltando que na concentração de 8,3mM e 16,7mM foi obtida maior secreção de insulina. Conclui-se que o extrato metanólico de *B. dracunculifolia* obteve efeito significativo da secreção de insulina, no isolamento de ilhotas pancreáticas, ressaltando os resultados obtidos no grupo MSG (MP), que se apresentaram hiperinsulinêmicos, devido a uma possível melhora do stress oxidativo, destacando-se o alto teor antioxidante presente no extrato de *B. dracunculifolia* utilizado no estudo.

Palavras-chave: *B. dracunculifolia*, glutamato monossódico, ilhotas pancreáticas.

Abstract

In recent years diabetes has been gaining huge proportions, due to changes in the habits of life, poor diet and physical inactivity are key factors in disease development. To this end, various species of plants have been used etnofarmacologicamente or in clinical trials or to treat and combat the symptoms of Diabetes Mellitus. The present study used the methanol extract of the plant *Bracharis dracunculifolia* (rosemary field) belonging to the Asteraceae family, with the objective of evaluating the effect of his administration on hypothalamic obesity in animal model of MSG. The methodology was based on the preparation of the extract metabolic *B. dracunculifolia* by means of drying processes, spraying, orbital agitation of the extract in methanol, filtration and addition of rotaevaporação toxicity test of the extract in the brine shrimp. To obtain MSG animals, were used in newborn animals still injection of monosodium glutamate (MSG) for five consecutive days at a dose of 4 mg / g body weight to induce obesity. Treatment with methanol extract was carried out on animals at 180 days of life, for 30 days. Weight was evaluated, consumption of water and feed throughout the experiment. And after the animals have been sacrificed held in the isolation of pancreatic islets which were incubated with increasing concentrations of glucose (5.6 mM, 8.3 mM, 16.7 mM). The results obtained in the study demonstrated low toxicity of the extract of *B. dracunculifolia*. The MSG animals had proven by induction of obesity increased Lee index, and higher levels of visceral and subcutaneous fat compared to controls. The MSG animals weighed less, consumed less water and less food and had impaired glucose tolerance. The biochemical parameters did not obtain significant differences, except for triglycerides which showed to be higher in MSG animals, not having succeeded in restoring the extract this parameter. In the isolation of pancreatic islets, MSG animals that received the extract of *B. dracunculifolia* showed a significant secretion of insulin by the islets isolated, noting that the concentration of 8.3 mM and 16.7 mM was obtained increased secretion of insulin. It is concluded that the methanol extract of *B. dracunculifolia* obtained significant effect on insulin secretion in pancreatic islet cell isolation, noting the results obtained in the group MSG (MP), which were hyperinsulinemia because of a possible enhancement of oxidative stress, especially the high antioxidant content present in the extract *B. dracunculifolia* used in the study.

Kew words: *B. dracunculifolia*, monosodium glutamate, pancreatic islet

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Via de sinalização da insulina na captação de glicose.....	20
Figura 02 – Aplicação de MSG em ratos neonatos e Kit para administração MSG. .	40
Figura 03 – Aplicação de SALINA em ratos neonatos e Kit para administração SALINA.	40
Figura 04 – Exemplares de <i>Baccharis dracunculifolia</i>	41
Figura 05 – Exemplares de <i>Baccharis dracunculifolia</i> em processo de secagem e pulverização.	43
Figura 06 – Teste de umidade da planta <i>Baccharis dracunculifolia</i>	43
Figura 07 – Agitação orbital do extrato da planta <i>Baccharis dracunculifolia</i>	43
Figura 08 – Processo de filtragem do extrato da planta <i>Baccharis dracunculifolia</i>	44
Figura 09 – Esquema do protocolo experimental.....	45
Figura 10 – Contagem das ilhotas pancreáticas feita em microscópio ótico para incubação em placas de cultura.	46
Figura 11 – Teste de toxicidade com <i>Artemia salina</i> . 1 – extrato de <i>Baccharis dracunculifolia</i> ; 2 – pesagem extrato; 3 – solução de extrato e metanol; 4 – tubos de ensaios com as concentrações testadas; 5 – ovos de <i>Artemia salina</i> em processo de eclosão; 6 – ovos do microcústáceo <i>Artemia Salina</i>	50
Figura 12 – Caixa de contenção para animais, produzida para coleta de sangue. ...	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Nome popular, parte usada, rendimento (p/p) e prospecção química dos extratos da família Asteraceae.	33
Tabela 02 – Análise estatística do peso do rim e fígado dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS). Representado pela média $\pm$ epm.....	74
Tabela 03 – Parâmetros bioquímicos dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).	74

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 – Curva concentração-resposta da mortalidade de <i>Artemia salina</i> ao extrato metanólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> após 24 horas. CL50 = 1008,51µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.	62
Gráfico 02 – Curva concentração-resposta da mortalidade de <i>Artemia salina</i> ao extrato metanólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> após 48 horas. CL50 = 921,32µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.	63
Gráfico 03 – Curva concentração-resposta da mortalidade de <i>Artemia salina</i> ao dicromato de potássio (controle positivo) após 24 horas. CL50 = 69,33µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.	63
Gráfico 04 – Curva concentração-resposta da mortalidade de <i>Artemia salina</i> ao dicromato de potássio (controle positivo) após 48 horas. CL50 = -555,02µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.	64
Gráfico 05 – Curvas dose-resposta da sobrevivência de <i>Artemia salina</i> ao extrato metanólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> e dicromato de potássio (controle positivo) após 24 horas.....	64
Gráfico 06 – Curvas dose-resposta da sobrevivência de <i>Artemia salina</i> ao extrato metanólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> e dicromato de potássio (controle positivo) após 48 horas.....	65
Gráfico 07 – Peso final, comprimento naso-anal e Índice de Lee, dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS)...	66
Gráfico 08 – Peso relativo das gorduras mesentérica, retroperitoneal, periepididimal e inguinal dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).	67
Gráfico 09 – Curva do ganho de peso e área sob a curva (AUC) dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).	68
Gráfico 10 – Consumo de ração dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).	69

Gráfico 11 – Consumo de água dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).	70
Gráfico 12 – Curvas glicêmicas e área sob a curva (AUC) obtidas no Teste de Tolerância dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).	71
Gráfico 13 – Avaliação da secreção de insulina em ilhotas pancreáticas isoladas dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).	72

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

IRS – substratos do receptor de insulina

Shc – proteínas adaptadoras de sinalização

GLUT – transportador de glicose insulino sensível

ATP – trifosfato de adenosina

ADP – difosfato de adenosina

HDL – lipoproteína de alta densidade

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

LDL – lipoproteína de baixa densidade

TNF- α – fator de necrose tumoral

IL-6 – interleucina

AGL – ácidos graxos livres

GH – hormônio de crescimento

HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência

RIE – radioimunoensaio

CL50 – concentração letal 50%

NIH-3T3 – linhagem celular de cultura de embriões de fibroblastos de ratos

HEp2 – linhagem celular de carcinoma laríngeo humano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 JUSTIFICATIVA	12
4 REFERENCIAL TEÓRICO	14
4.1 HISTÓRICO DO DIABETES	14
4.2 EPIDEMIOLOGIA DO DIABETES	15
4.3 CAUSAS E FISIOPATOLOGIA DO DIABETES MELLITUS TIPO 2	16
4.3.1 Diabetes Mellitus tipo 2	18
4.3.2 Diabetes Mellitus tipo 2 e Obesidade	22
4.3.2.1 Ação de Leptina e Adiponectina no Quadro de Obesidade.....	25
4.4 MODELO DE OBESIDADE COM GLUTAMATO MONOSSÓDICO – MSG.....	26
4.5 PLANTAS MEDICINAIS	28
4.6 PLANTAS MEDICINAIS E DIABETES	29
4.7 GÊNERO <i>Baccharis</i>	30
4.7.1 <i>Baccharis dracunculifolia</i>	31
4.7.2 Compostos de <i>Baccharis dracunculifolia</i>	32
5 ESTUDOS REALIZADOS SOBRE O TEMA – ESTADO DA ARTE	34
5.1 ESTUDOS DE <i>B. dracunculifolia</i> NA TERAPÊUTICA DE DOENÇAS	34
5.2 ESTUDOS DE PLANTAS MEDICINAIS COMO HIPOGLICEMIANTES.....	37
6 MATERIAL E MÉTODOS	39
6.1 ANIMAIS.....	39
6.2 INDUÇÃO DA OBESIDADE COM MSG.....	39
6.3 MATERIAL BOTÂNICO.....	40

6.4 PREPARAÇÃO DO EXTRATO	42
6.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	44
6.6 ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS	45
6.7 INCUBAÇÃO DAS ILHOTAS E SECREÇÃO DE INSULINA.....	46
6.8 CARACTERIZAÇÃO DA OBESIDADE.....	46
6.9 EVOLUÇÃO PONDERAL.....	47
6.10 PERFIL LIPÍDICO	47
6.10.1 Determinação do Colesterol Sérico.....	47
6.10.2 Determinação Sérica de HDL Colesterol.....	47
6.10.3 Determinação Sérica de LDL Colesterol	47
6.10.4 Determinação Sérica de VLDL Colesterol.....	48
6.10.5 Determinação de Triglicerídeo Sérico	48
6.10.6 Determinação das Concentrações Séricas de Glicose e Insulina	48
6.11 COLETA DE RIM E FÍGADO	48
6.12 TESTE DE TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i> (CL50).....	49
6.13 TESTE DE TOLERÂNCIA	50
6.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
7 ANÁLISE DOS RESULTADOS	52
Análise do extrato metanólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> em modelo de animais obesos MSG.....	52
7.1 TESTE DE TOXICIDADE	61
7.2 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE LEE.....	65
7.3 GORDURAS	66
7.4 EVOLUÇÃO PESO, ÁGUA E RAÇÃO.....	68
7.4.1 Evolução ponderal	68
7.4.2 Consumo de Ração	69

7.4.3 Consumo de Água	70
7.5 AVALIAÇÃO DO TESTE DE TOLERÂNCIA.....	71
7.6 SECREÇÃO DE INSULINA EM ILHOTAS PANCREÁTICAS ISOLADAS	72
7.7 ANÁLISE DA PESAGEM DO RIM E FÍGADO	73
7.8 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	74
8 DISCUSSÃO.....	76
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o Diabetes vem ganhando grandes proporções, destacando-se como uma epidemia mundial (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2011). A mudança nos hábitos de vida das pessoas, com o advento de uma alimentação mais calórica e a falta da prática de exercícios físicos, são fatores centrais no desenvolvimento de estados patológicos dentre os quais destaca-se o Diabetes.

Dados demonstram que o Diabetes é uma doença fatal, com mortalidade em torno de 3 milhões de pessoas a cada ano em todo o mundo, e grande morbidade, devido a maior propensão que os pacientes diabéticos tem em desenvolver complicações crônicas, como cardiopatias, nefropatias, neuropatias e retinopatias (PETERSEN; SHULMAN, 2006; OMS, 2011). Evidências experimentais e clínicas, demonstram que as complicações advindas dos distúrbios metabólicos, provém principalmente da hiperglicemia (RANG et al., 2004).

Existem no mundo cerca de 285 milhões de pessoas diabéticas. Aproximadamente 90% destas são acometidas pelo Diabetes Mellitus não-insulino dependente ou Diabetes tipo 2, estando o Brasil entre os 10 países com mais casos da doença, em torno de 10 milhões de pacientes. Estima-se que se a progressão da doença se mantiver, em 2030 haverá uma prevalência de 435 milhões de indivíduos diabéticos, sendo a maioria localizada em países em desenvolvimento (WILD et al., 2004; SBD, 2011;).

Devido ao grande número de casos, a doença pode ser vista como um problema de saúde pública mundial, uma vez que causa um enorme ônus aos cofres públicos, em torno de 400 milhões de dólares, advindos dos gastos com tratamento. Conforme observaram Pinheiro et al. (2006) ressaltando que a incidência de Diabetes Mellitus na atualidade atinge grandes proporções, demandando um alto custo tanto econômico quanto social. Nesse sentido, atenção especial tem sido dispensada aos diferentes níveis preventivos da doença. Para tanto, várias espécies de plantas vêm sendo utilizadas etnofarmacologicamente ou em ensaios clínicos para tratar e ou combater os sintomas do Diabetes Mellitus (IVORRA, 1989).

Segundo Albuquerque (2002) o objetivo da etnofarmacologia é pesquisar e verificar para qual propósito as plantas medicinais são utilizadas com a finalidade de fornecer ferramentas que possam auxiliar na descoberta de novos fármacos, podendo ainda contribuir com a melhoria da qualidade de vida da população, auxiliando na busca de alternativas cada vez mais eficazes e promissoras para os tratamentos de patologias que mais assolam a população atualmente, como é o caso do Diabetes.

A utilização das plantas medicinais, para tratamentos de doenças, é uma prática muito antiga, sendo encontrada ao longo da história em todas as populações mundiais e em diferentes grupos étnicos conhecidos. A partir deste uso popular é que foram descobertos diversos medicamentos utilizados na medicina tradicional, constituindo-se um importante recurso para a descoberta de novos fármacos (MARTINS, 2000; BUSSMANN, 2009).

Com o passar do tempo tem ocorrido um enorme avanço no ramo científico envolvendo estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais na busca de compostos com propriedades terapêuticas, visto que grande parte do arsenal de vegetais disponível para a descoberta de possível utilização medicinal, ainda não foi explorado (CHECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

No Brasil a população tem um importante conhecimento etnobotânico e etnofarmacológico em decorrência da miscigenação do povo, decorrente dos colonizadores e escravos vindos do oriente somados ao conhecimento indígena local (FERREIRA, 2002). Tais observações populares em relação ao uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das propriedades terapêuticas dos vegetais, principalmente em virtude dos efeitos medicinais que produzem (MACIEL et al., 2002).

Portanto, o contexto apresentado demonstra e reforça a importância de estudos com plantas medicinais com o objetivo de identificar substâncias ativas, ressaltando que o uso indiscriminado das plantas pela população pode trazer riscos, por isso é importante a realização de testes de toxicidade na busca de uma terapêutica eficaz, trazendo assim um maior conforto e melhor qualidade de vida aos pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da administração do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* em modelo de obesidade animal, induzido por glutamato monossódico (MSG).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a evolução do peso, consumo de água e consumo de ração entre os animais obesos e controles;
- Verificar a toxicidade do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* frente à *Artemia salina*;
- Analisar os efeitos do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* nos parâmetros bioquímicos (colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL, triglicérides, glicemia, insulinemia);
- Verificar a ação do extrato de *Baccharis dracunculifolia* em relação ao acúmulo de gorduras corporais, em animais obesos e controles; e
- Analisar a secreção de insulina por meio do isolamento de ilhotas pancreáticas submetidas a dosagens crescentes de glicose.

3 JUSTIFICATIVA

Atualmente o Diabetes é tido como um mal que atinge milhões de pessoas em todo o mundo, trazendo inúmeras complicações a saúde dos pacientes e gerando enormes gastos para os governos com saúde. Neste contexto diferentes pesquisas podem auxiliar na busca de novas alternativas de tratamento para melhoria da qualidade de vida e tratamento dos diabéticos.

Ressalta-se a busca de fármacos visando novos medicamentos hipoglicemiantes com base na fitoterapia, devido a grande diversidade da flora natural brasileira, que possam auxiliar com eficácia terapêutica os pacientes acometidos pelo Diabetes Mellitus tipo 2.

A etnofarmacologia vem de encontro com esse objetivo, tendo por finalidade a realização de estudos experimentais, buscando na natureza plantas que apresentem uma opção para formulação de novos medicamentos, para o tratamento de doenças que assolam a população, como o Diabetes, além de fornecer dados para a obtenção de fármacos mais eficazes, específicos e economicamente mais acessíveis à população (LORENZI; MATOS, 2002; SIMÕES et al., 2002).

Os resultados de pesquisas com plantas medicinais podem ter desdobramentos em vários níveis da sociedade. No nível individual, a descoberta de princípios ativos eficientes podem determinar a melhoria da qualidade de vida em patologias crônicas ou a própria sobrevivência do paciente afetado. No nível social, a descoberta de fontes naturais pode estar atrelada ao desenvolvimento de fitoterápicos. No setor empresarial, a indústria farmacêutica a procura de novas drogas que gerem grande rentabilidade. Por fim, no nível ecológico, o crescimento do interesse medicinal aumenta a importância da conservação da biodiversidade e diversidade cultural do ecossistema, salvaguardando e perpetuando nossa interdependência de plantas como fonte de medicamentos de origem vegetal (ELISABETSKY; COSTA-CAMPOS, 1996).

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

Hoje em dia a maior parte das plantas utilizadas como hipoglicemiantes, ao serem experimentalmente avaliadas, têm comprovada a sua atividade hipoglicemiante. O mecanismo de ação pelos quais as plantas baixam a taxa de glicose do sangue 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; eliminação de radicais livres (MARLES; FARNSWORTH, 1995; VOLPATO et al., 2002; HUO et al., 2003). Algumas, com efeito, comprovadamente testado, fazem parte do gênero *Baccharis*, que possuem grande dispersão pelo Sudeste e Sul do Brasil, sendo de fácil acesso à população (LEITE, 2009).

Em função da necessidade de comprovação científica do uso desta espécie de planta para tratamento de animais obesos, com resistência a insulina, fatores relacionados com o risco de Diabetes. O presente estudo utilizou a planta *Bracharis 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 hipogliceminante pertenciam a esta família. Além da mesma pertencer ao gênero *Baccharis*, onde já foram constatadas propriedades terapêuticas hipoglicemiantes em outra espécie do mesmo gênero, *Bacharis trimera* (carqueja) (NEGRI, 2005).

Destaca-se que em estudos anteriores já foram descobertos centenas de princípios ativos em *Baccharis dracunculifolia*, como metabólitos secundários diterpenos, triterpenos e compostos antioxidantes como ácidos fenólicos, flavonóides e ácido cumárico, sendo estes alguns dos principais constituintes encontrados nas plantas que possuem um importante efeito hipoglicemiante (NEGRI, 2005). Aspecto este que permite confirmar a relevância e a importância deste estudo para o âmbito do meio científico, além de seus alcances sócio-econômicos, visando a contribuição para a redução dos impactos negativos da Diabetes Mellitus na sociedade.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 HISTÓRICO DO DIABETES

O Diabetes é uma doença antiga, datando seus primeiros indícios da era egípcia. Contudo, somente a mais de 2000 mil anos que o médico Areteu, na Grécia, descreveu o Diabetes. Ainda que tenha sido identificada, sua existência era considerado um mal misterioso, pois não se tinha conhecimento claro de suas verdadeiras causas metabólicas (OLIVEIRA, 2002; SBD, 2011).

Porém, desde a descoberta de Areteu, os estudos sobre o Diabetes não evoluíram. Somente no século XVII, mais precisamente em 1670, que o médico inglês Thomas Willis experimentando a urina de indivíduos que apresentavam os mesmos sintomas, observou o “gosto adocicado” (OLIVEIRA, 2002; SBD, 2011). Posteriormente, em meados do século XIX, o Dr. Chevreul demonstrou que o açúcar presente na urina dos indivíduos diabéticos era proveniente da glicose. Desse modo, os médicos passaram a provar a urina dos pacientes que tinham suspeita de Diabetes, passando a doença a ser chamada de "diabetes açúcarada" ou "Diabetes Mellitus" ("Mellitus" é latina e quer dizer "mel ou adocicado") (SATTLEY, 1996; OLIVEIRA, 2002; SBD, 2011).

No final do século XIX, os cientistas alemães, Von Mering e Minkowski, descobriram que o pâncreas produzia uma substância, ou hormônio, capaz de controlar o açúcar no sangue e evitar os sintomas do Diabetes (OLIVEIRA, 2002; SBD, 2011). Claude Bernard realizou trabalhos experimentais comprovando a existência de glicose na urina, excitando os centros bulbares, e usou pela primeira vez o termo “secreção interna”. Anos anteriores, na metade do século XIX, o médico francês Bouchaedat havia ressaltado a importância da obesidade e da vida sedentária na origem do Diabetes (OLIVEIRA, 2002; SBD, 2011).

No ano de 1869, Paul Langerhans, cientista alemão, descobriu que o pâncreas era uma glândula com milhões de pequenas divisões ou ilhas, atualmente com a designação de “Ilhas de Langerhans”, e em 1893 o cientista francês Gustave Laguesse sugeriu que essas ilhas seriam o local onde se produziria a substância

anti-diabética para controlar o açúcar no sangue, a insulina, palavra que deriva do termo latim para ilha (insula) (OLIVEIRA; MILECH, 2004).

A mais importante descoberta acerca do Diabetes foi realizada em 1921, quando dois investigadores canadenses, Frederick Banting e Charles Best, conseguiram extrair insulina do pâncreas de um cão normal e injetá-la em outro cão, no qual havia sido retirado o pâncreas, e que se manifestava todos os sintomas da doença. Esta experiência confirmou que a insulina realmente era a responsável pelo controle do açúcar no sangue. Desse modo, alguns anos depois, em 1936, surgiu a insulina de absorção lenta, que passou a ser utilizada no tratamento do Diabetes. Com o passar do tempo e a evolução das pesquisas foram purificando a insulina, até a obtenção da síntese da insulina humana. Concomitantemente o campo dos hipoglicemiantes orais também se desenvolveu, sendo a primeira sulfoniluréia (fármaco que promove a liberação de insulina a partir das células β -pancreáticas) utilizada em 1955 (OLIVEIRA; MILECH, 2004).

No decorrer das décadas do século XX, vários outros fármacos foram desenvolvidos para o controle do Diabetes Mellitus. No entanto, mesmo sendo uma doença descoberta na antiguidade, após séculos continua fazendo milhares de vítimas na atualidade, sendo objeto de pesquisa em diferentes estudos na busca por alternativas que possam prevenir ou tratar a enfermidade acarretando em melhor qualidade de vida aos pacientes.

4.2 EPIDEMIOLOGIA DO DIABETES

O Diabetes Mellitus é considerado uma doença crônica que não faz distinção de classe social, etnia e sexo, pois atinge populações diversas em todo o mundo. Sua incidência tem aumentado a cada ano, podendo ser considerada uma epidemia mundial, tornado-se atualmente um grande desafio e problema de saúde pública (FRANCO, 1998; ZIMMET, 2001).

Segundo a Organização Mundial da Saúde – OMS existem milhões de pessoas diabéticas em todo o mundo. Segundo estimativas em 2010 seriam 18 milhões de diabéticos na América Latina. Acredita-se que aproximadamente 29,6 milhões de pessoas serão diabéticas em 2030, caracterizando um aumento de 65% na incidência da doença ao longo de 20 anos (BOGALHO, 2010).

Segundo dados publicados pelo Ministério da Saúde (2010), a estimativa prevê que quase 6% dos brasileiros com mais de 18 anos têm Diabetes tipo 2, o equivalente a 7,6 milhões de pessoas. Mas, segundo associações de portadores de Diabetes, o número ultrapassa 12 milhões de pessoas, se considerarmos os casos não diagnosticados. No final de 2010, o Ministério da Saúde divulgou que o Diabetes atualmente é a terceira causa de morte no país, tendo aumentado a sua incidência em 10% entre os anos de 1996 a 2007.

Dados demonstram que o Brasil perde cerca de 40 mil pessoas ao ano devido ao Diabetes. Comparando a taxa de mortalidade referente ao Diabetes entre as regiões do Brasil, observa-se que mesmo com o crescente aumento nos últimos anos da mortalidade da doença tendo sido registradas nas regiões Norte e Nordeste, a maior prevalência de morte se encontra nas regiões Sul e Sudeste (MARTINS et al., 2008).

Com base em dados da OMS percebe-se que a mortalidade mundial em decorrência dos vários tipos de Diabetes, tende a aumentar mais de 50% em 2030 (OMS, 2011).

Os determinantes epidemiológicos e os riscos para o desenvolvimento do Diabetes tipo 2 incluem além de fatores genéticos e fatores metabólicos como intolerância à glicose, resistência à insulina e causas relacionados à gravidez, ao estilo de vida inadequado, estresse, urbanização, sedentarismo, dieta inadequada e obesidade (ZIMMET, 2001; CADERNOS DE ATENÇÃO BÁSICA, 2006). Desse modo, destaca-se que a busca por hábitos saudáveis trazem benefícios a saúde na prevenção de doenças, visando uma maior e melhor sobrevida à população.

4.3 CAUSAS E FISIOPATOLOGIA DO DIABETES MELLITUS TIPO 2

O Diabetes é considerado uma doença crônica degenerativa, de etiologia múltipla, devido a anormalidades endócrinas ocorridas no pâncreas, podendo ser ocasionado pela secreção inadequada de insulina pelas células β -pancreáticas ou devido a defeitos da ação da insulina, o que ocasiona resistência de insulina no organismo ou mesmo pela associação destes dois fatores (ENGELGAU et al., 2000; LOPES, 2009).

O pâncreas endócrino consiste nas ilhotas de Langerhans que são compostas por células β , produtoras de insulina, células alfa que produzem o glucagon, vários clones de células gama que secretam somatostatina ou neuropeptídeo PIV (polipeptídio intestinal vasoativo) e outras substâncias. No Diabetes tipo 2 as ilhotas pancreáticas mostram depósitos amiloide, atrofia celular e fibrose progressiva. Distúrbios metabólicos, especialmente hiperglicemia, como ocorre no Diabetes, causam várias complicações e doenças secundárias, incluindo a microangiopatia progressiva, com retinopatia diabética, nefrosclerose glomerular, neuropatia periférica, muitos também apresentam doença cardíaca hipertensiva grave (BUJA; KRUEGER, 2007).

O Diabetes constitui-se em uma doença endócrina caracterizada por um grupo de desordens metabólicas, incluindo elevada glicemia de jejum (hiperglicemia) e elevação das concentrações de glicose sanguínea pós-prandial (concentração de glicose após refeição), devido a uma menor sensibilidade insulínica em tecidos alvo e/ou por reduzida secreção de insulina (ADA, 2010). Diagnosticado por meio de glicemia em jejum > 126 mg/dL ou glicemia pós-prandial > 200 mg/dL (GOLDMAN; AUSIELLO, 2009; LOPES, 2009; NATIONAL DIABETES EDUCATION, 2011). Algumas vezes o diagnóstico pode ser realizado a partir de complicações crônicas da doença (CADERNOS DE ATENÇÃO BÁSICA, 2006; ADA, 2010), além disso, procura-se a possível causa de sintomas como o aumento da sede, da micção ou do apetite, ou quando o indivíduo apresenta fatores de risco típicos, como história familiar de Diabetes, obesidade, infecções freqüentes ou qualquer uma das complicações associadas ao Diabetes (GROSS et al., 2002).

Os sintomas clássicos do Diabetes são: poliúria (urinar muito), polidipsia (sede), polifagia (fome) e perda involuntária de peso (os “4 Ps”). Outros sintomas que levantam a suspeita clínica são: fadiga, fraqueza, letargia, prurido cutâneo e vulvar, balanopostite (inflamação da glândula e prepúcio do órgão genital masculino) e infecções de repetição. As consequências fatais do Diabetes não controlado são a hiperglicemia com cetoacidose, que ocorre no Diabetes tipo 1 (OLIVEIRA; MILECH, 2004; CADERNOS DE ATENÇÃO BÁSICA, 2006; ADA, 2010).

A cetoacidose é rara no Diabetes tipo 2, mas quando a concentração sérica de açúcar torna-se muito elevada (freqüentemente excedendo 1000mg/dL), normalmente decorrente da sobreposição de algum estresse (infecção) ou de

drogas, o indivíduo pode apresentar uma desidratação grave, a qual pode acarretar confusão mental, sonolência, convulsões e uma condição denominada coma hiperglicêmico hiperosmolar não-cetótico. Este ocorre apenas no Diabetes tipo 2, porque um mínimo de ação insulínica preservada nesse tipo de Diabetes pode prevenir a cetogênese (NEGRI, 2005; CADERNOS DE ATENÇÃO BÁSICA, 2006).

O Diabetes atinge diversas pessoas em faixa etária variada, podendo ser acometidas por qualquer variação da doença. A classificação atual engloba o Diabetes tipo 1, Diabetes tipo 2, outros tipos específicos de Diabetes e Diabetes gestacional. Caracteriza-se como o tipo 2 a forma mais comum, predominada por distúrbios na ação e secreção da insulina (LOPES, 2009). A combinação destes dois fatores é a forma mais comum de Diabetes tipo 2. Neste tipo de Diabetes o grau de hiperglicemia suficiente para causar alterações patológicas e funcionais em vários tecidos-alvo, pode estar presente por um longo período, sem que seja detectada a doença. Durante este período assintomático, é possível demonstrar uma anormalidade no metabolismo de carboidratos pela medição da glicemia em jejum ou depois da ingestão de uma carga de glicose oral, sendo critério eficiente para o diagnóstico precoce da doença e início do tratamento (ADA, 2010).

4.3.1 Diabetes Mellitus tipo 2

O Diabetes tipo 2 é também influenciado geneticamente, e atualmente é reconhecido como doença poligênica, significando que a presença de vários pares de genes alterados em um único indivíduo é necessária para o desenvolvimento da doença. Provavelmente é multigênico, isto é, diferentes combinações de genes podem existir em pacientes portadores desta doença, contudo o Diabetes tipo 2 é uma doença multifatorial, com contribuição genética, associada aos fatores ambientais e ao estilo de vida, elementos relevantes para o desencadeamento da doença. O sedentarismo e as dietas com alta proporção de carboidratos refinados e gorduras saturadas são os principais fatores ambientais responsáveis pelo aumento do sobrepeso e da obesidade e, conseqüentemente, do Diabetes tipo 2, sendo que a gordura corporal, principalmente a gordura visceral, localizada na região abdominal, é o principal fator de risco para o Diabetes tipo 2 (FUJIMOTO, 2000; LEAHY, 2005). Portanto, defeitos genéticos associados a fatores ambientais e estilo de vida são

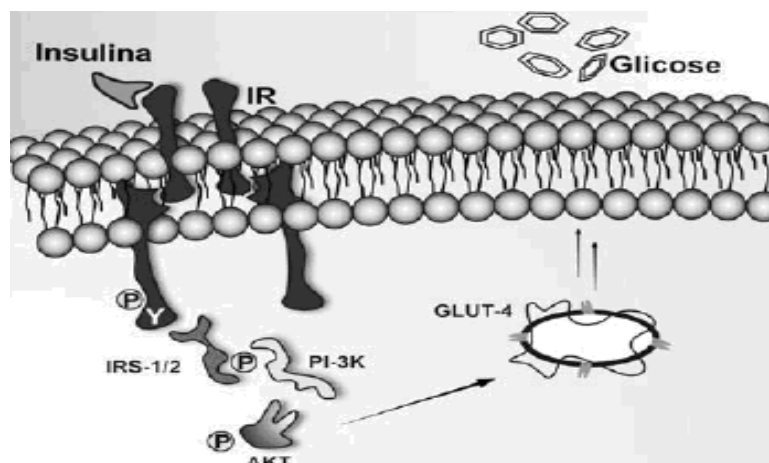
responsáveis pela resistência e deficiência da ação de insulina observada no Diabetes tipo 2 (GOLDMAN; AUSIELLO, 2009; LOPES, 2009).

Inicialmente, a fisiopatologia do Diabetes tipo 2 envolve distúrbios na sensibilidade à insulina, ou resistência a ação da insulina, nos tecidos periféricos, especialmente no fígado, tecido adiposo e muscular, desencadeadas por alterações intracelulares, seguidos de uma redução na secreção de insulina, resultado da disfunção progressiva do pâncreas, resultando em hiperglicemia e glicotoxicidade. Esta última é responsável por um estresse oxidativo crônico a nível tecidual, tendo um importante papel na gênese das complicações crônicas do Diabetes (FORD et al., 2002; POITOUT, 2002; PETERSEN; SHULMAN, 2002).

A insulina exerce seus efeitos metabólicos mediante ligação e ativação de um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade quinase, composta por duas subunidades alfa e duas subunidades beta, que atua como uma enzima alostérica na qual a subunidade alfa inibe a atividade tirosina quinase da subunidade beta. A ligação da insulina à subunidade alfa permite que a subunidade beta adquira atividade quinase, levando à alteração conformacional e à autofosforilação do receptor nas subunidades beta em múltiplos resíduos de tirosina, o que aumenta ainda mais sua atividade quinase. Uma vez ativado, o receptor de insulina fosforila vários substratos protéicos em tirosina, induzindo a cascata de transmissão de sinal insulínico (WITHE, 1998; LOPES, 2009).

Nos estados de resistência em oposição ao efeito positivo da fosforilação em tirosina, é caracterizada por alterações em diversos pontos, com redução da concentração e da atividade quinase do receptor, ocorre a desfosforilação por proteínas – tirosinas fosfatases e fosforilação em resíduos serina e treonina, assim como a degradação acelerada do receptor (CARVALHEIRA, 2002; LOPES, 2009).

Figura 01 – Via de sinalização da insulina na captação de glicose.



O receptor de insulina é uma tirosina quinase que se autofosforila e catalisa a fosforilação de proteínas intracelulares como as proteínas IRS, Shc. Após a fosforilação essas proteínas se ligam a outras moléculas de sinalização através de seus domínios, resultando na ativação de vias de sinalização intracelular. Essas vias regulam o transporte de glicose.

Fonte: Pauli et al. (2009).

A resistência à insulina é um estado metabólico no qual concentrações fisiológicas de insulina produzem menor resposta biológica, reduzindo drasticamente a captação de glicose em tecidos periféricos, o que resulta em aumento da gliconeogênese hepática, podendo induzir a quadros de hiperglicemia. A redução na sensibilidade à insulina em hepatócitos, fibra muscular e adipócito representa um estímulo para aumento na produção e secreção pancreática de insulina com finalidade de manter o nível normal de glicemia. Cronicamente isto gera uma hiperinsulinemia e até descompensação pancreática total (exaustão das células β), o que contribui para o aparecimento de Diabetes tipo 2 (SERAPHIM, 2001).

Disfunção nas células β -pancreáticas ocasionada devido a anormalidades genéticas pré-programadas, podem também desencadear processos de resistência (MARCHETTI et al., 2008).

Em sua função normal as células β -pancreáticas secretam insulina em resposta a glicose, sendo que os mecanismos envolvidos incluem: transporte da glicose para o interior das células pelo transportador GLUT-2; metabolização intracelular da glicose Via Glicólise, Ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa gerando ATP; aumento intracelular da razão ATP/ADP; fechamento dos canais de potássio

dependentes de ATP; aumento de K (potássio) intracelular; despolarização da membrana da célula beta; abertura do canal de Ca^{+2} (cálcio) voltagem dependente; influxo de Ca^{+2} e aumento da sua concentração citoplasmática; exocitose dos grânulos secretores contendo insulina (ASHCROFT, 2006; SMITH, 2007).

No caso do Diabetes tipo 2 a resistência a ação da insulina é definida pelo comprometimento da liberação de glicose mediado pela insulina, como uma resposta biológica subnormal a insulina, respondendo e manifestando-se por diminuição do transporte de glicose estimulado pela insulina em tecido adiposo e músculos esqueléticos e pela supressão inadequada da produção hepática de glicose e de gliconeogênese nos estados de jejum e pós-prandial (GOLDMAN; AUSIELLO, 2009; LOPES, 2009). Do mesmo modo, o aumento na massa armazenada de triglicerídeos em tecidos adiposos visceral e subcutâneo, próprio da obesidade e sobrepeso, permite que existam adipócitos de tamanho aumentado, com menor expressão de receptores para insulina, sendo resistentes a insulina. Isso resulta numa inabilidade de insulina em suprimir a lipólise e tem como consequência um aumento na concentração plasmática de ácidos graxos e glicerol (STUMVOLL, 2005).

À medida que a doença progride e a hiperglicemia se torna mais grave, os níveis basais de insulina não conseguem mais se manter, podendo até diminuir. Estudos demonstram que a massa de células β podem chegar a reduzir em 50% nesses pacientes diabéticos (GOLDMAN; AUSIELLO, 2009).

As complicações crônicas do Diabetes tipo 2 variam entre os pacientes acometidos, apresentando riscos maiores com a idade, a obesidade e o sedentarismo. Ressalta-se que pessoas com Diabetes tipo 2 têm maior propensão ao óbito em virtude de doença cardiovascular, doença vascular cerebral (AVC), doença vascular periférica (DPV), se comparados aos não diabéticos. O Diabetes tipo 2 é considerado uma das principais causas de cegueira entre adultos, além de outras complicações como: a retinopatia diabética, neuropatia diabética, hiperglicemia, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias que contribuem para o aparecimento de ateromas e lesões do músculo liso dos vasos sanguíneos e disfunções endoteliais desencadeadas pela resistência a insulina. Além de outros fatores de risco não convencionais que têm sido descritos: disfunção endotelial, estado pré-trombótico e inflamação. Desse modo tais conjuntos de fatores de risco

que inclui: elevada glicose sanguínea, pressão arterial elevada, triglicérides elevados e baixos níveis de colesterol HDL, elevação da gordura visceral, caracterizando-se por Síndrome Metabólica condicionam e contribuem para o desenvolvimento do (EL-ATAT et al., 2004; SCHEFFEL et al., 2004; SKYLER, 2004; SAVAGE, 2005; CADERNOS DE ATENÇÃO BÁSICA, 2006; MARTINEZ; LATORRE, 2006; ADA, 2010).

Salienta-se que não é possível alterar a predisposição genética dos pacientes, mas inúmeros estudos têm demonstrado que o Diabetes pode ser retardado ou prevenido por mudanças nos hábitos de vida, como alimentação e programas de atividade física, melhorando assim o controle metabólico, proporcionando alívio dos sintomas e prevenção de complicações agudas e crônicas (CONSELHO BRASILEIRO SOBRE DIABETES, 2003; KATSER, 2007; LOPES, 2009).

Inúmeras alternativas e estratégias farmacológicas vêm sendo utilizadas no tratamento do Diabetes tipo 2 auxiliando no controle da doença na busca de uma melhor qualidade de vida para os pacientes. Dentre os medicamentos utilizados atualmente destacam-se: antidiabéticos orais: (Inibidores da α -glicosidase, Biguanidas, Tiazolidinediona, Sulfoniluréias, Glinidas); Sensibilizadores da Ação da Insulina (Metformina; Tiazolidinedionas); Estimulantes da Secreção de Insulina (Sulfoniluréias: clorpropamida, glibenclamida, glipizida, gliclazida, glimepirida); Inibidores da absorção Intestinal de Glicose (acarbose e miglitol). Salvaguardando que tais fármacos devem estar associados a uma dieta nutricional adequada, além da prática regular de exercícios físicos (GOLDMAN; AUSIELLO, 2009; LOPES, 2009).

4.3.2 Diabetes Mellitus tipo 2 e Obesidade

A obesidade é considerada um dos mais graves problemas de saúde pública na atualidade. Sua prevalência vem crescendo acentuadamente nas últimas décadas, em taxas alarmantes, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Nos países da América Latina, constata-se um aumento marcante da prevalência de obesidade, principalmente na população de baixo nível sócio-

econômico levando-a à condição de epidemia global (PHILIP et al., 2001; KAIN; VIO; ALBALA, 2003; PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHÁ-JUNIOR, 2003).

A obesidade é considerada uma doença crônica multifatorial definida como o excesso de massa de tecido adiposo (KOLPEMAN, 2000). Responsável por desencadear um conjunto de desordens metabólicas com complicações vasculares, denominada de Síndrome Metabólica (IVKOVIC-LAZAR et al., 1992).

A obesidade aumenta o risco para doenças crônicas e é causa de mortes precoces. Estudos evidenciam que a obesidade está associada com maior risco de desenvolvimento de várias doenças como: Diabetes Mellitus tipo 2, câncer, doenças cardiovasculares (GUH et al., 2009). A relação entre obesidade e Diabetes Mellitus tipo 2 é bem estabelecida (CNOP et al., 2002). Foi demonstrado em estudo sobre a obesidade e desenvolvimento de doenças, que seu maior risco está relacionado ao Diabetes (WHITLOCK et al., 2009). Indivíduos com sobrepeso ou obesidade têm um aumento significativo no risco de desenvolver Diabetes, cerca de 3 vezes superior ao da população com peso considerado normal (CNOP et al., 2002).

Os danos causados pela obesidade nos diversos órgãos, são atribuídos a liberação de fatores na circulação sanguínea, com ação intra e inter celular e tecidual (SCHMIDT et al., 2005). Estes incluem diversas proteínas conhecidas como adipocinas, que exercem diferentes funções no controle fisiológico do organismo. Há liberação de peptídeos hormonais como leptina, adiponectina e resistina, citocinas inflamatórias produzidas pelo tecido adiposo (adipocitocinas) como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e fator transformador de crescimento (TGF), além de outras proteínas como o inibidor do ativador de plasminogênio e o fator de crescimento endotelial vascular – VEGF (BODEN, 1997; FORMIGUEIRA; CANTON, 2004; SCHERER, 2006). O tecido adiposo constitui um órgão endócrino e metabólico que pode alterar a fisiologia de outros tecidos (RAJALA, 2003). Nesse contexto obesidade tem sido reconhecida como um estado pró-inflamatório (SCHMIDT et al., 2005).

A resistência à insulina associada à obesidade é uma desordem complexa, onde diversas vias estão envolvidas, como vias endócrinas, inflamatórias e neurais, sendo prejudicadas e podendo modular a sinalização celular em diversos tecidos. Na obesidade, encontra-se resistência à ação da insulina em nível de

transporte de glicose, tanto em músculo esquelético quanto em tecido adiposo. O aumento da liberação de ácidos graxos livres, resistina, IL-6 e TNF- α pelo tecido adiposo e a redução da liberação de adiponectina contribuem para o surgimento da resistência à insulina na obesidade (PAPA; SERAPHIM; MACHADO, 1997; CALLE, 2004; GREENFIELD; CAMPBELL, 2004; QATANANI; LAZAR, 2007).

O que determina as alterações metabólicas com o desencadeamento de resistência a insulina é o local de acúmulo da adiposidade corporal, sendo a deposição de gordura visceral um dos principais responsáveis por esse processo (WEISS et al., 2007).

A adiposidade central parece estar associada mais freqüentemente à resistência à insulina, do que a distribuição centrífuga de gordura (obesidade periférica). O mecanismo pelo qual o acúmulo de gordura intra-abdominal (visceral) desencadeia o processo de resistência à insulina não está claro, embora existam hipóteses de que elevadas concentrações de ácidos graxos livres possam estar associadas ao processo (CNOP et al., 2002; GRECCO et al., 2002). Para Ashok (2002), o acúmulo de ácidos graxos livres poderia iniciar uma cascata metabólica, que resultaria na inibição da enzima fosfofrutoquinase, e no acúmulo de glicose-6-fosfato dentro das células musculares, o que desregularia o transporte de glicose.

Constatou-se que indivíduos que apresentam maior adiposidade central possuem maior quantidade de insulina circulante, em resposta a um estímulo de glicose. Possuem maior resistência à insulina e requerem maior quantidade de insulina (MUSCELLI et al., 1997).

Em geral, é o aumento excessivo de gordura que conduz ao estado de resistência à insulina, muitas vezes desencadeando um quadro de Diabetes Mellitus tipo 2. Isto ocorre porque, no indivíduo obeso, o tecido adiposo, principalmente o visceral, apresenta uma taxa metabólica muito elevada, com atividade de lipoproteína lipase e atividade lipogênica elevadas, favorecendo o acúmulo de gordura. Com o aumento da massa adiposa, sinais hormonais e inflamatórios próprios do adipócito diminuem a ação da insulina, o que favorece o aumento da atividade da lipase hormônio sensível. Conseqüentemente, a lipólise aumenta, elevando o *turnover* lipídico deste tecido, o que gera um aumento dos ácidos graxos livres (AGL) (TRIPATHI; SRIVASTAVA, 2006).

A preferência de utilização de ácidos graxos livres (AGL), derivado dos estoques de triglicérides como substrato energético, seria responsável pela diminuição da mobilização de glicose via glicogênio. Isto levaria a *feedback* negativo do glicogênio muscular e hepático sobre a atividade da glicogênio sintase e, conseqüentemente, no estoque de glicogênio. O resultado é a resistência periférica à ação da insulina e intolerância à glicose. O quadro de Diabetes desenvolve-se em obesos, após longo período de intolerância à glicose, quando a glicemia não mais retorna ao estado basal e há resistência à ação da insulina (FELBER; GOLAY, 1995).

Estudos também demonstraram que os ácidos graxos livres não esterificados podem ter papel importante na modulação da sensibilidade à insulina, sendo considerados como importante elo entre obesidade, resistência à insulina e Diabetes Mellitus tipo 2 (BODEN, 1997). Na maioria dos pacientes obesos as concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres estão elevadas, inicialmente devido ao aumento na lipólise promovida pela expansão da massa de tecido adiposo associada à perda do balanço energético, produzindo resistência à insulina hepática e periférica (DELARUE; MAGNAN, 2007).

A elevação dos AGL (ácidos graxos livres) estimula a neoglicogênese, aumentando a produção hepática de glicose, além de prejudicar a captação de glicose nos músculos esqueléticos (PETERSEN; SHULMAN, 2002). Esses efeitos, em conjunto, resultam em aumento da glicemia. Conseqüentemente, o pâncreas tende a responder secretando mais insulina, mas conforme a função das células β -pancreáticas evolui para a exaustão, a insulinemia tende a decair, e o indivíduo obeso passa a necessitar de tratamento medicamentoso para o combate aos sintomas causados pelo Diabetes (MORI, 2007).

4.3.2.1 Ação de Leptina e Adiponectina no Quadro de Obesidade

A síntese e secreção da leptina pelos adipócitos são influenciadas pelo estoque energético e é proporcional ao tamanho e número de adipócitos (SINDELAR et al., 1999). Outros fatores podem regular a síntese e secreção da leptina. É conhecido que a insulina, glicocorticóides e TNF- α estimulam sua liberação nos adipócitos, enquanto ácidos graxos livres, atividade p-adrenérgica e

PPAR- γ (receptor proliferador ativado de peroxissoma) inibem a liberação da leptina. A distribuição regional da massa adiposa corporal é outro fator importante na determinação da expressão da leptina nos adipócitos (LONNQVIST et al., 1997).

A ação da leptina sobre a homeostase energética ocorre através da modulação da ingestão calórica e gasto energético (BJORBAEK et al., 2004). A leptina funciona como um mecanismo de "retroalimentação negativa" proveniente do tecido adiposo agindo em áreas hipotalâmicas responsáveis pelo controle da ingestão alimentar (CAMPFIELD et al., 1995; FREDERICH et al., 1995; MAFFEI et al., 1995; AHIMA et al., 2000; KERSHAW et al., 2004), modulando o comportamento alimentar e aumentando o gasto energético (AHIMA et al., 2000; GIMENO et al., 2005) para reduzir o peso corporal (HALAAS et al., 1995). Esta ação pode ocorrer por modulação direta em duas populações de neuropeptídeos hipotalâmicos os orexigênicos e anorexigênicos (PELLYMOUNTER et al., 1995), reduzindo e aumentando sua expressão, respectivamente.

A adiponectina é uma citocina secretada pelos adipócitos e sua expressão é maior no tecido adiposo subcutâneo do que no tecido visceral (FAIN et al., 2004) e sua concentração sérica é inversamente proporcional à quantidade de massa de tecido adiposo, índice de massa corporal, concentração de insulina e triacilglicerol plasmático (COMUZZIE et al., 2001; WEYER et al., 2001). Em humanos e roedores, sua concentração no sangue é diminuída em condições de obesidade, resistência à insulina e Diabetes Mellitus do tipo 2 (OUCHI et al., 1999; HOTTA et al., 2000; TSAO et al., 2002). Quando a concentração de ADP está elevada apresenta efeitos anti-inflamatórios (KOPP et al., 2005).

4.4 MODELO DE OBESIDADE COM GLUTAMATO MONOSSÓDICO – MSG

O Glutamato monossódico é um aminoácido neuroexcitatório que, administrado em altas doses, torna-se tóxico ao sistema nervoso central por aumentar, de forma persistente, a condutância iônica da membrana, alterando o potencial de repouso normal. Na tentativa de restauração dos gradientes iônico e osmótico, há exaustão dos estoques energéticos e morte celular (COYLE et al., 1981).

A ação do Glutamato monossódico resulta em uma degeneração aguda do núcleo arqueado do hipotálamo levando, além da obesidade, à disfunção sexual, disfunção comportamental em roedores e déficit no crescimento (baixos níveis de GH- hormônio do crescimento. O hormônio GH é liberado pela hipófise, mas para que isto ocorra precisa ocorrer um estímulo do fator liberador do hormônio de crescimento, que é produzido no núcleo arqueado, mas devido a lesão causada pelo glutamato monossódico nesta região a ação do GH fica prejudica. Essa região é um potente local de ação da leptina. A leptina atravessa a barreira hemato-encefálica e inibe a ação dos peptídios orexígenos e estimula a ação dos peptídios que inibem o apetite (DAWSON, 1983; FAN et al., 1997; LU, 2001). Uma vez que essa região está lesada passa a ocorrer um desbalanço da ingestão alimentar, implicando em animais de menor porte e com menor apetite se comparado aos animais controle.

Foi demonstrado, em outros estudos, que a administração subcutânea de glutamato monossódico, é mais sensível, em animais no período neonatal, quando a barreira hematoencefálica não está totalmente desenvolvida (KIZER et al., 1977). As doses de MSG que levam ao desenvolvimento de obesidade visceral variam de 2 a 4 mg/g de peso do rato e podem ser administradas de 4 a 10 doses (DE MELLO et al., 2001).

Entretanto, as diferentes anormalidades endócrinas dos animais tratados com MSG acabam por determinar certo grau de aumento da eficiência metabólica e deficiência na ingestão alimentar (hipofagia) induzida pela toxicidade do MSG (HIRATA, 1997) e, deste modo, são animais normo ou hipofágicos, apesar do acúmulo de gordura visceral, que pode estar associado à atividade simpática e resposta termogênica reduzidas no tecido adiposo marrom, com menor gasto de energia, a qual se estoca sob a forma de gordura (MORRIS et al., 1998; VOLTERA et al., 2007). Este aumento de deposição de gordura no tecido adiposo branco está associado ao aumento no tamanho dos adipócitos (MACHO et al., 2000).

As atividades lipogênicas do fígado e tecido adiposo encontram-se elevadas, bem como a atividade da lipase lipoprotéica dos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal (NASCIMENTO CURI et al., 1991). Estes animais apresentam também altos níveis séricos de leptina, o que está associado à elevada quantidade de gordura, pois este hormônio, que atua de forma importante no controle da homeostase energética, diminuindo a ingestão alimentar e aumentando

o gasto de energia, é produzido pelos adipócitos, sendo tanto maiores as taxas de leptina circulante, quanto maior a adiposidade (AHIMA; FLIER, 2000).

As lesões geradas pelo MSG produzem a denominada obesidade hipotalâmica por meio de diversas alterações neuroendócrinas e metabólicas que contribuem para o desenvolvimento de hiperinsulinemia e resistência a insulina (HIRATA, 1997; PEREIRA, 2003). Além de hiperleptinemia, menor atividade da proteína trasportadora de glicose (GLUT-4) e menor atividade do tecido adiposo marrom (HIRATA, 1997).

4.5 PLANTAS MEDICINAIS

"[...] e o seu fruto servirá de alimento e a sua folha de remédio".

Velho Testamento – Ezequiel, 47: 12.

A utilização de plantas como medicamentos é tão antiga quanto a história da humanidade (MORS, 1982). Desde o início dos tempos, baseado em descobertas ao acaso, de forma empírica, o homem buscava na natureza uma maneira de tentar amenizar os males da saúde.

A aplicação de plantas medicinais como fonte de alívio para doenças pode ser percebida em documentos de civilizações primitivas na China, Índia e Europa. Acredita-se, portanto, que as farmacopéias tradicionais foram elaboradas ao longo de muitos séculos de experimentação onde o conhecimento empírico acumulado foi preservado e transmitido a gerações futuras (ELISABETSKY; SETZER, 1985).

Os povos primitivos propiciaram a identificação de espécies, gêneros, bem como das partes dos vegetais que se adequavam ao uso medicinal (LÉVI-STRAUSS, 1989).

Em virtude de eventos históricos, o estudo das plantas medicinais na Idade Média ficou estagnado por um longo período. Muitos escritos gregos foram esquecidos ou até perdidos e posteriormente recuperados em parte no início do século XVI (MARTINS et al., 2000).

Durante o século XIX, o uso das ervas ficou mais restrito, com o advento de medicamentos obtidos por meio de processos químicos industriais. No século XX,

nas guerras mundiais, o interesse pelas plantas medicinais voltou devido à necessidade de obter remédios eficazes e de baixo custo para múltiplas enfermidades (HOTESTTMANN et al., 2003).

No Brasil, o uso das plantas como medicamento teve influência das culturas indígena, africana e européia. A flora brasileira foi descoberta por cientistas estrangeiros, especialmente os naturalistas, que realizavam grandes expedições científicas no Brasil desde o descobrimento pelos portugueses até ao final do século XIX (DI STASI, 1996; SILVA, 2004).

As primeiras notificações fitológicas brasileiras são atribuídas ao padre José de Anchieta e a outros jesuítas. A influência européia teve início no Brasil com a vinda dos primeiros padres, em 1579. Informes sobre a medicina jesuítica, nos primeiros séculos da nossa colonização, mostram a importância das plantas como medicamento (MARTINS et al., 2000; SILVA, 2004). A cultura e o uso das plantas medicinais no Brasil pela população ocorreram em geral no decorrer de gerações, por meio da passagem de conhecimentos adquiridos pelos antepassados.

Há grande quantidade de plantas medicinais, em todas as partes do mundo, em especial no Brasil, devido a grande biodiversidade existente, vêm sendo utilizada a milhares de anos para tratamento de inúmeras doenças, contudo, os mecanismos na maioria das vezes são desconhecidos. Assim o estudo desses mecanismos e dos princípios ativos (substância ou conjunto delas que é responsável pelos efeitos terapêuticos) presentes nas plantas é uma das principais prioridades na busca de novas alternativas terapêuticas para diversas patologias existentes.

4.6 PLANTAS MEDICINAIS E DIABETES

Várias plantas e compostos derivados de plantas têm sido utilizados há muito tempo no tratamento do Diabetes, basicamente para controlar a glicemia dos pacientes. Diferentes plantas têm sido a origem para o desenvolvimento de medicamentos. E muitos fármacos disponíveis são derivados direta ou indiretamente destas fontes naturais (BONGIOLO, 2008).

Muito antes da descoberta da insulina, medicamentos tradicionais extraídos de plantas já eram utilizados para o controle do Diabetes (KEDAR;

CHAKRABARTI, 1983). Alguns medicamentos atualmente utilizados, como a metformina, no combate ao Diabetes tiveram como precursores produtos naturais. As biguaninas foram introduzidas em 1957 para o tratamento do Diabetes tipo 2, mas seu ancestral, *Galega officinalis*, rica em guanidina, a qual tem propriedades antidiabéticas e significativos efeitos adversos, já era utilizada desde a Idade Média (BAILEY, 1992).

A investigação destes conhecimentos seculares, com o uso de plantas com finalidades medicinais, por determinados grupos étnicos com o propósito de oferecer elementos que possam favorecer a descoberta de novos medicamentos é, entre outros, um dos objetivos da etnobotânica (ALBUQUERQUE, 2002), a qual pode ser entendida como uma disciplina científica que se ocupa da inter-relação entre plantas e populações humanas (ALBUQUERQUE, 1997).

4.7 GÊNERO *Baccharis*

O gênero *Baccharis* foi descrito por Linné em 1753, composto por mais de 400 espécies, com grande dispersão pela América Latina, principalmente no Brasil, destacando os estados do Paraná, Santa Catarina, São Paulo e Rio Grande do Sul (BREMER, 1994). Cerca de 98% dos gêneros são constituídos por plantas de pequeno porte, sendo encontradas em todos os tipos de habitat, mas principalmente nas regiões tropicais montanhosas (JOLY, 1998).

No Brasil estão descritas pelo menos 120 espécies de *Baccharis*, onde já foram realizados estudos químicos e algumas já obtiveram estudos com ensaios biológicos (BARROSO et al., 2002; VERDI et al., 2005).

O gênero é tido como fonte de vários compostos, tais como: sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e flavonóides (JARVIS et al., 1991). Os flavonóides juntamente com os diterpenos são os constituintes mais encontrados no gênero *Baccharis* (EMERENCIANO, 2001). Sendo utilizados para vários males como fonte terapêutica (JAKUPOVIC et al., 1990).

O estudo de espécies do gênero *Baccharis* tem mostrado grandes avanços, devido ao seu elevado valor sócio-econômico e seu grande uso na medicina caseira para o controle e tratamento de doenças. Utilizadas principalmente

na forma de chás com indicações para males do estômago, fígado, anemias, inflamações, diabetes, doenças na próstata, sendo também descritas como remédio para o processo de desintoxicação do organismo (CORREIA, 1984; VERDI et al., 2005).

Entre as espécies mais pesquisadas dentro do gênero *Baccharis*, quanto a sua composição química e atividade biológica, destacam-se: *B. dracunculifolia*, *B. megapotamica*, *B. incarum*, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. salicifolia*, *B. crispa*, *B. coridifolia*, *B. grisebachii* e *B. tricuneata* (VERDI et al., 2005).

4.7.1 *Baccharis dracunculifolia*

A planta medicinal *Baccharis dracunculifolia*, pertence a família Asteraceae que é o grupo sistemático mais numeroso dentro das Angiospermas, compreendendo cerca de 1.100 gêneros e 25.000 espécies, distribuídas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (BREMER, 1994; BARROSO et al., 2002). No Brasil a família está representada por cerca de 180 gêneros e 1.900 espécies (BARROSO et al., 2002).

São plantas de aspecto extremamente variado, incluindo principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores. É uma planta dióica com as inflorescências masculinas e femininas, cujo arbusto cresce em quase todo o Brasil (JOLY, 1998). As folhas apresentam formato lanceolado, com ápice agudo, base atenuada e nervura mediana aparente na face abaxial, caracterizadas como simples, inteiras, alternas, sésseis, uninérveas, verdes e membranáceas, medindo de 1-2 cm de comprimento e 3-4 mm de largura. O caule apresenta aspecto lenhoso e mede aproximadamente 2 m de altura e 5 mm de diâmetro (BUDEL, 2004).

A espécie *Baccharis dracunculifolia* denominada coletivamente de carqueja, é também popularmente conhecida como alecrim-do-campo, alecrim-de-vassoura, vassourinha, vassoureira, vassoura, erva-de-são-joão-maria, chilca, cilca e suncho thola (TAKEDA; FARAGO, 2001). A *B. dracunculifolia* tem sido a fonte botânica mais importante para produção de própolis verde, além de seus diferentes extratos (MIDORIKAWA et al., 2001; PARK et al., 2002; KUMAZAWA et al., 2003) para os quais, extratos e propólis, têm sido atribuídas inúmeras atividades biológicas.

4.7.2 Compostos de *Baccharis dracunculifolia*

Os diferentes extratos de *Baccharis dracunculifolia* já estudados apresentaram importantes tipos de compostos que foram utilizados em variados ensaios biológicos, buscando uma ação terapêutica eficaz.

Nos compostos fenólicos de *B. dracunculifolia* foi encontrada alta proporção de Artepillin C e outros derivados do ácido cinâmico (ALENCAR et al., 2005). A Artepillin C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico) foi também identificado em extratos etanólicos, que continham concentrações mais elevadas deste composto em comparação a outros constituintes químicos (PARK et al., 2004).

A análise do extrato mostrou ainda a presença de germacreno-D, biciclogermacreno, assim como derivados prenilados do ácido coumarínico (LOAYZA et al., 1995). Nos extratos aquosos da própolis de *B. dracunculifolia* e de partes da planta observou-se a presença do ácido 3,4-di-O-ácido-cafeoilquinico, ácido-3.5-di-O-cafeoilquinico e o ácido clorogênico. Além disso, 27 compostos incluindo os diterpenos labdânicos, compostos prenilados, flavonóides e outros fenólicos isolados previamente da própolis, foram identificados também no extrato metanólico de *B. dracunculifolia* (TEZUKA et al., 2003).

O diagnóstico do extrato feito por Rezende (2007), por cromatografia líquida de alta eficiência, permitiu a identificação dos compostos fenólicos: ácido cafeico, ácido p-coumárico, éter de aromadendrina-4'-O-metil, ácido 3-prenil-p-coumárico, 3,5-diprenil-p-coumárico (artepilin C) e baccharina.

Silva Filho et al. (2004) por meio do fracionamento cromatográfico das folhas, usando diversas técnicas, isolou os compostos isosakuranetina, aromadendrin-4'-metileter, ácido ferúlico, ácido diidrocinâmico, 3-prenil-4-(diidrocinnaoiloxi)-ácido cinâmico e friedelanol. Um sesquiterpeno novo, baccharisketona, e um monoterpene novo, acetato de p-metoxitímol, foram isolados das folhas de *B. dracunculifolia* junto com dezessete compostos conhecidos.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência da composição química do extrato de *B. dracunculifolia* revelou a presença principalmente de derivados ácidos e de flavonóides cinâmicos (LEMOS et al., 2007).

Estudo realizado com espécies da família Asteraceae, foram analisados a presença de variados constituintes químicos, destacando os compostos encontrados no extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* (conforme Tabela 01).

Tabela 01 – Nome popular, parte usada, rendimento (p/p) e prospecção química dos extratos da família Asteraceae.

Nome científico	Nome popular	Partes usadas ^a	Rendimento (p/p)	Classes de constituintes químicos ^b								
				Al	Tr	Es	Sa	Cu	Fe	Ta	Fl	An
<i>Acanthospermum australe</i>	Carrapicho rasteiro	F	11%	+	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Achillea millefolium</i>	Mil folhas	F	9%	+	-	+	-	-	+	-	+	-
<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Alecrim-do-mato	F	11%	-	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>Baccharis trimera</i>	Carqueja	F	8%	-	-	+	-	+	+	+	-	+
<i>Bidens segetum</i>	Picão do mato	F	10%	-	-	+	-	-	+	+	+	+
<i>Bidens segetum</i>	Picão do mato	I	8%	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>Eupatorium laevigatum</i>	Camara	F	13%	+	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>Galinsoga ciliata</i>	Picão-branco	F	12%	+	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>Matricaria chamomilla</i>	Camomila	F	8%	-	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>Vernonia condensata</i>	Boldo-da-Bahia	F	18%	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Taraxacum officinale</i>	Dente-de-leão	F	7%	+	-	+	-	+	+	-	+	-

^aPartes usadas: F: folhas; I: inflorescências. ^bClasses de constituintes químicos: Al - Alcaloides; Tr - Triterpenoides; Es - Esteroides; Sa - Saponinas; Cu - Cumarinas; Fe - Fenois; Ta - Taninos; Fl - Flavonóides; An - Antraquinonas.

Fonte: Fabri et al. (2011, p. 185).

Sendo assim, observa-se, nos estudos realizados, que os diferentes e inúmeros compostos já identificados e descritos em pesquisas com *B. dracunculifolia* corroboram para crescentes estudos de extratos da planta direcionados para a busca de componentes ativos presentes na mesma que possam auxiliar no tratamento de doenças crônicas.

5 ESTUDOS REALIZADOS SOBRE O TEMA – ESTADO DA ARTE

A construção deste tópico teve como propósito central apresentar a configuração do campo de pesquisa sobre estudos que se dedicaram à investigação da aplicação de plantas medicinais no tratamento de diferentes patologias.

Para tanto, as pesquisas científicas descritas na sequência estão organizadas de acordo com os diversos aspectos abordados neste estudo, distribuídas em dois eixos específicos, que são: i) *B. dracunculifolia* na terapêutica de doenças; e ii) Plantas medicinais como hipoglicemiantes.

5.1 ESTUDOS DE *B. dracunculifolia* NA TERAPÊUTICA DE DOENÇAS

Fabri et al. (2011) teve por objetivo averiguar a atividade antimicrobiana e antioxidante in vitro de extratos metanólicos de plantas pertencentes a Asteraceae, a maioria comumente utilizada na medicina tradicional. A prospecção química dos extratos também foi realizada. Foi avaliada a atividade antimicrobiana e a atividade antioxidante.

O resultados obtidos destacaram que o extrato da folha de *Baccharis dracunculifolia* apresentou significativa atividade antimicrobiana para *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* e *Cryptococcus neoformans*. Os extratos das folhas de *Bidens segetum* e *Matricaria chamomilla* foram seletivos para *Shigella sonnei* e *P. aeruginosa*. Já as folhas de *Acanthospermum australe* e *Baccharis trimera* apresentaram atividade significativa apenas para *Candida albicans*, enquanto as folhas de *Taraxacum officinale* foram ativos contra ambas leveduras (FABRI et al., 2011).

Em relação à atividade antioxidante, os extratos das folhas de *B. dracunculifolia*, *T. officinale* e das inflorescências de *B. segetum* apresentaram significativa atividade antioxidante. A prospecção química dos extratos identificou presença de compostos como flavonóides, terpenos e outros que podem ser responsáveis pelas atividades observadas (FABRI et al., 2011).

Leitão et al. (2004), realizou um estudo que teve por objetivo a utilização do extrato da folha de *B. dracunculifolia* e o extrato verde da própolis, contra culturas

de *Streptococcus mutans*. Ambos os extratos produziram efeito bacteriostático em culturas de *Streptococcus mutans* na concentração de 0,40mg/mL.

Os resultados demonstraram que o extrato da folha de *B. dracunculifolia* e os extratos verdes da própolis têm efeitos inibitórios similares nos fatores cariogênicos de *S. mutans*, e permite sugerir que as folhas de *B. dracunculifolia* pode ser uma fonte potencial de produtos farmacêuticos empregados para esta finalidade (LEITÃO et al., 2004).

Em outro estudo, Da Silva Filho et al. (2004) teve por objetivo a análise da bioatividade da substância tripanocida extraída de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). O extrato de *B. dracunculifolia*, na concentração de 3,0mg/mL, apresentou 100% de lise de formas tripomastigotas da cepa Y de *Trypanosoma cruzi*.

O fracionamento cromatográfico da folha, utilizando diversas técnicas, proporcionando o isolamento dos compostos isosakuranetin (1), aromadendrin-4'-methylether (2), *Baccharis* óxido (3), ácido ferúlico (4), ácido dihydrocinnamic (5), 3-prenil-4-(dihydrocinnamoyloxy)-ácido cinâmico (6), e friedelanol (7). Compostos 1 e 3 foram os mais ativos no ensaio tripanocida, mostrando os valores CI₅₀ (concentração inibitória requerida para a inibição de 50%) de 247,6 e 249,8microM, respectivamente. Compostos 2, 4, e 6 exibiram atividade moderada, enquanto os compostos 5 e 7 foram inativos (DA SILVA FILHO et al., 2004).

Menezes (2005) avaliou a atividade anti-inflamatória do extrato aquoso de *B. dracunculifolia*, utilizando o modelo de pleurisia (inflamação das pleuras pulmonares) induzida por zimozan em camundongos. O extrato bruto foi preparado a partir de folhas secas e administrado na dose de 200mg/Kg por sonda gástrica em camundongos fêmea Balb/c, nos tempos de 1h e 5min antes da injeção de 500µg de zimosan na cavidade peritoneal. Após 4h da inoculação do zimosan os animais foram sacrificados e avaliados os leucócitos totais, diferenciais e extravasamento de azul de Evans no líquido peritoneal.

De acordo com o autor o tratamento 5min antes da inoculação de zimosan, foi capaz de inibir o acúmulo de linfócitos totais, e o acúmulo específico de mononucleares, neutrófilos e eosinófilos, mas não foi capaz de inibir o extravasamento de azul de Evans. Já o tratamento de 1h antes do inóculo de

zimosan foi capaz de inibir somente o acúmulo de leucócitos totais e o acúmulo específico de neutrófilos; não havendo inibição no acúmulo de mononucleares, eosinófilos e no extravasamento de azul de Evans (MENEZES, 2005).

Menezes (2005), conclui que o extrato bruto aquoso de *B. dracunculifolia* possui atividade anti-inflamatória, e é mais potente quando, concomitantemente, administrado ao estímulo da inflamação.

O estudo realizado por Fukuda et al. (2006), teve por objetivo analisar compostos isolados do extrato etanólico de *B. dracunculifolia* na inativação da atividade do crescimento dos compostos isolados contra células de leucemia (L 1210). Os resultados concluíram que três terpenos fenólicos e cinco álcoois sesquiterpênicos exibiram forte atividade citotóxica frente as células de leucemia.

Lemos et al. (2007), testou a propriedade anti-ulcerogênica do extrato hidroalcoólico de partes aéreas *B. dracunculifolia*. A análise por HPLC da composição química do extrato de *B. dracunculifolia* utilizada neste estudo revelaram a presença principalmente de derivados de ácido cinâmico e de flavonóides.

Doses de 50, 250 e 500mg/Kg de *B. dracunculifolia* extrato bruto e controles positivos (omeprazol ou cimetidina) diminuíram significativamente o índice de lesão, a área total da lesão e a porcentagem da lesão em comparação com grupos controle negativos. A porcentagem de inibição da úlcera foi significativamente maior nos grupos tratados com *B. dracunculifolia*, cimetidina ou omeprazol, com todos os protocolos utilizados, em comparação com grupos controle negativos (LEMOS et al., 2007).

Em relação ao modelo de secreção gástrica, as reduções no volume de suco gástrico e a acidez total foram observados, bem como um aumento no pH gástrico. Embora mais investigações sejam necessárias, os resultados sugerem que *B. dracunculifolia* tem potencial para ser usado como fitoterápico para o tratamento de úlcera gástrica (LEMOS et al., 2007).

5.2 ESTUDOS DE PLANTAS MEDICINAIS COMO HIPOGLICEMIANTES

O estudo de Lino et al. (2004), teve por objetivo o estudo dos extratos aquoso, etanólico e hexânico de *Bauhinia forficata* em modelos de animais diabéticos, induzidos por aloxano. Na indução do Diabetes a aloxana foi administrada via peniana, na dose de 60mg/Kg. Após 48h foi medido o nível de glicose sanguínea dos animais, e índice superior a 200mg/dL foram colocados no grupo diabético. Os tratamentos foram realizados por 7 dias nas doses de 200mg/Kg e 400mg/Kg, via gavagem.

Os resultados obtidos apontaram que o uso dos extratos aquoso, etanólico e hexânico reduziram glicose, triglicérides, colesterol total e níveis de HDL-colesterol. Demonstrando a validade do uso clínico de *Bauhinia forficata* no tratamento de Diabetes Mellitus tipo 2 (LINO et al., 2004).

Kiss et al. (2005) objetivou no presente trabalho estudar a influência do tratamento com *Allium sativum*, planta conhecida popularmente como alho, sobre parâmetros bioquímicos em ratas com Diabetes grave, induzido por streptozotocina. Para a indução do Diabetes nas ratas foi utilizado a streptozotocina intravenosa na veia caudal, na dose de 4mg/Kg. Após 8 dias mediu-se a glicemia dos animais, quando o índice glicêmico foi superior a 200mg/dL foram iniciados os tratamentos com o extrato. Na preparação do extrato foram utilizados 40g de bulbos triturados em 200mL de água. O tratamento com a planta durou 28 dias, na dose de 200mg/Kg e 400mg/Kg, via gavagem.

O extrato aquoso de *Allium sativum* (alho) em animais diabéticos tratados na dose de 200mg/Kg não mostrou redução significativa da glicemia ao longo do experimento. No entanto os animais tratados na dose de 400mg/Kg apresentaram redução de 13% na glicemia. Ambas as dosagens apresentaram melhoras nos perfis lipídicos, especialmente colesterol e LDL. O alho mostrou-se eficiente nas condições experimentais analisadas, podendo ser utilizado como terapia complementar em pacientes diabéticos (KISS et al., 2005).

O estudo realizado por Oliveira (2005) teve por objetivo a análise dos efeitos dos extratos e frações de *Baccharis trimera* e *Syzygium cumini* na glicemia

de ratos diabéticos e não diabéticos. Extratos aquoso, etanólico e butanólico foram avaliados.

A pesquisa demonstrou que nenhum dos extratos e frações nas doses de (200 ou 2000mg/Kg) induziu qualquer efeito em administração aguda. No entanto os extratos administrados durante sete dias diminuíram a glicemia de ratos não diabéticos. Porém, este efeito estava associado com uma redução de entrada de comida e peso de corpo e indica que este pode não ser um efeito hipoglicemiante genuíno (OLIVEIRA, 2005).

O tratamento com o extrato aquoso (2000mg/Kg) de *B. trimera*, durante sete dias, reduziu a glicemia de animais diabéticos. Os resultados sugerem que *Baccharis trimera* apresenta uma atividade antidiabética potencial (OLIVEIRA, 2005).

Em seu estudo Cavalli et al. (2007) teve como objetivo avaliar o potencial hipoglicemiante, de extratos obtidos da raiz e folha de bardana, *Arctium minus* (Asteraceae), em animais Diabéticos induzidos por aloxana. A indução do Diabetes nos animais foi realizada por aloxana na dose de 42mg/Kg por via intravenosa na veia caudal. Após sete dias a glicemia foi mensurada, e animais que apresentaram glicemia superior a 190mg/dL foram considerados diabéticos. O tratamento com o extrato foi realizado nas doses de 200mg/Kg e 500mg/Kg, durante 21 dias, via gavagem.

O estudo demonstrou que o extrato bruto de *Arctium minus* (bardana), principalmente da raiz, diminuiu os níveis plasmáticos de glicose, com potência semelhante ao medicamento sintético glibenclamida. Comprovando assim o princípio hipoglicemiante da planta (CAVALLI et al., 2007).

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 ANIMAIS

Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados 32 ratos machos, albinos da linhagem Wistar. A formação dos grupos ocorreu a partir da aquisição de ratas prenhas no biotério da empresa TECPAR. Das ninhadas oriundas das ratas foram separados os machos para serem utilizados no experimento. Os animais foram acondicionados em local apropriado desde o nascimento até completarem 180 dias de vida, momento em que se iniciaram os tratamentos, com a administração do extrato da planta em estudo.

Os animais foram mantidos em local com temperatura controlada, em torno de 21 +/- 2°C, com fotoperíodo de 12 claro/12 escuro, acondicionados em gaiolas plásticas, com bebedouro de 800mL, sendo tratados com ração Purina® para roedores. A água e a ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento. No decorrer do estudo, semanalmente, medidas da evolução do peso corporal, consumo de água e consumo de ração, foram realizadas para a verificação e acompanhamento do desenvolvimento dos animais.

6.2 INDUÇÃO DA OBESIDADE COM MSG

Os animais neonatos, pesando em torno de 7-8g, receberam injeção de glutamato monossódico (MSG), durante cinco dias consecutivos (2º, 3º, 4º, 5º e 6º dias), no dorso, via subcutânea, na dose de 4mg/g de peso corporal, para indução da obesidade (OLNEY, 1969).

Os Controles salina receberam injeção de NaCl no dorso via subcutânea, quando neonatos, na dose equimolar do MSG, durante 5 dias consecutivos (2º, 3º, 4º, 5º e 6º dias).

Figura 02 – Aplicação de MSG em ratos neonatos e Kit para administração MSG.



Fonte: A autora.

Figura 03 – Aplicação de SALINA em ratos neonatos e Kit para administração SALINA.



Fonte: A autora.

6.3 MATERIAL BOTÂNICO

A seleção de espécies medicinais para investigação farmacológica pode ser realizada por três critérios de abordagem: randômica, a qual consiste em não utilizar quaisquer critérios para a seleção de plantas, ou seja, elas são investigadas aleatoriamente sempre que houver disponibilidade de espécies; etnofarmacológica, que seleciona plantas de acordo com o uso terapêutico alegado por um determinado grupo étnico; e quimiotaxonômica ou filogenética, na qual são selecionadas espécies de acordo com a ocorrência de uma dada classe química de substâncias em um gênero ou família, o que favorece a obtenção de substâncias químicas conhecidas a partir de novas fontes ou de outras ainda não exploradas (ELISABETSKY; MORAES, 1988).

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

A planta *Baccharis dracunculifolia* foi coletada durante o mês de abril de 2011, na Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Campus Irati, nas coordenadas 25°32'07.24" de latitude sul e 50°39'42.39" de longitude oeste. Foram levadas para o Laboratório de Bioquímica do Exercício, localizado no mesmo Campus, para iniciar o processo de preparação do extrato.

A exsicata da planta foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa – HUPG e registrada com o número 18173.

Figura 04 – Exemplos de *Baccharis dracunculifolia*.



Fonte: A autora.

6.4 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O processo de secagem da planta ocorreu de forma natural, em varais, durante 10 dias. O emprego de material vegetal seco, devido a sua maior estabilidade química, exige cuidados especiais, a fim de interromper os processos metabólicos que ocorrem mesmo após a coleta da planta. A secagem tem por finalidade a retirada de água e com isso impedir reações de hidrólise e de crescimento microbiano (MARTINS et al., 2000; SIMÕES et al., 2010).

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

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

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

Após este teste a planta foi submetida ao processo de extração por agitação orbital. Foram feitas amostras utilizando 50g das folhas moídas para cada 220mL de metanol, que permaneceram por uma semana no agitador, totalizando 1100g de planta pulverizada. Posteriormente, a solução foi filtrada. O filtrado foi então evaporado inicialmente em rotaevaporador a uma temperatura controlada (60° C) e, em seguida, em banho maria (durante 3 dias) com temperatura de 37°C, para retirada do solvente (metanol). Depois o extrato foi diluído em solução de "Tween 80" (veículo) e água destilada, na proporção 1/8. A diluição do extrato teve que ser realizado com solução de "Tween" uma vez que o mesmo não se diluiu em água, tal procedimento visa facilitar a administração nos animais via gavagem.

Figura 05 – Exemplares de *Baccharis dracunculifolia* em processo de secagem e pulverização.



Fonte: A autora.

Figura 06 – Teste de umidade da planta *B. dracunculifolia*.



Fonte: A autora.

Figura 07 – Agitação orbital do extrato da planta *B. dracunculifolia*.



Fonte: A autora.

Figura 08 – Processo de filtragem do extrato da planta *B. dracunculifolia*.



Fonte: A autora.

6.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais foram divididos em 4 grupos compostos por 8 animais, com acondicionamento de 4 animais por caixa. Os grupos foram divididos da seguinte maneira: grupos CONTROLE (CS – Controle Salina e CP – Controle Planta) e grupos MSG (MS – MSG Salina e MP – MSG Planta).

- CONTROLE (CS) – composto por 8 animais, com 180 dias de vida, tratados com solução de “Tween 80” e água destilada;
- CONTROLE (CP) – composto por 8 animais, com 180 dias de vida, tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*;
- MSG (MP) – composto por 7¹ animais, com 180 dias de vida, tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*; e
- MSG (MS) – composto por 6² animais, com 180 dias de vida, tratados com solução de “Tween 80” e água destilada.

Os animais foram mantidos em condições ideais no laboratório desde o nascimento até o final dos experimentos. Quando atingiram 180 dias de vida foram iniciados os tratamentos. Os grupos Controle (CS) e MSG (MS) receberam uma solução com “Tween 80” em dose única diária, por gavagem durante 30 dias. E os animais dos grupos Controle (CP) e MSG (MP) receberam o extrato metanólico em

¹ 01 animal morreu durante o processo de gavagem.

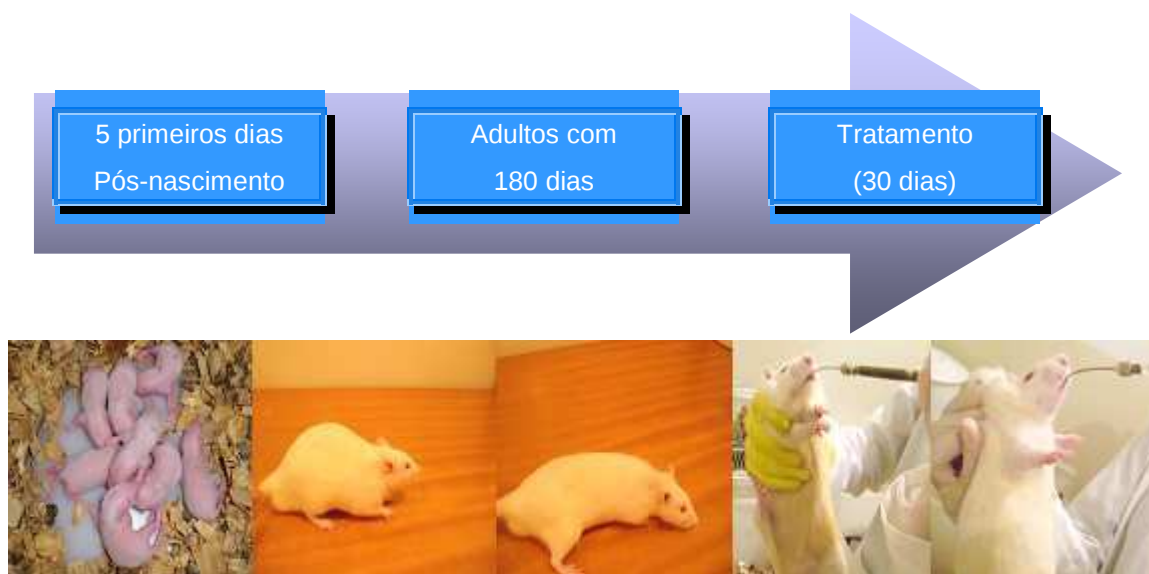
² 2 animais morreram ainda neonatos, durante a aplicação de MSG.

dose única diária na dosagem de 400mg/Kg de peso corpóreo, diluída em solução de “Tween 80” e água destilada, por gavagem durante 30 dias.

O controle de peso dos animais foi realizado semanalmente, durante todo o experimento, com o auxílio de uma balança digital. Foram oferecidos diariamente em cada gaiola, 300g de ração, sendo verificado o consumo a partir da diferença entre a oferta inicial e a oferta final, do mesmo modo os animais recebiam 700mL de água diariamente, sendo o consumo verificado pela diferença entre a oferta inicial e a final.

Ao final dos tratamentos os animais, com 210 dias, foram sacrificados sendo realizada coleta de sangue para análise dos parâmetros bioquímicos, coleta de rim e fígado, retirada das gorduras (mesentérica, retroperitoneal, periepídidimal e inguinal), além do isolamento de ilhotas pancreáticas.

Figura 09 – Esquema do protocolo experimental.



Fonte: A autora.

6.6 ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS

Após o sacrifício realizou-se a laparotomia (abertura da cavidade abdominal). Em seguida a porção final do ducto pancreático foi fechada e a porção inicial canulada, para infusão de 10mL de solução tampão Hanks, pH7,4, contendo collagenase (1mg/mL) e albumina bovina fração V (0,1%). O pâncreas perfundido foi transferido para tubos falcon e incubados por 15 minutos em banho-maria a 37°C. A

suspensão obtida foi filtrada e submetida a sucessivas lavagens e centrifugações (1000rpm) em tampão Hanks, descartando-se o sobrenadante. Em seguida, as ilhotas foram transferidas para placas de Petri e com auxílio de lupa e pipeta realizou-se a contagem para posterior incubação.

6.7 INCUBAÇÃO DAS ILHOTAS E SECREÇÃO DE INSULINA

As ilhotas previamente selecionadas foram transferidas em grupos de 4, para poços contendo 1mL de solução tampão Krebs Normal pH7,4, albumina (0,1%) e glicose 5,6mM por 60 minutos, e mantidas, em pré-incubação, em estufa contendo mistura gasosa de O₂/CO₂ (95/5%). Posteriormente, a solução de pré-incubação foi descartada e substituída pelas soluções testes. A incubação final consistiu de mais 60min onde foram analisados 4 grupos de animais, sendo controle salina (CS), controle planta (CP), MSG salina (MS) e MSG planta (MP). Cada grupo foi testado com três concentrações crescentes de glicose (5,6mM, 8,3mM e 16,7mM). As alíquotas da incubação foram utilizadas para dosagem de insulina por radioimunoensaio (RIE).

Figura 10 – Contagem das ilhotas pancreáticas feita em microscópio ótico para incubação em placas de cultura.



Fonte: A autora.

6.8 CARACTERIZAÇÃO DA OBESIDADE

Para a confirmação da eficácia do tratamento com MSG, foi avaliada a obesidade através da determinação do Índice de Lee – peso corporal^{1/3} (g)/comprimento naso-anal (cm) e do peso relativo (g/100g de peso corporal) das

gorduras mesentérica, retroperitoneal, periepididimal e inguinal para avaliação do acúmulo de gorduras.

6.9 EVOLUÇÃO PONDERAL

Os animais foram pesados semanalmente, desde o 30º dia de vida até completarem 210 dias, para avaliação da evolução ponderal.

6.10 PERFIL LIPÍDICO

Para a determinação do perfil lipídico os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e em seguida foram sacrificados para coleta de amostras de 2,0 mL de sangue, centrifugadas a 1000rpm. O soro foi separado e utilizado para as determinações descritas a seguir, que foram realizadas pelo Kit Labtest diagnóstica S.A[®].

6.10.1 Determinação do Colesterol Sérico

A determinação do colesterol total foi realizada por método enzimático, utilizando-se alíquotas de 10µL de soro. Neste método o colesterol-oxidase catalisa a oxidação do colesterol produzindo o peróxido de hidrogênio. Este, por meio de uma reação oxidativa catalisada pela peroxidase, reage com a 4-aminoantipirina e fenol produzindo a antipirilquinonimina vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de colesterol na amostra. Os resultados foram expressos em mg/dL.

6.10.2 Determinação Sérica de HDL Colesterol

A determinação foi realizada por método enzimático, com alíquotas de 500µL de soro. Os resultados foram expressos em mg/dL.

6.10.3 Determinação Sérica de LDL Colesterol

A partir das concentrações séricas de HDL colesterol, determinadas

utilizando-se método enzimático e VLDL, foram calculadas as concentrações de LDL colesterol.

6.10.4 Determinação Sérica de VLDL Colesterol

A partir da concentração sérica de triglicérides, determinada pelo método enzimático da glicerol-3-fosfato-oxidase, foram calculadas as concentrações de VLDL colesterol.

6.10.5 Determinação de Triglicerídeo Sérico

Os triglicerídeos foram determinados pelo método enzimático da glicerol-3-fosfato-oxidase, utilizando-se alíquotas de 10µL de soro coletado. Neste método os triglicerídeos sofrem ação de lipases resultando na molécula de glicerol, e este é posteriormente convertido a glicerol-3-fosfato. A glicerol-3-fosfato-oxidase catalisa a oxidação do glicerol-3-fosfato produzindo o peróxido de hidrogênio. Este, por meio de uma reação oxidativa catalisada pela peroxidase, reage com a 4-aminoantipirina e fenol produzindo a antipirilquinonimina vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de triglicerídeos na amostra. Os resultados foram expressos em mg/dL.

6.10.6 Determinação das Concentrações Séricas de Glicose e Insulina

Após centrifugação as alíquotas de soro foram utilizadas para dosagem de glicose e insulina. A concentração de glicose sanguínea foi determinada pelo método enzimático-colorimétrico glicose-oxidase (Kit glicose E enzimática). A concentração de insulina foi determinada por radioimunoensaio (RIE).

6.11 COLETA DE RIM E FÍGADO

Após o sacrifício foram realizadas coleta e pesagem do rim direito e do fígado de todos os animais, visando a análise comparativa das pesagens de tais órgãos entre os grupos de animais obesos e controle.

6.12 TESTE DE TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina* (CL50)

A CL50 é obtida por análise de regressão linear e pode ser definida como o nível de dose na qual morrem 50% dos tratados. A determinação da CL50, por qualquer que seja a via selecionada para administração, servirá de subsídio para a escolha da dose eficaz 50% (DI STASI, 1996).

Para a realização do teste de toxicidade da planta utilizada no estudo, visando a segurança da dose para os animais, foi realizado o teste com *Artemia salina*. O ensaio com um microcrustáceo foi proposto como um substituto mais barato e simples, para ensaios citotóxicológicos com células (HOSTETTMANN; QUEIROZ; VIEIRA, 2003).

O extrato bruto de *B. dracunculifolia* foram testados segundo a metodologia de Meyer et al. (1982). Foram utilizadas 60mg do extrato bruto dissolvidos em 30mL de metanol. As soluções foram homogeneizadas e para o volume final foram adicionados 5mL de solução salina, obtendo-se concentrações de 25, 50, 100, 150, 250, 500, 750 e 1000µg/mL (Figura 11).

As larvas de *A. salina* foram incubadas durante 24h sob iluminação artificial e temperatura controlada para eclodirem. Posteriormente foram transferidas 10 larvas para tubos de ensaio contendo solução salina (controle negativo), dicromato de potássio 0,1% (controle positivo) e o extrato nas diferentes concentrações. Após 24 e 48h contou-se os microcrustáceos mortos. A CL50 foi obtida por meio do gráfico da % de animais mortos em função do logaritmo da dose testada. O teste foi realizado em triplicata.

Para obtenção dos valores de CL50 foi utilizada a análise PROBIT por meio do software STATPLUS[®] 2007 (MELO, 2008).

Figura 11 – Teste de toxicidade com *Artemia salina*. 1 – extrato de *B. dracunculifolia*; 2 – pesagem extrato; 3 – solução de extrato e metanol; 4 – tubos de ensaios com as concentrações testadas; 5 – ovos de *Artemia salina* em processo de eclosão; 6 – ovos do microcústáceo *Artemia Salina*.



Fonte: A autora.

6.13 TESTE DE TOLERÂNCIA

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

Figura 12 – Caixa de contenção para animais, produzida para coleta de sangue.



Fonte: A autora.

6.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média e erro padrão da média (epm), com a utilização do programa estatístico Graphpad Prism na versão 5.0 para Windows. As análises foram realizadas utilizando o teste 't' student, no caso de comparação de duas médias, ou análise de variância (ANOVA) seguido do post test de Bonferroni. O nível de significância aceitável foi de $p < 0,05$.

7 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados estão organizados em um capítulo correspondente ao artigo científico:

Capítulo I

Análise do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* em modelo de animais obesos MSG

Resumo

Nos últimos anos o Diabetes vem ganhando grandes proporções, devido a mudanças nos hábitos de vida das pessoas, má alimentação e sedentarismo, que são fatores centrais no desenvolvimento da doença. Para tanto, várias espécies de plantas vêm sendo utilizadas etnofarmacologicamente ou em ensaios clínicos para tratar e ou combater os sintomas do Diabetes Mellitus. O presente estudo utilizou o extrato metanólico da planta *Bracharis dracunculifolia* (alecrim do campo), pertencente a família Asteraceae, com o objetivo de avaliar o efeito de sua administração na obesidade hipotalâmica em modelo de animais MSG. A metodologia se baseou na preparação do extrato metabólico de *B. dracunculifolia*, por meio de processos de secagem, pulverização, agitação orbital do extrato em metanol, filtração e rotaevaporação além do teste de toxicidade do extrato frente a *Artemia salina*. Para a obtenção de animais MSG, foram aplicados nos animais ainda neonatos injeção de glutamato monossódico (MSG), durante cinco dias consecutivos, na dose de 4mg/g de peso corporal, para indução da obesidade. O tratamento com o extrato metanólico foi realizado nos animais aos 180 dias de vida, durante 30 dias. Foi avaliado o peso, consumo de água e ração durante todo o experimento. E após os animais terem sido sacrificados realizou-se o isolamento de ilhotas pancreáticas, que foram incubadas em concentrações crescentes de glicose (5,6mM; 8,3mM; 16,7mM). Os resultados obtidos no estudo demonstraram baixa toxicidade do extrato de *B. dracunculifolia*. Os animais MSG obtiveram indução da obesidade comprovada pelo aumento do Índice de Lee, e maior teor de gorduras viscerais e subcutânea em relação aos controles. Os animais MSG apresentaram menor peso, consumiram menos água e menos ração e apresentaram intolerância a glicose. Os parâmetros bioquímicos não obtiveram diferenças significativas, com exceção dos triglicerídeos que apresentou-se maior nos animais MSG, não tendo o extrato conseguido restaurar este parâmetro. No isolamento de ilhotas pancreáticas, os animais MSG que receberam o extrato de *B. dracunculifolia* apresentaram uma secreção significativa de insulina pelas ilhotas isoladas, ressaltando que na concentração de 8,3mM e 16,7mM foi obtida maior secreção de insulina. Conclui-se que o extrato metanólico de *B. dracunculifolia* obteve efeito significativo da secreção de insulina, no isolamento de ilhotas pancreáticas, ressaltando os resultados obtidos no grupo MSG (MP), que se apresentaram hiperinsulinêmicos, devido a uma possível melhora do stress oxidativo, destacando-se o alto teor antioxidante presente no extrato de *B. dracunculifolia* utilizado no estudo.

Palavras-chave: *B. dracunculifolia*, glutamato monossódico, ilhotas pancreáticas.

Introdução

Nos últimos anos o Diabetes vem ganhando grandes proporções, destacando-se como uma epidemia mundial (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2011). A mudança nos hábitos de vida das pessoas, com o advento de uma alimentação mais calórica e a falta da prática de exercícios físicos, são fatores centrais no desenvolvimento de estados patológicos dentre os quais destaca-se o Diabetes.

Dados demonstram que o Diabetes é uma doença fatal, mortalidade em torno de 3 milhões de pessoas a cada ano em todo o mundo, e grande morbidade, devido a maior propensão que os pacientes diabéticos tem em desenvolver complicações crônicas, como cardiopatias, nefropatias, neuropatias e retinopatias (PETERSEN; SHULMAN, 2006; OMS, 2011). Evidências experimentais e clínicas, demonstram que as complicações advindas dos distúrbios metabólicos, provém principalmente da hiperglicemia (RANG et al., 2004).

Existem no mundo cerca de 285 milhões de pessoas diabéticas. Aproximadamente 90% destas são acometidas pelo Diabetes Mellitus não-insulino dependente ou Diabetes tipo 2, estando o Brasil entre os 10 países com mais casos da doença, em torno de 10 milhões de pacientes. Estima-se que se a progressão da doença se mantiver, em 2030 haverá uma prevalência de 435 milhões de indivíduos diabéticos, sendo a maioria localizada em países em desenvolvimento (WILD et al., 2004; SBD, 2011;).

Devido ao grande número de casos, a doença pode ser vista como um problema de saúde pública mundial, uma vez que causa um enorme ônus aos cofres públicos, em torno de 400 milhões de dólares, advindos dos gastos com tratamento. Conforme observaram Pinheiro et al. (2006) ressaltando que a incidência de Diabetes Mellitus na atualidade atinge grandes proporções, demandando um alto custo tanto econômico quanto social. Nesse sentido, atenção especial tem sido dispensada aos diferentes níveis preventivos da doença. Para tanto, várias espécies de plantas vêm sendo utilizadas etnofarmacologicamente ou em ensaios clínicos para tratar e ou combater os sintomas do Diabetes Mellitus (IVORRA, 1989).

Segundo Albuquerque (2002) o objetivo da etnofarmacologia é pesquisar e verificar para qual propósito as plantas medicinais são utilizadas com a finalidade de fornecer ferramentas que possam auxiliar na descoberta de novos fármacos, podendo ainda contribuir com a melhoria da qualidade de vida da população, auxiliando na busca de alternativas cada vez mais eficazes e promissoras para os tratamentos de patologias que mais assolam a população atualmente, como é o caso do Diabetes.

A utilização das plantas medicinais, para tratamentos de doenças, é uma prática muito antiga, sendo encontrada ao longo da história em todas as populações mundiais e em diferentes grupos étnicos conhecidos. A partir deste uso popular é que foram descobertos diversos medicamentos utilizados na medicina tradicional, constituindo-se um importante recurso para a descoberta de novos fármacos (MARTINS, 2000; BUSSMANN, 2009).

Com o passar do tempo tem ocorrido um enorme avanço no ramo científico envolvendo estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais na busca de compostos com propriedades terapêuticas, visto que grande parte do arsenal de vegetais disponível para a descoberta de possível utilização medicinal, ainda não foi explorado (CHECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

No Brasil a população tem um importante conhecimento etnobotânico e etnofarmacológico em decorrência da miscigenação do povo, decorrente dos colonizadores e escravos vindos do oriente somados ao conhecimento indígena local (FERREIRA, 2002). Tais observações populares em relação ao uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das propriedades terapêuticas dos vegetais, principalmente em virtude dos efeitos medicinais que produzem (MACIEL et al., 2002).

Portanto, o contexto apresentado demonstra e reforça a importância de estudos com plantas medicinais com o objetivo de identificar substâncias ativas, ressaltando que o uso indiscriminado das plantas pela população pode trazer riscos, por isso é importante a realização de testes de toxicidade na busca de uma terapêutica eficaz, trazendo assim um maior conforto e melhor qualidade de vida aos pacientes.

Material e Métodos

Animais

Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados 32 ratos machos, albinos da linhagem Wistar. Os animais foram acondicionados em local apropriado desde o nascimento até completarem 180 dias de vida, momento em que se iniciaram os tratamentos, com a administração do extrato da planta em estudo.

Os animais foram mantidos em local com temperatura controlada, em torno de 21 +/- 2°C, com fotoperíodo de 12 claro/12 escuro, acondicionados em gaiolas plásticas, com bebedouro de 800mL, sendo tratados com ração Purina® para roedores. A água e a ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento. No decorrer do estudo foram realizadas pesagens dos animais e da ração consumida por eles, além de medido o consumo de água semanalmente para verificação e acompanhamento do desenvolvimento dos animais.

Indução da obesidade com glutamato monossódico

Os animais neonatos, pesando em torno de 7-8g, receberam injeção de glutamato monossódico (MSG), durante cinco dias consecutivos (2º, 3º, 4º, 5º e 6º dias), no dorso, via subcutânea, na dose de 4mg/g de peso corporal, para indução da obesidade (RODRIGUEZ-SIERRA et al., 1980).

Os Controles salina receberam injeção de NaCl no dorso via subcutânea, quando neonatos, na dose equimolar do MSG, durante 5 dias consecutivos (2º, 3º, 4º, 5º e 6º dias).

Material Botânico

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

A planta *Baccharis dracunculifolia* foi coletada durante o mês de abril de 2011, na Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Campus Irati, nas coordenadas 25°32'07.24" de latitude sul e 50°39'42.39" de longitude oeste. Foram

levadas para o Laboratório de Bioquímica do Exercício, localizado no mesmo campus, para iniciar o processo de preparação do extrato.

A exsicata da planta foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa – HUPG e registrada com o número 18173.

Preparação do extrato metanólico

O processo de secagem da planta ocorreu de forma natural, em varais, durante 10 dias. Na sequência, as plantas secas foram desfolhadas, moídas (pulverizadas), peneiradas e acondicionadas em recipientes plásticos, para posterior preparação do extrato.

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

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

Protocolo Experimental

Os animais foram divididos em 4 grupos compostos por 8 animais, com acondicionamento de 4 animais por caixa. Os grupos foram divididos da seguinte maneira: CONTROLE (CS) – composto por 8 animais, com 180 dias de vida, tratados com solução de “Tween 80” e água destilada; CONTROLE (CP) – composto por 8 animais, com 180 dias de vida, tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*; MSG (MP) – composto por 7³ animais, com 180 dias de vida, tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*; e MSG (MS) – composto por 6⁴ animais, com 180 dias de vida, tratados com solução de “Tween 80” e água destilada.

Os animais foram mantidos em condições ideais no laboratório desde o nascimento até a idade de 180 dias, quando foram iniciados os tratamentos. Os grupos Controle (CS) e MSG (MS) receberam uma solução com “Tween 80” em dose única diária, por gavagem durante 30 dias. E os animais dos grupos Controle (CP) e MSG (MP) receberam o extrato metanólico em dose única diária na dosagem de 400mg/Kg de peso corpóreo, diluída em solução de “Tween 80” e água destilada, por gavagem durante 30 dias.

O controle de peso dos animais foi realizado semanalmente, durante todo o experimento, com o auxílio de uma balança digital. Foram oferecidos diariamente em cada gaiola, 300g de ração, sendo verificado o consumo a partir da diferença entre a oferta inicial e a oferta final, do mesmo modo os animais recebiam 700mL de água diariamente, sendo o consumo verificado pela diferença entre a oferta inicial e a final.

Ao final dos tratamentos os animais com 210 dias, foram sacrificados sendo realizada coleta de sangue para análise dos parâmetros bioquímicos, coleta de rim e fígado para confecção de laminas histológicas, retirada das gorduras (mesentérica, retroperitoneal, periepídidimal e ingnal), além do isolamento de ilhotas pancreáticas.

³ 01 animal morreu durante o processo de gavagem.

⁴ 2 animais morreram ainda neonatos, durante a aplicação de MSG.

Isolamento de ilhotas pancreáticas

Após o sacrifício realizou-se a laparotomia (abertura da cavidade abdominal). Em seguida a porção final do ducto pancreático foi fechada e a porção inicial canulada, para infusão de 10 mL de solução tampão Hanks, pH 7,4, contendo collagenase (1mg/mL) e albumina bovina fração V (0,1%). O pâncreas perfundido foi transferido para tubos falcon e incubados por 15 minutos em banho-maria a 37°C. A suspensão obtida foi filtrada e submetida a sucessivas lavagens e centrifugações (1000 rpm) em tampão Hanks, descartando-se o sobrenadante. Em seguida, as ilhotas foram transferidas para placas de Petri e com auxílio de lupa e pipeta realizou-se a contagem para posterior incubação.

Incubação das ilhotas e secreção de insulina

As ilhotas previamente selecionadas foram transferidas em grupos de 4, para poços contendo 1 mL de solução tampão Krebs Normal pH 7,4, albumina (0,1%) e glicose 5,6 mM por 60 minutos, e mantidas, em pré-incubação, em estufa contendo mistura gasosa de O₂/CO₂ (95/5%). Posteriormente, a solução de pré-incubação foi descartada e substituída pelas soluções testes. A incubação final consistiu de mais 60min onde foram analisados 4 grupos de animais, sendo controle salina (CS), controle planta (CP), MSG salina (MS) e MSG planta (MP). Cada grupo foi testado com três concentrações crescentes de glicose (5,6 mM, 8,3 mM e 16,7 mM). As alíquotas da incubação foram utilizadas para dosagem de insulina por radioimunoensaio (RIE).

Caracterização da obesidade

Para a confirmação da eficácia do tratamento com MSG, foi avaliada a obesidade através da determinação do Índice de Lee – peso corporal^{1/3} (g)/comprimento naso-anal (cm) e do peso relativo (g/100g de peso corporal) das gorduras mesentéricas, retroperitonal, periepídidimal e inguinal para avaliação do acúmulo de gorduras.

Evolução ponderal

Os animais foram pesados semanalmente, desde o 30º dia de vida até completarem 210 dias, para avaliação da evolução ponderal.

Perfil lipídico

Para a determinação do perfil lipídico os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e em seguida foram sacrificados para coleta de amostras de 2,0 mL de sangue, centrifugadas a 1000 rpm. O soro foi separado e utilizado para as determinações descritas de: Colesterol Sérico; HDL Colesterol; LDL Colesterol; VLDL Colesterol; Triglicerídeo Sérico; Concentrações Séricas de Glicose e Insulina, que foram realizadas pelo Kit Labtest diagnóstica S.A[®].

Teste de toxidade frente à artemia salina (CI50)

A CL50 é obtida por análise de regressão linear e pode ser definida como o nível de dose na qual morrem 50% dos tratados. A determinação da CL50, por qualquer que seja a via selecionada para administração, servirá de subsídio para a escolha da dose eficaz 50% (DI STASI, 1996).

Para a realização do teste de toxidade da planta utilizada no estudo, visando a segurança da dose para os animais, foi realizado o teste com *Artemia salina*. O ensaio com um microcrustáceo foi proposto como um substituto mais barato e simples, para ensaios citotóxicológicos com células (HOSTETTMANN; QUEIROZ; VIEIRA, 2003).

O extrato bruto de *B. dracunculifolia* foram testados segundo a metodologia de Meyer et al. (1982). Foram utilizadas 60mg do extrato bruto dissolvidos em 30mL de metanol. As soluções foram homogeneizadas e para o volume final foram adicionados 5mL de solução salina, obtendo-se concentrações de 25, 50, 100, 150, 250, 500, 750 e 1000 µg/ml (Figura 11).

As larvas de *A. salina* foram incubadas durante 24h sob iluminação artificial e temperatura controlada para eclodirem. Posteriormente foram transferidas 10 larvas para tubos de ensaio contendo solução salina (controle negativo),

dicromato de potássio 0,1% (controle positivo) e o extrato nas diferentes concentrações. Após 24 e 48h contou-se os microcrustáceos mortos. A CL₅₀ foi obtida por meio do gráfico da % de animais mortos em função do logaritmo da dose testada. O teste foi realizado em triplicata.

Para obtenção dos valores de CL₅₀ foi utilizada a análise PROBIT por meio do software STATPLUS® 2007 (MELO, 2008).

Teste de tolerância

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

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média e erro padrão da média (epm), com a utilização do programa estatístico Graphpad Prism na versão 5.0 para Windows. As análises foram realizadas utilizando o teste "t" student, no caso de comparação de duas médias, ou análise de variância (ANOVA) seguido do post test de Bonferroni. O nível de significância aceitável foi de $p < 0,05$.

Resultados

7.1 TESTE DE TOXICIDADE

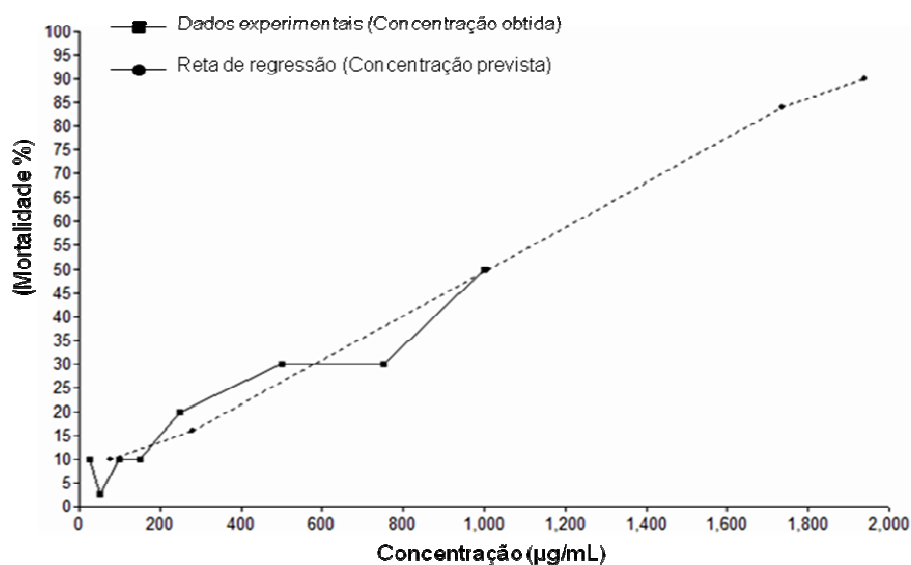
Os resultados demonstraram que para 24 e 48 horas (1008,51ug/mL e 921,32ug/mL respectivamente), (Gráfico 01 e Gráfico 02) o extrato de *Baccharis dracunculifolia* precisou de uma alta concentração para ser considerado letal. Por outro lado, o controle positivo com dicromato de potássio, obteve alta toxicidade,

matando muitos microcrustáceos no período de 24h (69,33ug/mL), (Gráfico 03). No período de 48h a estimativa da concentração letal foi negativa (-555,02ug/mL), (Gráfico 04) neste caso entende-se que uma mínima concentração seria suficiente para matar 50% dos organismos. A comparação realizada entre o extrato de *Baccharis dracunculifolia* e dicromato de potássio em relação aos sobreviventes (Gráfico 05 e Gráfico 06), reafirma o que já foi exposto acima, que a concentração letal de *Baccharis* precisa ser alta e a de dicromato baixa para matar grande quantidade de microcrustáceos.

Esses resultados anuem com outros dados da literatura que demonstram que a própolis de *B. dracunculifolia* apresenta uma toxicidade dependente da concentração sobre células NIH-3T3 (linhagem celular estabelecida a partir de culturas de embriões) de fibroblastos de ratos, assim como o extrato, óleo e própolis de *B. dracunculifolia* não mostraram atividade citotóxica contra células HEP2 (FUNARI, 2006; BUFALO, 2010).

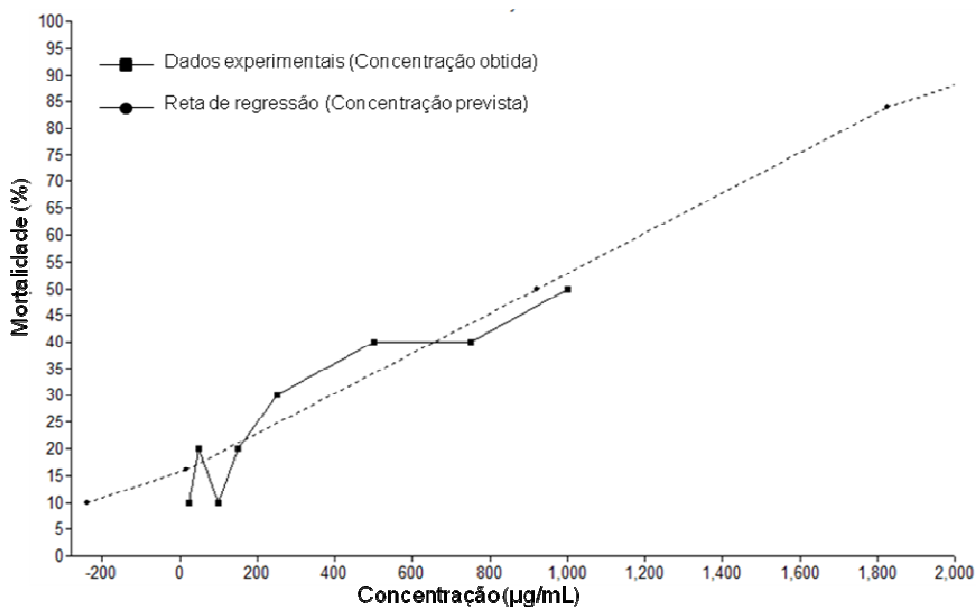
Os resultados demonstram que o extrato de *B. dracunculifolia* apresenta baixa toxicidade frente à *Artemia salina*, podendo ser utilizado com uma dose segura em alta concentração em bioensaios in vitro e in vivo.

Gráfico 01 – Curva concentração-resposta da mortalidade de *Artemia salina* ao extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* após 24 horas. CL50 = 1008,51µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.



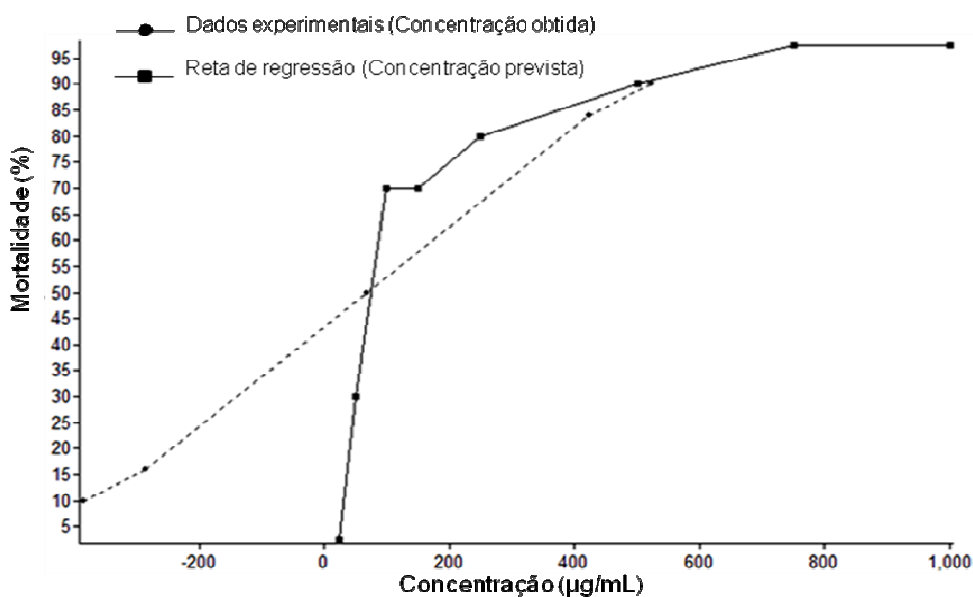
Fonte: Dados primários do experimento.

Gráfico 02 – Curva concentração-resposta da mortalidade de *Artemia salina* ao extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* após 48 horas. CL50 = 921,32µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.



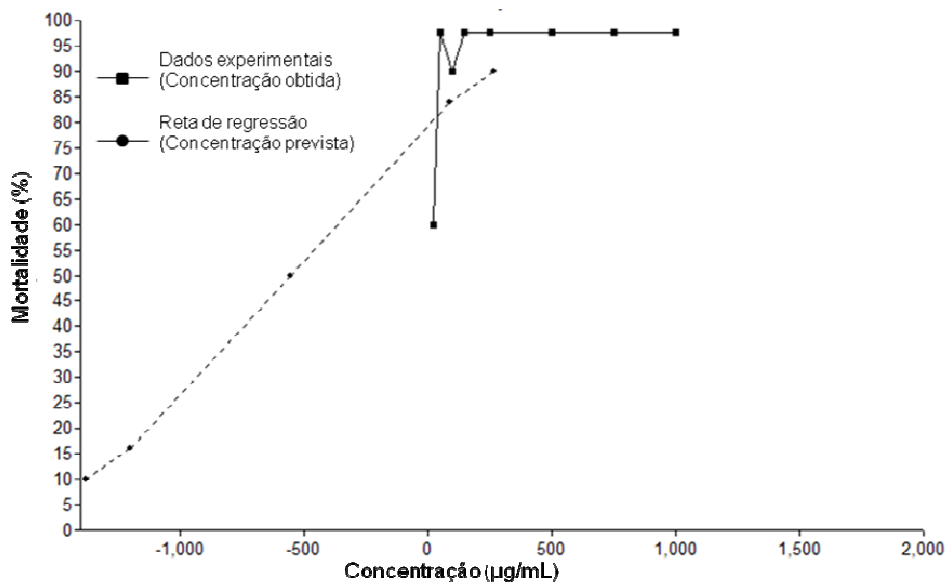
Fonte: Dados primários do experimento.

Gráfico 03 – Curva concentração-resposta da mortalidade de *Artemia salina* ao dicromato de potássio (controle positivo) após 24 horas. CL50 = 69,33µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.



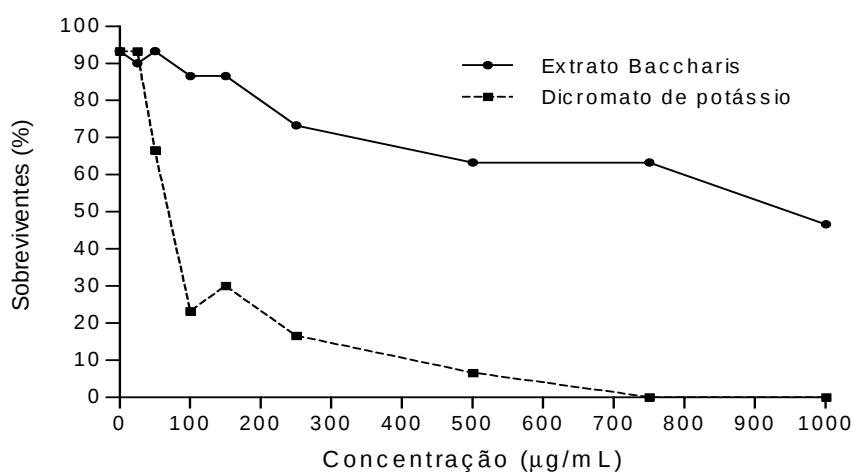
Fonte: Dados primários do experimento.

Gráfico 04 – Curva concentração-resposta da mortalidade de *Artemia salina* ao dicromato de potássio (controle positivo) após 48 horas. CL50 = -555,02µg/mL (Análise de Regressão Probit). CL – Concentração letal.



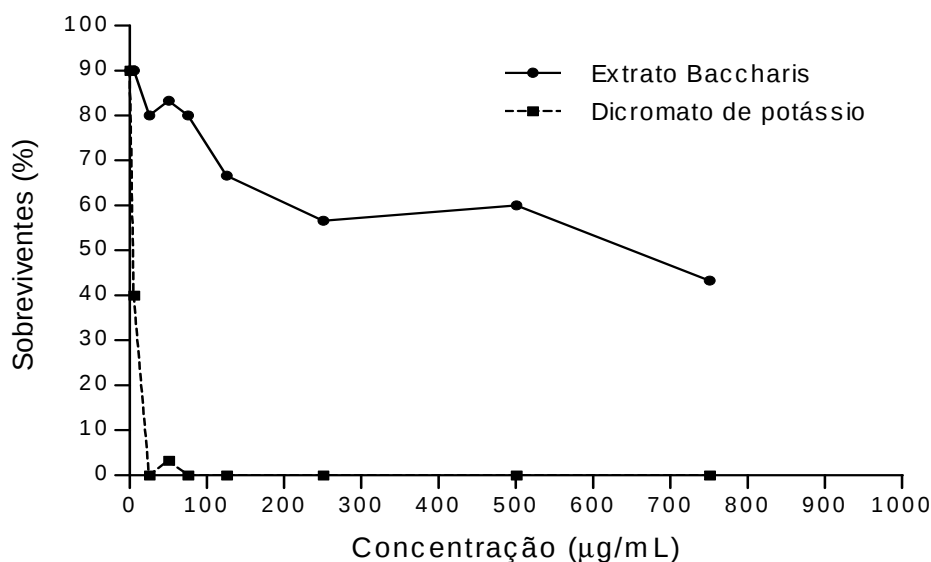
Fonte: Dados primários do experimento.

Gráfico 05 – Curvas dose-resposta da sobrevivência de *Artemia salina* ao extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* e dicromato de potássio (controle positivo) após 24 horas.



Fonte: Dados primários do experimento.

Gráfico 06 – Curvas dose-resposta da sobrevivência de *Artemia salina* ao extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* e dicromato de potássio (controle positivo) após 48 horas.



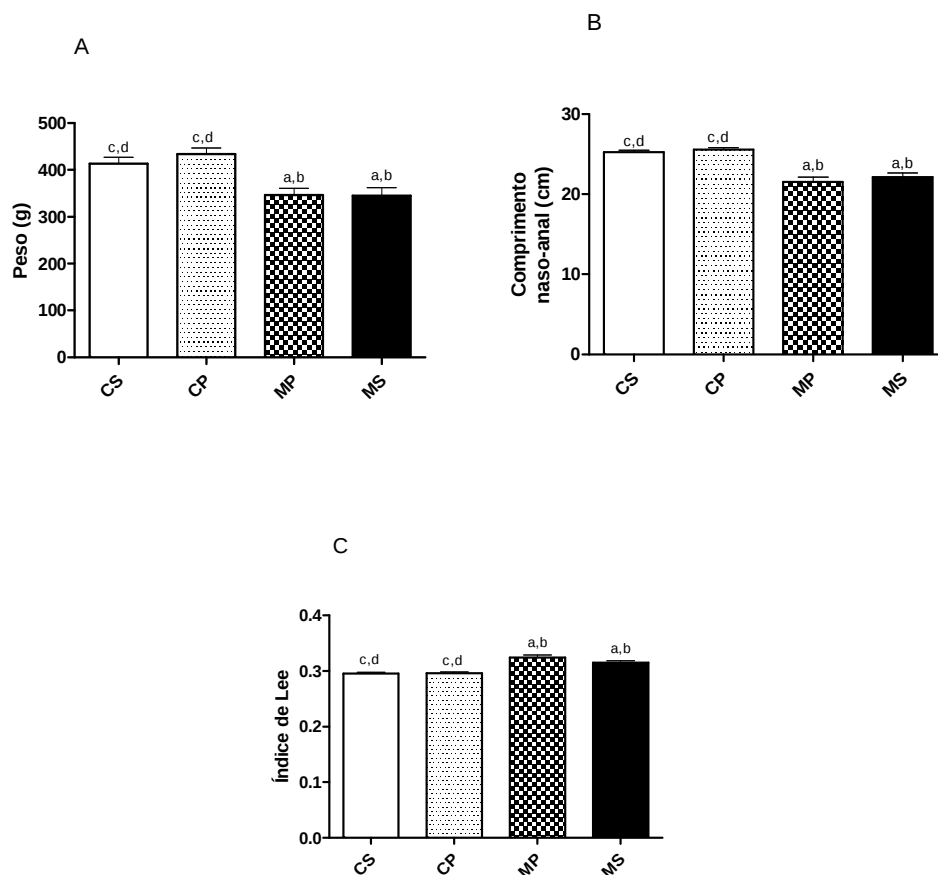
Fonte: Dados primários do experimento.

7.2 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE LEE

O Índice de Lee foi obtido a partir dos dados de peso e comprimento naso-anal dos animais, contidos no Gráfico 07 (A e B). Os animais tratados com glutamato monossódico (MSG) apresentaram aumento significativo do Índice de Lee em relação aos animais controle (Gráfico 07C), caracterizando a indução da obesidade nos animais MSG.

Os grupos MSG apresentaram um Índice de Lee de 7% (MS) e 10% (MP) maior em relação aos animais controle da mesma idade. O tratamento com o extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* não promoveu redução do Índice de Lee nos animais tratados.

Gráfico 07 – Peso final, comprimento naso-anal e Índice de Lee, dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).



Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os gráficos A e B representam os dados de peso e comprimento naso-anal que foram utilizados para o calculo de Índice de Lee, gráfico C, através da fórmula $[(\text{peso corporal}^{1/3} (\text{g}) / \text{comprimento naso-anal (cm)})]$. Os símbolos acima das barras indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS.

Fonte: Dados primários do experimento.

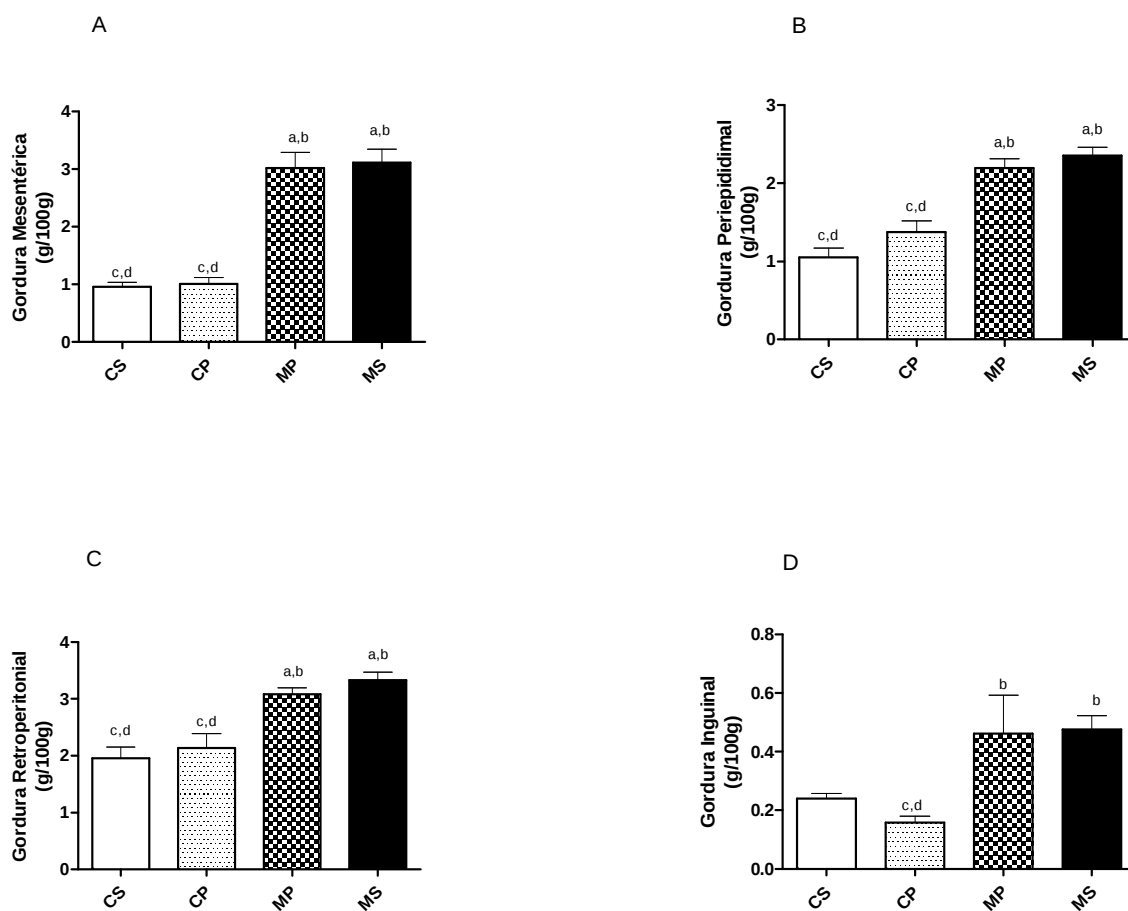
7.3 GORDURAS

Outro fator relacionado à caracterização da obesidade diz respeito ao peso relativo das gorduras presentes no organismo. Desse modo, observou-se a partir dos resultados que os animais dos grupos MSG apresentaram aumento

significativo do teor de gorduras viscerais e subcutânea, comparando-se ao encontrado nos animais dos grupos controle (Gráfico 08).

A análise dos dados ressalta um índice de significância de 200% maior de gorduras mesentéricas, encontradas nos grupos MSG, em relação aos controle. E na comparação do teor de gordura periepídídima apresentou-se 100% maior comparando-se os grupos CS e MSG, e 60% comparando CP e MSG. E a gordura retroperitoneal apresentou índice superior a 55% comparando CS e MSG, e 45% comparando CP e MSG, e no teor de gordura subcutânea (inguinal) superior a 190% comparando CP e MSG. O tratamento com o extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* não promoveu redução significativa do teor de gorduras dos animais tratados, controle (CP) e MSG (MP).

Gráfico 08 – Peso relativo das gorduras mesentérica, retroperitoneal, periepídídima e inguinal dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).



Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima das barras indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS.

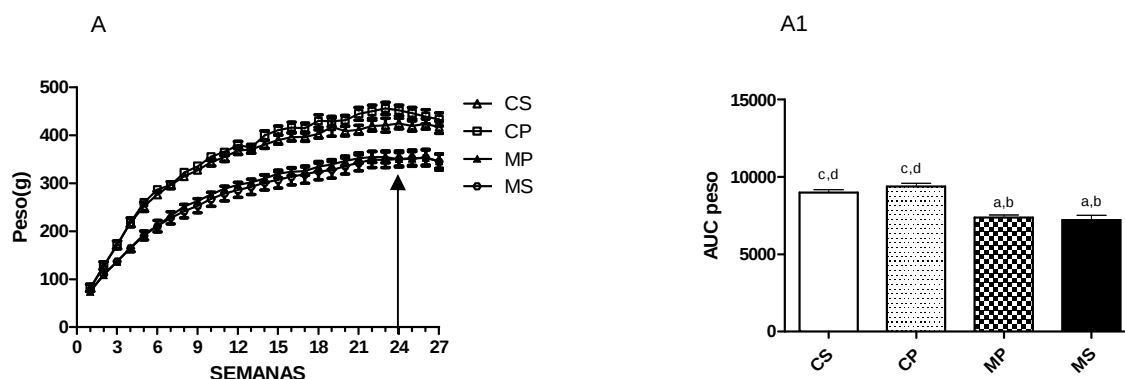
Fonte: Dados primários do experimento.

7.4 EVOLUÇÃO PESO, ÁGUA E RAÇÃO

7.4.1 Evolução ponderal

O peso corporal dos animais durante as 27 semanas do experimento foi diferenciado entre os grupos controle e MSG (Gráfico 09). Comparando a evolução de peso corporal entre os grupos de estudo foi apresentada uma diminuição significativa de 20% no ganho de peso nos animais MSG em relação aos animais controle.

Gráfico 09 – Curva do ganho de peso e área sob a curva (AUC) dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).



Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima das barras indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS. A medida foi realizada semanalmente a partir do 30º dia de vida dos animais até o final do experimento com animais de 210 dias, total de 27

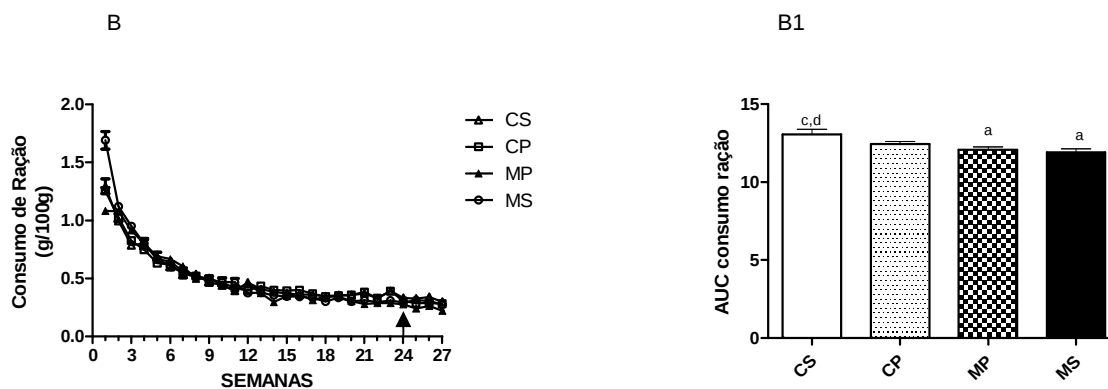
semanas. A seta no gráfico representa o início dos tratamentos, iniciado na 24^a semana.

Fonte: Dados primários do experimento.

7.4.2 Consumo de Ração

O consumo de ração obtido durante 27 semanas do experimento apresentou diferença significativa no consumo entre os animais controle e MSG. Ressaltando que os animais controle (CS) apresentaram um consumo 8% maior em relação ao MSG (MP) e de 9,66 % em relação ao grupo MSG (MS) (Gráfico 10).

Gráfico 10 – Consumo de ração dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).



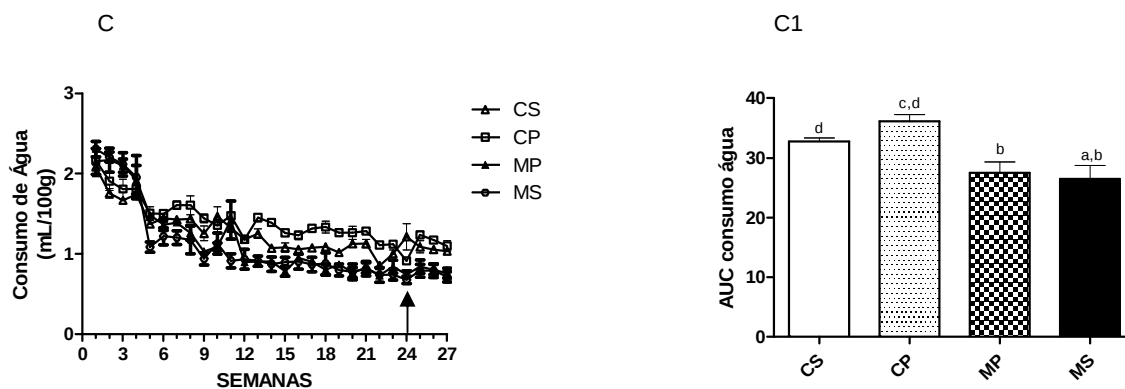
Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima das barras indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS. A medida foi realizada semanalmente a partir do 30º dia de vida dos animais até o final do experimento com animais de 210 dias, total de 27 semanas. A seta no gráfico representa o início dos tratamentos, iniciado na 24^a semana.

Fonte: Dados primários do experimento.

7.4.3 Consumo de Água

O consumo de água obtido durante 27 semanas do experimento apresentou diferença significativa no consumo entre os animais controle e MSG. Ressaltando que os animais controle (CS) apresentaram um consumo de 16% maior em relação ao MSG (MP) e o controle (CP) apresentou maior consumo (22%) em comparação com os grupos MSG (MP/MS) (Gráfico 11).

Gráfico 11 – Consumo de água dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).



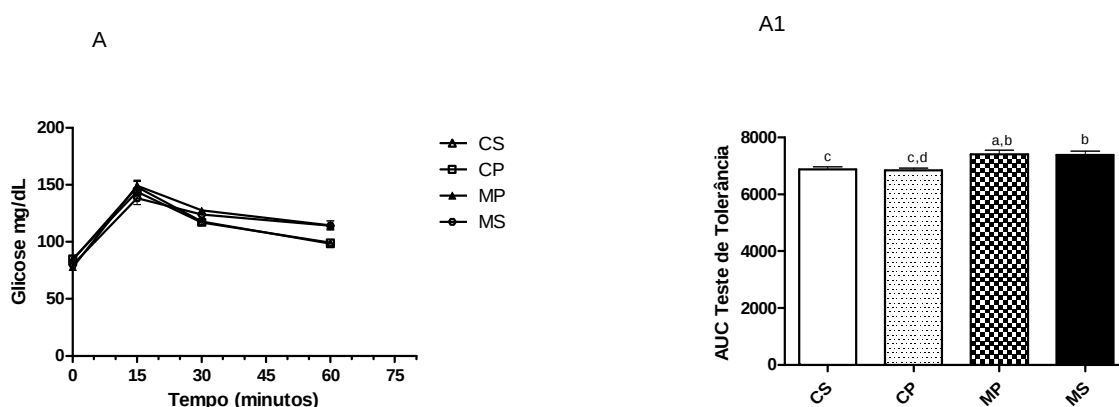
Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima das barras indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS. A medida foi realizada semanalmente a partir do 30º dia de vida dos animais até o final do experimento com animais de 210 dias, total de 27 semanas. A seta no gráfico representa o início dos tratamentos, iniciado na 24ª semana.

Fonte: Dados primários do experimento.

7.5 AVALIAÇÃO DO TESTE DE TOLERÂNCIA

No teste de tolerância a glicemia basal (T0) não diferiu entre os animais controle (CS e CP) e os grupos MSG (MS e MP). O pico máximo ocorreu em T15, e as concentrações de glicose começaram a decair após este tempo. Pode-se ressaltar que os animais MSG (MP) obteve aumento significativo da área sob a curva da concentração de glicose na porcentagem de 7,64% em comparação com o controle (CS) e de 8,2% em relação a (CP). E os MSG (MS) apresentaram aumento significativo de 5,5% na área sob a curva da concentração de glicose em relação a (CP). O tratamento com o extrato de *B. dracunculifolia* não corrigiu esta alteração (Gráfico 12A e A1).

Gráfico 12 – Curvas glicêmicas e área sob a curva (AUC) obtidas no Teste de Tolerância dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).



Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima das barras indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS. A medida foi realizada após 12h de jejum alimentar, nos tempos T=0, T=15, T=30 e T=60.

Fonte: Dados primários do experimento.

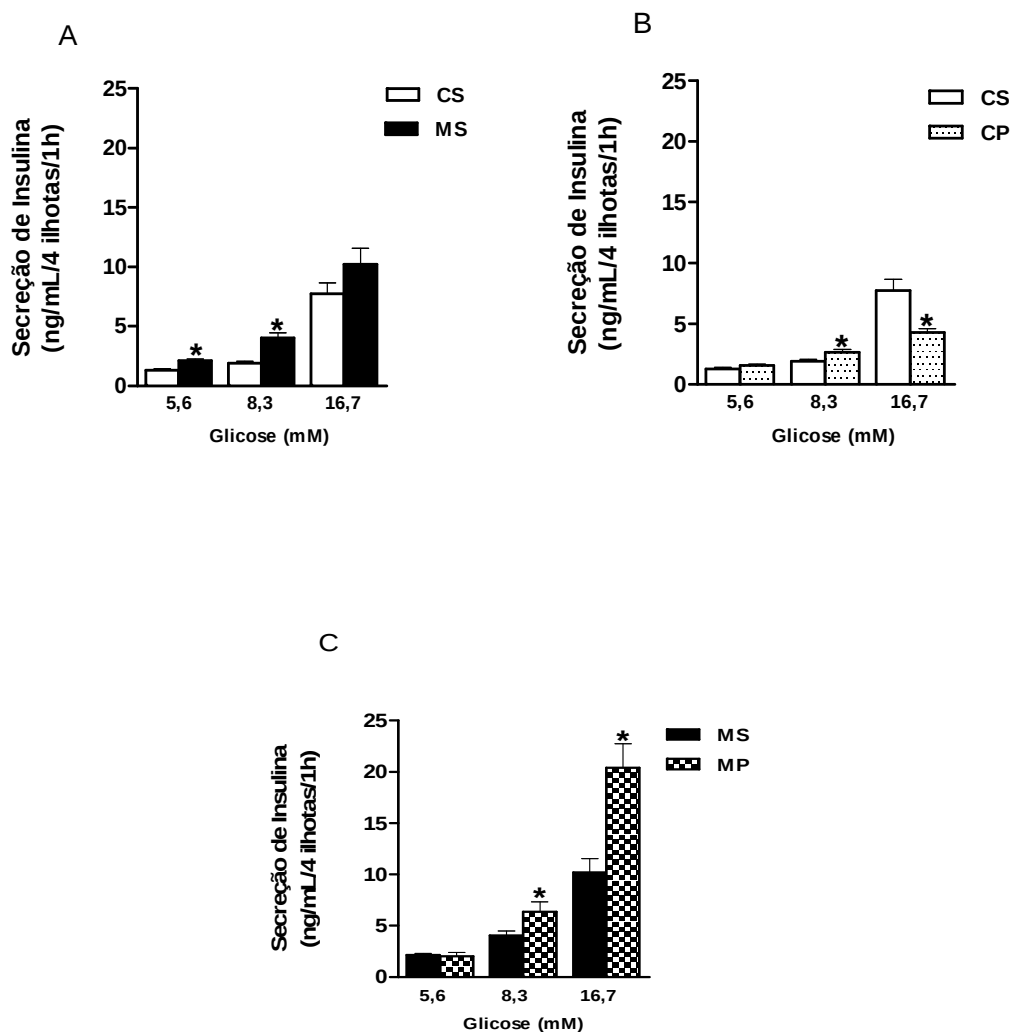
7.6 SECREÇÃO DE INSULINA EM ILHOTAS PANCREÁTICAS ISOLADAS

Os dados apresentados (Gráfico 13A) demonstraram que os animais MSG (MS) secretaram mais insulina em comparação com os animais controle (CS), apresentando aumento de 63% e 107% na secreção de insulina nas concentrações de glicose 5,6mM e 8,3mM, e na concentração de 16,7mM mesmo não tendo sido significativa observou-se alto nível de secreção de insulina nos animais MS.

No Gráfico 13B observa-se que a secreção de insulina foi crescente para CP nas três concentrações de glicose analisadas, com significância nas maiores concentrações (8,3mM e 16,7mM). Contudo, o controle CS obteve menor secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas que o controle CP nas menores concentrações (5,6mM e 8,3mM), apresentando na maior concentração (16,7mM), secreção mais elevada de insulina pelas ilhotas comparando-se com os animais CP.

Na análise do Gráfico 13C, comparando os grupos MSG (MP/MS), destaca-se um nível elevado de secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas nos animais MP, em relação aos MS. Tendo obtido aumento significativo de 58% na secreção de insulina na concentração de glicose 8,3mM e de 99,5% na concentração de 16,7mM, com destaque para esta última, que apresentou um aumento de quase 100% na secreção de insulina em comparação com o grupo MSG que não recebeu o extrato (MS). Tendo o extrato de *B. dracunculifolia* apresentado efeito significativo na secreção de insulina, nos animais obesos tratados com o extrato em relação aos obesos não tratados com o extrato.

Gráfico 13 – Avaliação da secreção de insulina em ilhotas pancreáticas isoladas dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).



Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima das barras indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando teste ‘t’ student. Cada grupo foi testado com três concentrações crescentes de glicose (5,6mM, 8,3mM e 16,7mM). (A)* $p < 0,05$ CS vs MS; (B)* $p < 0,05$ CS vs CP; (C) * $p < 0,05$ MS vs MP.

Fonte: Dados primários do experimento.

7.7 ANÁLISE DA PESAGEM DO RIM E FÍGADO

Nas pesagens realizadas nos órgãos (rim e fígado) dos animais controle e MSG, percebe-se um aumento significativo no peso do rim e do fígado nos animais controle em relação aos animais MSG. Destaca-se (Tabela 02) que os rins dos

grupos MSG (MS/MP) apresentaram peso 33% menor que os rins dos animais controle (CS/CP). Os fígados, por sua vez, pesaram 21% menos nos grupos MSG (MS/MP) em comparação aos animais controle (CS/CP).

Tabela 02 – Análise estatística do peso do rim e fígado dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS). Representado pela média $\pm$ epm.

	CS	CP	MP	MS
Peso Rim				
(g/100g)	0,003 $\pm$ 0,0 ^{c,d}	0,003 $\pm$ 0,0 ^{c,d}	0,002 $\pm$ 0,0 ^{a,b}	0,002 $\pm$ 0,0 ^{a,b}
Peso Fígado				
(g/100g)	0,028 $\pm$ 0,003 ^{c,d}	0,028 $\pm$ 0,001 ^{c,d}	0,022 $\pm$ 0,001 ^{a,b}	0,021 $\pm$ 0,002 ^{a,b}

Os dados foram expressos como média $\pm$ epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima dos números indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS.

Fonte: Dados primários do experimento.

7.8 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os dados dos parâmetros bioquímicos de colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, VLDL colesterol, glicemia, insulinemia e Índice Homa-IR, apresentados não obtiveram diferenças significativas.

No entanto os triglicerídeos apresentaram diferença significativa entre os grupos controle e MSG. Os dados demonstram que o índice de triglicerídeos foi 62,3% e 67% maior nos animais MSG (MS) em relação aos controles (CS) e (CP), respectivamente.

Tabela 03 – Parâmetros bioquímicos dos grupos Controle salina (CS), Controle planta (CP), MSG planta (MP) e MSG salina (MS).

	CS	CP	MP	MS
Triglicérides	98,86 $\pm$ 7,21 ^d	96 $\pm$ 5,22 ^d	123,3 $\pm$ 21,19	160,5 $\pm$ 11,57 ^{a,b}
Colesterol total	97,88 $\pm$ 6,29	94,63 $\pm$ 4,47	88,71 $\pm$ 6,24	89,17 $\pm$ 5,40

HDL-colesterol	34,25 ± 2,25	30,25 ± 2,23	30,71 ± 1,34	36,33 ± 3,45
LDL-colesterol	41,18 ± 5,68	45,18 ± 4,72	34,03 ± 1,66	25,84 ± 7,62
VLDL-colesterol	22,45 ± 2,95	19,20 ± 1,04	27,43 ± 7,65	32,10 ± 2,31
Glicose	102,4 ± 4,09	118,4 ± 4,77	107,1 ± 5,99	112 ± 6,59
Insulina	2,82 ± 0,86	2,93 ± 0,5	3,19 ± 1,74	2,67 ± 1,16
Índice HOMA (IR)	15,34 ± 6,07	21,63 ± 2,44	17,02 ± 9,59	12,43 ± 4,6

Os dados foram expressos como média ± epm. O número de animais em cada grupo varia de N= 6 – 8 para todos os grupos. Os símbolos acima dos números indicam as diferenças estatísticas de $p < 0,05$ usando ANOVA, com post test de Bonferroni. a=CS, b=CP, c=MP, d=MS. As medidas foram realizadas após 12h de jejum alimentar. Índice HOMA-IR, obtidos a partir das glicemias e insulinemias séricas.

Fonte: Dados primários do experimento.

8 DISCUSSÃO

A obesidade que se encontra associada ao acúmulo de gordura visceral, que seria o principal fator de risco para o Diabetes tipo 2, caracteriza-se como responsável por desencadear alterações no perfil lipídico. Esta adiposidade conduziria a um estado de resistência a insulina, caracterizada pela diminuição do potencial do hormônio insulina em inibir a produção de glicose pelo fígado e estimular a captação de glicose pelo músculo e tecido adiposo (LEAHY, 2005; WEISS et al., 2007).

No presente estudo utilizamos o modelo MSG, que em virtude da injeção do aminoácido glutamato monossódico desencadeia alterações neuroendócrinas e metabólicas nos animais, o que ocasiona um déficit de peso corporal e alimentar (HIRATA, 1997; PEREIRA, 2003). Corroborando, percebe-se uma redução significativa do peso corporal observado na evolução ponderal dos animais MSG em relação aos animais controle. Destaca-se significativa diferença encontrada no peso do rim e fígado dos MSG, cujos órgãos foram menores comparando-se aos animais controle. Tal fato se justifica, visto que os animais MSG, possuem déficit do hormônio de crescimento, causando menor tamanho corporal e das suas estruturas internas como um todo, culminando em animais de menor porte, em relação aos animais controle.

Os animais MSG, como já salientado, possuem disfunções que ocasionam diversas alterações metabólicas, como a maior saciedade, constatada no menor consumo de água e de comida em relação aos animais controle, analisado durante todo o experimento. Confirmando a característica dos animais MSG, que se apresentam obesos, mesmo sendo normofágicos ou hipofágicos (VOLTERA et al., 2007).

A caracterização da obesidade foi confirmada por meio do Índice de Lee e do teor dos depósitos de gorduras viscerais e subcutânea (inguinal). Em relação ao Índice de Lee, calculado pelo peso corporal e comprimento naso-anal, foi maior nos animais MSG em relação aos controles, caracterizando a indução da obesidade nestes animais, dado confirmado no estudo feito por Scomparim et al. (2009).

A elevação do teor de gorduras viscerais e subcutânea encontrada nos animais MSG deste estudo corrobora com o perfil da obesidade nestes animais, que tem como uma de suas características o aumento do teor de massa adiposa, o que levaria a um quadro de resistência a insulina, devido animais MSG terem a secreção do hormônio de crescimento alterada, devido à ação tóxica desencadeada pelo glutamato monossódico injetado nos animais neonatos (HIRATA, 1997; PEREIRA, 2003).

O aumento excessivo de gordura conduz ao estado de resistência à insulina, muitas vezes desencadeando um quadro de Diabetes Mellitus tipo 2. Isto ocorre principalmente devido a maior adiposidade visceral. Com o aumento da massa adiposa, a lipólise aumenta, elevando o perfil lipídico deste tecido, o que gera um aumento dos ácidos graxos livres e aumento dos triglicérides (AGL) (TRIPATHI; SRIVASTAVA, 2006). A partir da análise dos dados, foi possível observar nos animais MSG, em relação aos animais controle, alterações do metabolismo de lipoproteínas plasmáticas com índice significativo encontrado nos triglicérides elevados, não tendo conseguido o extrato restaurar os parâmetros lipídicos nos animais MSG.

Fato confirmado pelo estudo de Ribeiro-Filho et al. (2006), ao evidenciar que a adiposidade intra-abdominal é a que apresenta maior impacto sobre a deterioração da sensibilidade à insulina. Desse modo, observa-se que o excesso de adiposidade levaria à resistência à insulina, um estado metabólico no qual concentrações fisiológicas de insulina produzem menor resposta biológica, reduzindo a captação de glicose em tecidos periféricos, acarretando no aumento da gliconeogênese hepática e na possível indução de quadro de hiperglicemia.

A redução na sensibilidade à insulina em hepatócitos, fibra muscular e adipócitos representa um estímulo para aumento na produção e secreção pancreática de insulina com finalidade de manter a glicemia, dado que foi confirmado em nosso estudo, haja vista que não foram encontradas alterações glicêmicas significativas entre os grupos. Um quadro de hiperglicemia crônica gera uma hiperinsulinemia e até descompensação pancreática total (exaustão das células β -pancreáticas), o que contribui para o aparecimento de Diabetes tipo 2 (RIBEIRO-FILHO et al., 2006).

A patofisiologia da insulino-resistência envolve uma rede complexa de vias de sinalização intracelulares. Inicialmente a insulino-resistência é compensada pelo aparecimento de hiperinsulinemia, durante a qual, a tolerância à glicose é preservada. A progressão para uma intolerância à glicose ocorre sempre que a resistência à insulina aumenta ou os mecanismos compensatórios de secreção insulínica se encontram reduzidos (LOPES, 2009).

Estudos indicam que os animais MSG além do acúmulo de gordura visceral apresentam-se com hiperinsulinemia, resistência a insulina e intolerância a glicose (HIRATA, 1997; PEREIRA, 2003). Ressalta-se que nos animais MSG em comparação com os controles, obteve-se resultados significativos na análise da tolerância a glicose, visto que animais MSG apresentaram intolerância a glicose, que poderia estar associada à hiperinsulinemia encontrada nos animais MSG.

Observou-se que os animais MSG apesar de não apresentarem a hiperglicemia crônica, possuem hiperinsulinemia e intolerância a glicose, fato este que poderíamos ressaltar como portadores de uma pré-diabetes, podendo desencadear a patologia Diabetes com mais alguns meses de vida, o que demonstra que tal patologia pode funcionar no ensaio pré-clínico assim como no ser humano, sendo desenvolvida na vida adulta, e o não cuidado com saúde e alimentação poderia levar a mesma a se instalar.

O Diabetes é considerado uma doença crônica degenerativa, devido a anormalidades endócrinas ocorridas no pâncreas, podendo ser ocasionado pela secreção inadequada de insulina pelas células β -pancreáticas ou devido a defeitos na ação da insulina, o que ocasiona resistência a insulina no organismo ou mesmo pela associação destes dois fatores (ENGELGAU et al., 2000; LOPES, 2009).

A secreção de insulina pelas células β -pancreáticas se dá pela ativação das mesmas pela glicose (LOPES, 2009). As ilhotas pancreáticas dos animais foram estimuladas a concentrações crescentes de glicose. Os resultados encontrados mostraram que os animais MSG em comparação com os animais controle produziram índice elevado de insulina, confirmando que são animais tidos como hiperinsulinêmicos como nos estudos de Hirata (1997) e Pereira (2003). Quando comparados os controles CS e CP, observou-se uma elevação crescente na

produção de insulina por CP. No entanto, na maior concentração (16,7mM) o grupo CS obteve maior secreção de insulina do que CP.

Em contrapartida comparando-se os grupos MSG (MP vs MS), observa-se uma nítida diferença na secreção de insulina, visto que o grupo MS apresenta uma secreção visivelmente menor. Ressaltando que a secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas, nos animais MP, tratados com o extrato metanólico de *B. dracunculifolia*, apresentou nas concentrações de glicose (8,3mM) índice significativamente elevado, tendo apresentado um aumento de quase 100% na secreção de insulina na maior concentração de glicose (16,7mM), em relação ao grupo MS, não tendo apresentado diferença significativa na menor concentração (5,6mM).

Os resultados encontrados corroboram com os achados em demais estudos realizados. Visto que no estudo com o extrato da planta medicinal *Sclerocarya birrea* foi observado ação direta do extrato nas células β -pancreáticas, aumentando a secreção de insulina estimulada pela concentração de glicose. Ressaltando que em células dos animais diabéticos controle e diabéticos que foram tratados com a planta na concentração de glicose basal de 2,8mM não apresentaram diferenças significativas na secreção entre os grupos, mas na concentração de 16,7mM de glicose a secreção de insulina nas células, dos animais diabéticos, tratadas com a planta obtiveram maior secreção (NDIFOSSAP et al., 2010).

Assim como no estudo do extrato aquoso da planta *Tabernanthe iboga* no isolamento de ilhotas pancreáticas foi analisado nas concentrações de glicose 5,6mM, 8,3mM e 16,7mM. Os resultados obtidos indicaram que a secreção de insulina foi significativa nas concentrações de 8,3mM e 16,7mM, mas em presença do extrato de *Tabernanthe iboga* o efeito foi potencializado, tendo tido maior secreção na concentração de 16,7mM. Estes efeitos são semelhantes aos dos bem conhecido secretagogo de insulina, tais como sulfuniluréias (SOUZA; MBATCHI; HERCHUELZ, 2010).

O efeito de um composto denominado Berberine (principal componente ativo da erva chinesa *Rhizoma coptidis*) foi analisado na secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas. O resultado demonstra que na concentração de 2,8mM não

houve diferença significativa, na secreção das ilhotas, entre o composto e o controle. E na concentração de 16,7mM observou um nítido aumento na secreção de insulina (WANG et al., 2008).

Em outro estudo foi demonstrado a influência do exercício físico na secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas. Foi salientado que o teor de insulina nas ilhotas foi significativamente maior nos grupos que tiveram exercício agudo e treinado, do que os sedentários. Na concentração baixa de glicose de 2,8mM não foi observada diferenças significativas entre os grupos sedentários e com exercício. No entanto na concentração de 16,7mM os resultados ressaltaram que a secreção de insulina do grupo de sedentários em repouso foi menor do que o grupo sedentário que foi submetido ao exercício agudo. E a secreção do grupo de animais treinados agudamente foi menor que a secreção do grupo de animais com treinamento adaptado (OLIVEIRA et al., 2010).

Os efeitos na elevação da secreção de insulina mediada pelo aumento da concentração de glicose, encontrados em nosso estudo com o extrato metanólico de *B. dracunculifolia*, e confirmado em demais estudos realizados, poderia ter sido potencializado agregando exercício físico nos animais e incubando as ilhotas pancreáticas com o extrato.

Destacando que o extrato metanólico do estudo realizado com *B. dracunculifolia* possui alta atividade antioxidante, com presença de substâncias antioxidantes, tais como flavonóides e compostos fenólicos, o que pode ter propiciado o aumento na secreção de insulina nas ilhotas dos animais MSG que foram tratados. O que foi salientado no estudo com o extrato da planta *Oreocnide integrifolia*, que foi testada para a secreção de insulina dependente de glicose, as células mostraram claramente efeitos estimulantes no extrato etanólico e extratos metanólicos em concentração de glicose basal de 4,5mM. Ambos os extratos mostraram a secreção de insulina aumentada na concentração de glicose de 16,7mM, com efeito máximo encontrado no extrato metanólico. A presente investigação mostrou a presença de fitoquímicos ativos no extrato metanólico e uma rica mistura de flavonóides. Assim, o estudo indica o potencial terapêutico de flavonóides como um secretagogo de insulina com significativo efeito insulinomimético e citoprotetor (ANSARULLAH et al., 2011).

A atividade antioxidante de *B. dracunculifolia* poderia estar relacionada com os resultados encontrados na secreção diferenciada de insulina pelas ilhotas pancreáticas encontradas nos animais MSG. Supondo que nos animais MS que não foram tratados com o extrato, poderia estar com um possível desequilíbrio na produção de moléculas reativas, chamadas de radicais livres. Tais radicais são formados durante processos fisiológicos de oxidação, podendo ser produzidos no citoplasma, nas mitocôndrias ou nas membranas celulares.

Em condições fisiológicas normais a geração de radicais livres é proporcional a capacidade antioxidante da célula, mas quando ocorre um desbalanço redox gerado pelo acúmulo dessas espécies reativas ou pela deficiência na capacidade antioxidante da célula leva ao chamado estresse oxidativo (CERQUEIRA et al., 2007).

O estresse oxidativo pode resultar de situações que aumentem a produção de radicais livres, diminuam os níveis de enzimas antioxidantes ou pela instalação de ambos, simultaneamente (EVANS et al., 2002; FERREIRA et al., 2011). Como consequência, este excesso de radicais livres no organismo, ocasionaria um prejuízo na produção de insulina, diminuindo a síntese deste hormônio, fato observado em nosso modelo MSG (MS) (EVANS et al., 2002; FERREIRA et al., 2011).

O fato da secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas ter tido uma significativa elevação nos animais MSG (MP), em relação aos animais MS, inicialmente nos remete que poderia ter ocorrido uma melhora no stress oxidativo. Fato confirmado em estudos onde a análise do tecido pancreático de animais diabéticos, induzidos por estreptozotocina, foi verificado alto índice de substância INOS, sugerindo stress oxidativo, que poderia ter levado a uma degeneração das células β -pancreáticas. Ressaltando que nos animais diabéticos tratados com a planta medicinal *Camellia sinensis* (chá-preto), foi observado menor índice de INOS sugerindo a capacidade de chá preto para funcionar como um antioxidante contra stress nitrosativo (MANIKANDAN et al., 2009).

Em outro estudo foi verificado que um componente encontrado na planta medicinal *Litsea coreana* denominado de quercetina, um flavonóide com

propriedades antioxidantes, promoveu a regeneração das ilhotas pancreáticas, exercendo assim efeitos benéficos antidiabéticos (YUN-XIA et al., 2010).

A planta *Solanum torvum* estimulou a secreção de insulina a partir da regeneração das células β -pancreáticas. A potente atividade do extrato pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos (GANDHI; IGNACIMUTHU; PAULRAJ, 2011). Que encontram-se presentes em *Baccharis dracunculifolia*. Estudos anteriores demonstraram também que estes compostos fenólicos apresentam propriedades contra radicais livres com redução do estresse oxidativo associada com Diabetes Mellitus (KUSIRISIN et al., 2009).

Ressaltando que existe grande possibilidade de alto teor de compostos fenólicos (substâncias antioxidantes) presentes no extrato metanólico utilizado, devido a época da colheita da planta ter sido feita no mês de abril, confirmado no estudo de sazonalidade e presença de compostos fenólicos em *B. dracunculifolia*, onde os achados comprovaram bons resultados qualitativos e quantitativos para estes compostos fenólicos (antioxidantes) na colheita realizada entre dezembro e abril (SOUSA et al., 2009).

O stress oxidativo pode levar a ativação de vias apoptóticas, acarretando no desenvolvimento do Diabetes (MANDRUP-POULSEN, 2001; EVANS et al., 2002).

Os resultados apresentados além de sugerir uma melhora no stress oxidativo pode estar ocorrendo também uma melhora na patologia da obesidade, relacionada com diferenciação de adipócitos, que se encontra prejudicada na obesidade, desencadeando resistência a insulina. Estudo de Choi et al. (2011), demonstram que o princípio ativo Artepillin C estimula a diferenciação de adipócitos aumentando o transporte de glicose nos adipócitos através da regulação positiva na expressão de GLUT-1 e GLUT-4. Visto que o extrato de *B. dracunculifolia* é rico em compostos fenólicos, tais como Artepelin C, este efeito nos adipócitos poderia estar ocorrendo nos animais MSG tratados com a planta (MP), auxiliando desta maneira na diferenciação dos adipócitos e assim promovendo melhora na captação de glicose e do quadro de obesidade.

Percebe-se a partir das análises realizadas, que pode ter ocorrido melhora do stress oxidativo, que está relacionado com os processos de sinalização

celular e secreção de insulina. Indicando uma possível alteração fisiológica, melhorando o stress oxidativo tecidual, desencadeado pelo alto poder antioxidante encontrado no extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia*, que poderia estar tentando ultrapassar a barreira da resistência sendo produzida assim maior quantidade de insulina, podendo indicar uma melhora no quadro da obesidade e pré-diabetes dos animais do estudo.

Tendo em vista dados da literatura acerca da ação dos radicais livres nas células β -pancreáticas, estas parecem estar sempre em um tênue limiar entre a sinalização da secreção da insulina e o dano intracelular que induz o desenvolvimento do Diabetes. Nesse sentido, o papel dos antioxidantes intracelulares é de fundamental importância para o controle da ação de tais espécies (EVANS et al., 2002).

Por outro lado, o sistema de defesa antioxidante não enzimático é composto por moléculas de baixo peso molecular com capacidade de proteger determinados alvos biológicos contra a oxidação. Tais moléculas podem ter origem endógena ou podem ser obtidas através da dieta. Estas moléculas antioxidantes atuam na detoxificação dos radicais livres (LOPES et al., 2008).

Neste contexto é importante esclarecer a definição de antioxidante, que se refere a qualquer substância que, quando presente em pequenas concentrações comparado com as do substrato oxidável, atrasa ou inibe significativamente a oxidação desse mesmo substrato (LOPES et al., 2008).

Diante disto, ressalta-se o uso de antioxidantes na dieta na busca de uma prevenção do acúmulo de radicais livres nas células, para que o desbalanço redox não ocorra, mantendo a função pancreática e suas vias de sinalização em ativação homeostática.

Destacando o teste de toxicidade realizado com a *B. dracunculifolia*, que visa a segurança do uso de plantas medicinais na terapêutica de doenças. Ressaltando a baixa toxicidade encontrada neste estudo para seu extrato metanólico, e assim sua segurança em testes pré-clínicos visando uma dose segura e eficaz nos tratamentos realizados. Sendo a dosagem escolhida de 400mg/Kg baseada em estudos realizados anteriormente e destacados no Estado da Arte. Ressaltando que os resultados encontrados servem apenas de parâmetros para

outros estudos na área, que tenham como base análises das frações do extrato, para que possam isolar a variedade de compostos presentes em *B. dracunculifolia*, que possa servir de base para descoberta de moléculas farmacológicas que visem prevenir, reverter ou retardar o aparecimento de patologias.

Contudo, os resultados obtidos no estudo com animais obesos (MSG), que se caracterizam por resistência a ação da insulina, assim como aumento de tecido adiposo visceral, que é considerado prejudicial a saúde sendo responsável por vários males, dentre eles o Diabetes, refletem a importância de estudos que visem a contemplar a busca de alternativas que possam auxiliar no tratamento do Diabetes. Destacando que nossos dados mais relevantes estão relacionados à alterações na sinalização da secreção de insulina nos animais MSG tratados com o extrato de *B. dracunculifolia*, o que poderia estar prevenindo quadros de hiperinsulinemia crônica associados a inúmeras consequências danosas, como obesidade e danos nas células β -pancreáticas envolvidos na patofisiologia da obesidade e Diabetes do tipo 2.

Conclui-se que os resultados encontrados, ressaltando a hiperinsulinemia encontrada nas ilhotas isoladas dos animais obesos que receberam o extrato de *B. dracunculifolia*, remetem a uma possível melhora do estress oxidativo devido ao alto poder antioxidante atribuído ao extrato. Entretanto, a confirmação do mecanismo de ação onde o extrato possa estar atuando nas células β -pancreáticas para promover uma elevação na secreção de insulina, depende de investigações futuras mais específicas.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise dos dados obtidos por meio do experimento, pode-se concluir que:

- O extrato de *B. dracunculifolia* apresentou baixa toxicidade no teste com *Artemia salina*, sendo seguro para ser utilizado em testes pré-clínicos e clínicos;
- Não foi encontrada diminuição significativa do perfil lipídico nos animais obesos MSG tratados com o extrato;
- Os animais obesos apresentaram menor peso, consumiram menos água e menos ração e apresentaram intolerância a glicose;
- Verificou-se maior teor de gorduras viscerais e gordura subcutânea, nos animais obesos MSG em relação aos animais controle; e
- No isolamento das ilhotas pancreáticas ressalta-se os resultados obtidos no grupo MSG (MP), que se apresentaram hiperinsulinêmicos, devido a alta secreção de insulina produzida nas ilhotas pancreáticas isoladas.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHIMA, R. S.; FLIER, J. Leptin. **Ann Rev Physiol**, v. 62, p. 413-437, 2000.
- 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.
- ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais**: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hemus, 1993.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION – ADA. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, suplemento 1, v. 33, p. S62-S69, 2010.
- ANSARULLAH; BHARUCHA, B.; DWIVEDI, 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-cells from streptozotocin insult. **Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n. 126, p. 1-13, 2011.
- ASHCROFT, F. M. K (ATP) Channels and Insulin Secretion: A Key Role In Health and Disease. **Biochem Soc Trans**, v. 34, p. 243-246, 2006.
- ASHOK, B. **The hypothalamus as a regulator of metabolism**: A tale of two hormones. Disponível em: <<http://www.medscape.com>>. Acesso em: 10 abr. 2011.
- AVOGARO, A.; KREUTZENBERG, S. V. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. **Clin. Chim. Acta**, v. 360, p. 9-26, 2005.
- AVRAMOGLU, K. R.; BASCIANO, H.; ADELI, K. Lipid and a lipoprotein dysregulation in insulin resistant states. **Clinica Chimica Acta**, v. 368, p. 1-19, 2006.
- BAILEY, C. J. Biguanides and Niddm. **Diabetes Care**, v. 15, p. 755-772, 1992.
- BAO, W.; SRINIVASAN, S. R. S.; BERENSON, G. S. Persistent elevation of plasma insulin levels is associated with increased cardiovascular risk in children and young adults. The Bogalusa Heart study. **Circulation**, v. 93, p. 54-59, 1996.
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. 2. ed. Viçosa: Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- BJORBAEK, C.; KAHN, B. B. Leptin signaling in the central nervous system and the

periphery. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 59, p. 305-331, 2004.

BODEN, G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. **Diabetes**, v. 46, n. 1, p. 3-10, 1997.

BOGALHO, P. **Diabetes tipo 2, prevalência, diagnostico e abordagem**. Sociedade de endocrinologia Diabetes e Metabolismo, LISBOA, 2010.

BONGIOLO, A. M. **Efeito do Extrato Hidroalcoólico de Eugenia Uniflora L. (Myrtaceae) sobre a Hiperglicemia e Dislipidemia de Ratos Diabéticos Induzidos por Aloxana**. Criciúma, 2008. 56p. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

BORGES, K. B.; BAUTISTA, H. B.; GUILERA, S. Diabetes – Utilization of Medicinal Plants as an Optional form of Treatment. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, p. 12-20, 2008.

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

BREMER, K. **Asteraceae**: Cladistics and classification. Timber Press: Portland, 1994.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M.; FARAGO, P. V. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 477-483, 2004.

BÚFALO, M. C.; CANDEIAS, J. M. G.; JAIRO, K.; SFORCIN, J. M. In vitro cytotoxic activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis against HEp-2 cells. **Natural Product Research**, v. 24, p. 1710-18, 2010.

BUJA, L. M.; KRUEGER, G. R. F. **Atlas de Patologia Humana De Netter**. Porto Alegre: Artmed, 2007.

BUSSMANN R. W. **Ethnobotany and Biodiversity and Conservation**. Disponível em: <www.olorien.org/rbusmann/academicCV.php>. Acesso em: 05 dez. 2009.

CALLE, E. E.; THUN, M. J. Obesity and cancer. **Oncogene**, v. 23, p. 6365-6378, 2004.

CAMPLIEM, L. A.; SMITH, F. J.; GUISEZ, J.; DEVOS, R.; BURN, P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science**, v. 269, p. 456-549, 1995.

CARVALHEIRA, J.B.C.; ZECCHIN, H.G.; SAAD, M.J.A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.46, n. 4, p. 419-425, 2002.

CAVALLI, V. L.; SORDI, C.; TONINI, K.; GRANDO, A.; MUNERON, T.; GUIGI, A.; ROMAN JUNIOR, W. A. Avaliação in vivo do efeito hipoglicemiante de extratos obtidos da raiz e folha de bardana *Arctium minus* (Hill.) Bernh. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 64-70, 2007.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: Conceitos sobre modificações estruturais para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, A. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHOI, S. S.; CHA, B. Y.; IIDA, K.; LEE, Y. S.; YONEZAWA, T.; TERUYA, T.; NAGAI, K.; WOO, J. T. Artepillin C, as a PPAR γ ligand, enhances adipocyte differentiation and glucose uptake in 3T3-L1 cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 81, p. 925-933, 2011.

CNOP, M.; LANDCHILD, M. J.; VIDAL, J.; KNOWLES, N. G.; WANG, F.; HULL, R. L.; BOYKO, E. J.; RETZLAFF, B. M.; KNOPP, R. H.; KAHN, S. E.; CARR, D. R.; HAVEL, P. J.; WALDEN, C. E. The concurrent accumulation of intra-abdominal and subcutaneous fat explains the association between insulin resistance and plasma leptin concentrations. **Diabetes**, v. 51, n. 4, p. 1005-1015, 2002.

COMUZZIE, A. G.; FUNAHASHI, T.; SONNENBERG, G.; MARTIN, L. J.; JACOB, H. J.; BLACK, A. E.; MAAS, D.; TAKAHASHI, M.; TANAKA, S.; MATSUZAWA, Y.; BLANGERO, J.; COHEN, D.; KISSEBAH, A. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 9, p. 4321-4325, 2001.

CONSELHO BRASILEIRO SOBRE DIABETES – CBD. **Diagnostico e classificação do Diabetes Mellitus e tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2**. Rio de Janeiro, 2003.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984.

COYLE, R. R.; BIRD, S. J.; EVANS, R. H.; GULLEY, R. L.; NADLER, I. V.; NICKLAS, W. J.; OLNEY, I. W. Excitatory aminoacid neurotoxins: selectivity, specificity and mechanisms of action. **Neurosci. Res. Prog. Bull.**, v. 19, n. 4, p. 331-427, 1981.

CURI, N.; MARMO, M. R.; EGAMI, M.; RIBEIRO, E. B.; ANDRADE, L. S.; DOLNIKOFF, M. S. Effect of monosodium glutamate treatment during neonatal development on lipogenesis rate and LPL activity. **Biochem. International**, v. 24, n. 5, p. 927-35, 1991.

DAWSON, R.; ANNAU, Z. A behavioral assessment of arcuate nucleus damage after a single injection of monosodium glutamate. **Neurobehav Toxicol Teratol**, v. 5, p. 399-406, 1983.

DE MELLO, M. A.; SOUZA, C. T.; BRAGA, L. R.; SANTOS, J. W.; RIBEIRO, I. A.; GOBATO, C. A. Glucose tolerance and insulin action in monosodium glutamate (MSG) obese exercise-trained rats. **Physiol Chem Phys Med.**, v. 33, n. 1, p. 63-71, 2001.

DELARUE, J.; MAGNAN, C. Free fatty acids and insulin resistance. **Curr. Opin Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 10, n. 2, p. 142-148, 2007.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais**: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora Universidade Estadual Paulista, 1996.

EL-ATAT, F. A.; STAS, S. N.; MCFARLANE, S. I.; SOWERS, J. R. The relationship between hyperinsulinemia, hypertension and progressive renal disease. **Journal Am. Soc. Nephrol.**, v. 15, n. 11, p. 2816-2827, 2004.

ELISABETSKY, E.; COSTA-CAMPOS, L. Medicinal plant genetic resources and international cooperation: the Brazilian perspective. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 51, p. 111-120, 1996.

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

ELISABETSKY, E.; SETZER, R. Caboclo concepts of disease, diagnosis and therapy: implications for ethnopharmacology and health systems in Amazonia. In: PARKER, E. P. (Ed.). The amazon caboclo: historical and contemporary perspectives. Williamsburgh. **Studies in Third World Societies Publication Series**, v. 32, p. 243-278, 1985.

EMERENCIANO, V. P.; KAPLAN, M. A. C.; BONFANTI, M. R. M.; FERREIRA, Z. S.; COMEGNO, L. M. A. Evolution of Sesquiterpene Lactones in Asteraceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 14, n. 6, p. 585-589, 1986.

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

EVANS, J. L.; GOLDFINE, I. D.; MADDUX, B. A.; GRODSKY, G. M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. **Endocr Rev**, v. 23, n. 5, p. 599-622, 2002.

FABRI, R. L.; NOGUEIRA, M. S.; DUTRA, L. B.; BOUZADA, M. L. M.; SCIO, E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011.

FAIN, J. N.; MADAN, A. K.; HILER, M. L.; CHEEMA, P. Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology**, v. 145, n. 5, p. 2273-2282, 2004.

FAN, W.; BOSTON, B. A.; KESTERSON, R. A.; HRUBY, V. J.; CONE, R. D. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. **Nature**, v. 385, p. 165-168, 1997.

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

FELBER, J. P.; GOLAY, A. Regulation of nutrient metabolism and energy expenditure. **Metabolism**, Philadelphia, v. 44, n. 2S, p. 4-9, 1995.

FERREIRA, R. M. **Efeito da Infusão dos Frutos de *Momordica charantia* L. em Ratas Diabéticas**. Viçosa, 2008. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa.

FERREIRA, S. H. **Academia Brasileira de Ciências: medicamentos a base de plantas medicinais**. Disponível em: <<http://www.abc.org.br/arquivos/medicamentos.pdf>>. Acesso em: mai. 2010.

FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Jama**, v. 287, p. 356-359, 2002.

FORMIGUEIRA, X.; CANTÓN, A. Obesity: epidemiology and clinical aspects. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 18, p. 1125-1146, 2004.

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.

FREDERICH, R. C.; LOLLMAN, B.; HAMANN, A.; NAPOLITANO-ROSEN, A.; KAHN, B.; FLIER, J. S. Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. **The Journal Clinical Investigation**, v. 96, p. 1658-1663, 1995.

FREEDMAN, D. S.; KHAN, L. K.; DIETZ, W. H.; SRINIVASAN, S. R.; BERENSON, G. S. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. **Pediatrics**, v. 108, p. 712-718, 2001.

FUJIMOTO, Y. W. The Importance of Insulin Resistance in the Pathogenesis of type 2 diabetes Mellitus. **American Journal of Medicine**, v. 108, n. 6A, p. 9S-14S, 2000.

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

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O.; MATHOR, M. B. Análise de própolis de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Compositae) e seus efeitos sobre fibroblastos de rato. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 206-212, 2007.

GANDHI, G. R.; IGNACIMUTHU, S.; PAULRAJ, M. G. *Solanum torvum* Swartz. fruit containing phenolic compounds shows antidiabetic and antioxidant effects in streptozotocin induced diabetic rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2725-2733, 2011.

GIMENO, R. E.; KLAMAN, L. D. Adipose tissue as an active endocrine organ: recent advance. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 5, p. 122-128, 2005.

GOLAY, A; FELBER, J. P.; MEYER, H. U.; CURCHOD, B.; MAEDER, E.; JÉQUIER, E. Study on lipid metabolism in obesity diabetes. **Metabolism**, Philadelphia, v. 33, p. 111-116, 1984.

GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Cecil Medicina**. Rio De Janeiro: Elsevier, 2009.

GRECO, A. V.; MINGRONE, G.; GIANCATERINI, A.; MANCO, M.; MORRONI, M.; CINTI, S.; GRANZOTTO, M.; VETTOR, R.; CAMASTRA, S.; FERRANNINI, E. Insulin resistance in morbid obesity: reversal with intramyocellular fat depletion. **Diabetes**, v. 51, n. 11, p. 144-151, 2002.

GREENFIELD, J.; CAMPBELL, L. Insulin resistance and obesity. **Clin. Dermatology**, v. 22, n. 4, p. 289-295, 2004.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICCHELT, A. J.; AZEVEDO, M. J. Diagnostico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 46, n. 1, p. 16-26, 2002.

GUH, D. P.; ZHANG, W.; BANSBACK, N.; AMARSI, Z.; BIRMINGHAM, C. L.; ANIS, A. H. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight : a systematic review and meta-analysis. **BMC Public Health**, v. 88, n. 9, p. 1-20, 2009.

HALAAS, J. L.; GAJIWALA, K. S.; MAFFEI, M.; COHEN, S. L.; CHAIT, B. T.; RABINOWITZ, D.; LALLONE, R. L.; BURLEY, S. K.; FRIEDMAN, J. M. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science**, v. 269, n. 28, p. 536-543, 1995.

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

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCar, 2003.

HOTTA, K.; FUNAHASHI, T.; ARITA, Y.; TAKAHASHI, M.; MATSUDA, M.; OKAMOTO, Y.; IWAHASHI, H.; KURIYAMA, H.; OUCHI, N.; MAEDA, K.; NISHIDA, M.; KIHARA, S.; SAKAI, N.; NAKAJIMA, T.; HASEGAWA, K.; MURAGUCHI, M.; OHMOTO, Y.; NAKAMURA, T.; YAMASHITA, S.; HANAFUSA, T.; MATSUZAWA, Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 20, n. 6, p. 1595-1599, 2000.

HUO, Y.; WINTERS, W. D.; YAO, DA-LIN. Prevention of diet-induced type 2 diabetes in the C57BL/6J mouse model by an antidiabetic herbal formulae. **Phytother. Res.**, v. 17, p. 48-55, 2003.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. **Câncer de pâncreas**. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=337>. Acesso em: 10, maio, 2011.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION – IDF. Disponível em: <<http://www.idf.org/>>. Acesso em: 11, maio, 2011.

IVKOVIC-LAZAR, T.; LEPSANOVIC, L.; BABIC, L.; STOKIC, E.; TESIC, D.; MEDIC-STOJANOSKA, M. The metabolic X syndrome: 4 case reports. **Med. Pregl., Serbo**, v. 45, p. 210-214, 1992.

IVORRA, M. D.; PAYÁ, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 27, n. 3, p. 243-275, 1989.

JACUPOVIC, J. Sequi and diterpenes from Baccharis species. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2217-2222, 1990.

JARVIS, B. B.; REJALI, N. M.; SCHENKEL, E. P.; BARROS, C. S.; MATZENBACHER, N. I. Trichothecene mycotoxins from Brazilian Baccharis species. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 789-797, 1991.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução a taxonomia vegetal. 12. ed. São Paulo: Cia Editora Nacional, 1998.

JORGE, S. S. A. **Plantas medicinais coletânea de saberes**. Disponível em: <<http://fazendadocerrado.com.br/teste.pdf>>. Acesso em: Ago., 2011.

KAIN, J.; VIO, F.; ALBALA, C. Obesity trends and determinant factors in Latin América. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. 77-86, 2003.

KATSER, J. I. Diabetes Mellitus Tipo 2 e Atividade Física. **Revista Digital**, Buenos Aires, n. 113, p. 1-1, 2007.

KEDAR, P.; CHAKRABARTI, C. H. Effects of Janbolan Seed Treatment on Blood Sugar, Lipids and Urea in Streptozotocin Induced Diabetes in Rabbits. **J. Physiol. Pharmac.**, v. 27, p. 135-140, 1983.

KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2548-2556, 2004.

KISS, A. C. I.; TAKAKU, M.; DAMASCENO, D. C.; CAMPOS K. E.; SINZATO, Y. K.; LIMA, P. O.; VOLPATO, G. T. Efeito do extrato aquoso de *Allium sativum* L. sobre parâmetros bioquímicos de ratas com diabetes induzido por Streptozotocin. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 24-30, 2006.

KIZER, J. S.; NEMEROFF, C. B.; YOUNGBLOOD, W. W. Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. **Pharmacol. Rev.**, v. 29, n. 4, p. 301-318, 1977.

KOLPEMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 406, p. 636-643, 2000.

KOPP, H. P.; KRZYZANOWSKA, K.; MOHLIG, M.; SPRANGER, J.; PFEIFFER, A. F.; SCHERNTHANER, G. Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. **J Obes Relat Metab Disord.**, v. 29, p. 766-771, 2005.

KUMAZAWA, S.; YONEDA, M.; SHIBATA, I.; KANAEDA, J.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, n. 6, p. 740-742, 2003.

LEAHY, J. L. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. **Archives of Medical Research**, v. 36, p. 197-209, 2005.

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 propolis and *Baccharis dracunculifolia* extracts on cariogenic factors of *Streptococcus mutans*. **Biol. Pharm. Bull.**, 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 enchaguatório bucal**. São Paulo, 2009. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

LEMOES, 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 propolis, displays antiulcer activity. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 59, n. 4, p. 603-608, 2007.

LÉVI-STRAUSS, C. A ciência do concreto. In: **O pensamento selvagem**. Campinas: Papirus, 1989.

LINO, C. S.; DIOGENES, J. P.; PEREIRA, B. A.; FARIA, R. A.; ANDRADE-NETO, M.; ALVES, R. S.; QUEIROZ, M. G. Antidiabetic activity of *Bauhinia forficata* extracts in alloxan-diabetic rats. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 27, n. 1, p. 125-127, 2004.

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

LONNQVIST, F.; WENNLUND, A.; ARNER, P. Relationship between circulating leptin and peripheral fat distribution in obese subjects. **J Obes Relat Metab Disord**, v. 21, n. 4, p. 255-260, 1997.

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

LOPES, J. P.; OLIVEIRA, S. M. Stress oxidativo e seus efeitos na insulino-resistência e disfunção das células β -pancreáticas. Relação com as Complicações da Diabetes Mellitus Tipo 2. **Acta Med Port.**, v. 21, n. 3, p. 293-302, 2008.

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

LU, X. Y. Role of central melanocortin signaling in eating disorders. **Psychopharmacol. Bull.**, v. 35, p. 45-65, 2001.

MACHO, L.; FICKOVÁ, M.; JEZOVÁ, D.; ZÓRAD, S. Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats. **Physiol Res.**, v. 49, Suppl.1, p. S79-S85, 2000.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VIGA JR., V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAFFEI, M. J.; HALAAS, J.; RAVUSSIN, E.; PRATLEY, R. E.; LEE, G. M. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma and ob mRNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, v. 1, n. 11, p. 1156-1161, 1995.

MANDRUP-POULSEN, T. Beta-cell apoptosis: stimuli and signaling. **Diabetes**, v. 50 Suppl1, p. S58-S63, 2001.

MANIKANDAN, R.; SUNDARAM, R.; THIAGARAJAN, R.; SIVAKUMAR, M. R.; MEIYALAGAN, V.; MUNUSAMYARUMUGAM, M. Effect of Black Tea on Histological and Immunohistochemical Changes in Pancreatic Tissues of Normal and Streptozotocin-induced Diabetic Mice (*Mus musculus*). **Microscopy Research and Technique**, v. 72, p. 723–726, 2009.

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

MARTINEZ, M. C.; LATORRE, M. R. D. O. Fatores de risco para hipertensão arterial e diabetes mellitus em trabalhadores de empresa metalúrgica e siderúrgica. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 87, n. 4, p. 471-479, 2006.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 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**, Salvador, v. 78, n. 1, p. 32-36, 2008.

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, 2000. 77f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Viçosa.

MAURY, E. A. **Dictionnaire familial des medicines naturelles**. São Paulo: Rideel, 2002.

MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. **Drug Information Journal**, v. 32, p. 513-524, 1998.

MELO, A. F. M.; NASCIMENTO, J. E.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n. 2, p. 145-150, 2008.

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

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS DE MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **J Med Plant Res**, v. 45, p. 31- 4, 1982.

MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; NAGAOKA, T.; MATSUSHIGE, K.; MESSAGE, D.; HUERTAS, A. A.; KADOTA, S. Liquid chromatography-mass

spectrometry analysis of propolis. **Phytochemical Analysis**, v. 12, n. 6, p. 366-373, 2001.

MORI, R. C. T. **Glicemia melhora a sensibilidade a insulina em ratos obesos (MSG) sem exacerbar a obesidade**: Mecanismos moleculares envolvidos nos tecidos muscular, adiposo e hepático. São Paulo, 2007. Tese (Doutorado), USP.

MORRIS, M. I.; TORTELLI, C. F.; FILIPPIS, A.; PROIETTO, R. Reduced BAT function as a mechanism for obesity in the hypophagic, neuropeptide Y deficient monosodium glutamate-treated rat. **Regul Peptide**, v. 25, n. 75, p. 441-447, 1998.

MORS, W. Plantas medicinais. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 3, p. 51-54, 1982.

MUSCELLI, E.; CANASTRA, S.; CATALANO, C.; GALVAN, A. Q.; CIOCIARO, D.; BALDI, S.; FERRANNINI, E. Metabolic and cardiovascular assessment in moderate obesity: effect of weight loss. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 82, n. 9, p. 2937-2943, 1997.

NATIONAL DIABETES EDUCATION – NDE. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/diabetes/projects/ndeps.htm>>. Acesso em: 20, junho, 2011.

NDIFOSSAP, I. G. M.; FRIGERIO, F.; CASIMIR, M.; TSOFAK, F. N.; DONGO, E.; KAMTCHOUING, P.; DIMO, T.; MAECHLER, P. *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) stem-bark extract corrects glycaemia in diabetic rats and acts on b-cells by enhancing glucose-stimulated insulin secretion. **Journal of Endocrinology**, v. 205, p. 79–86, 2010.

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

OLIVEIRA, A. C.; ENDRINGER, D. C.; AMORIM, L. A.; DAS GRAÇAS, L. B. M.; COELHO, M. M. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. **J Ethnopharmacol**, v. 102, n. 3, p. 465-469, 2005.

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

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.

OLNEY, J. W. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium, glutamate. **Science**, v.164, p. 719-721, 1969.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. **Diabetes**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>, 2011>. Acesso em: 20, abril, 2011.

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>. Acesso em: 20, abril, 2011.

OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; OKAMOTO, Y.; MAEDA, K.; KURIYAMA, H.; HOTTA, K.; NISHIDA, M.; TAKAHASHI, M.; MURAGUCHI, M.; OHMOTO, Y.; NAKAMURA, T.; YAMASHITA, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Adiponectin, an Adipocyte-Derived Plasma Protein, Inhibits Endothelial NF- KB Signaling Through a cAMP-Dependent Pathway. **Circulation**, v. 102, n. 11, p. 1296-1301, 2000.

PAPA, P. C.; SERAPHIM, P. M.; MACHADO, U. F. Loss of weight restores GLUT4 content in insulin-sensitive tissues of monosodium glutamate-treated mice. **International Journal of Obesity**, v. 21, p. 1065-1070, 1997.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L.; GUZMÁN, J. P. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of Southeastern Brazilian propolis. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 1100-1103, 2004.

PAULI, J. R.; CINTRA, D. E.; SOUZA, C. T.; ROPELLE, E. R. New mechanisms by which physical exercise improves insulin resistance in the skeletal muscle. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 53, n. 4, p. 399-408, 2009.

PELLEYMOUNTER, M. A.; CULLEN, M. J.; BAKER, M. B.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T.; COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in *ob/ob* mice. **Science**, v. 269, p. 540-543, 1995.

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

PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Cellular mechanism of insulin resistance in skeletal muscle. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 95, n. 42, p. 8-13, 2002.

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

PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2010.

PHILIP, T. J.; LEACH, R.; KALAMARA, E.; SHAYEGHI, M. The worldwide obesity epidemic. **Obesity Research**, Baton Rouge, v. 9, p. 228-233, 2001.

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.

POITOUT, V.; ROBERTSON, R. P. Minireview: Secondary beta- cell failure in type 2 diabetes – a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. **Endocrinology**, v. 143, p. 339-342, 2002.

QATANANI, M.; LAZAR, M. A. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. **Genes Dev.**, v. 21, n. 12, p. 1443-1455, 2007.

RAJALA, M. W.; SCHERER, P. E. Minireview: the adipocyte - at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology**, v. 144, p. 3765-3773, 2003.

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

REAVEN, G. M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607, 1988.

RESENDE, F. A.; ALVES, J. M.; MUNARI, C. C.; SENEDESE, J. M.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Inhibition of doxorubicin-induced mutagenicity by *Baccharis dracunculifolia*. **Mutat. Res.**, v. 634, p. 112-118, 2007.

RIBEIRO-FILHO, F. F.; MARIOS, L. S.; FERREIRA, S. R. G.; ZANELLA, M. T. Gordura Visceral e Síndrome Metabólica: Mais Que Uma Simples Associação. **Arq. Bras. Endocrino. Metab.**, v. 50, n. 2, p. 230- 238, 2006.

SATTLE, M. **The History of Diabetes**: Diabetes Health. Disponível em: <<http://www.diabeteshealth.com/read/2008/12/17/715/the-history-of-diabetes/>>. Acesso em: maio, 2010.

SAVAGE, D. B.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Mechanisms of insulin resistance in humans and possible links with inflammation. **Hypertension**, v. 45, n. 5, p. 828-833, 2005.

SCHEFFEL, R. S.; BORTOLONZA, D.; WEBER, C. S.; COSTA, L. A.; CANANI, L. H.; SANTOS, K. G.; CRISPIM, D.; ROISEMBERG, I.; LISBOA, H. R. K.; TRES, G. S.; TSCHIEDEL, B.; GROSS, J. L. Prevalência de complicações micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes mellitus do tipo 2 em atendimento ambulatorial. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 50 n. 3, 2004.

SCHERER, P. E. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. **Diabetes**, v. 55, n. 6, p. 1537-1545, 2006.

SCHMIDT, M. I.; SAAD, M. J. A.; DUNCAN, B. B. Subclinical inflammation and obesity, diabetes and related disorders. **Drug Discov Today Disease Mechanisms**, v. 2, n. 3, p. 307-312, 2005.

SCOMPARI, D. X.; GOMES, R. M.; GRASSILLI, S.; OLIVEIRA, J. C.; GRAVENA, C.; MATHIAS, P. C. F. Obesidade induzida pelo L-glutamato monossódico (MSG) causa alterações autonômicas. **Endocrinol. Diabetes Clín.**, v. 9, n. 1, p. 962-964, 2009.

SERAPHIM, P. M. **A resistência à insulina reduz a expressão do gene do Glut4 na presença e na ausência da obesidade**. São Paulo, 2001. Tese (Doutorado) –

Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

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). **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 56, n. 9, p. 1195-1199., 2004.

SILVA, N. M. **A fitoterapia na história do Brasil**. Informativo Herbarium Saúde. n. 29, 2004. Disponível em: <www.herbarium.com.br/herbarium_site/jornais/herbarium_saude.asp>. Acesso em: 15, abril, 2011.

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

SINDELAR, D. K.; HAVEI, P. J.; SEELEY, R. J.; WILKINSON, C. W.; WOODS, S. C.; SCWARTZ, M. W. Low plasma leptin levels contribute to diabetic hyperphagia in rats. **Diabetes**, v. 48, p. 1275-1280, 1999.

SINHA, R. Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. **The New England Journal of Medicine**, v. 346, p. 802-810, 2002.

SKYLER, J. S. Diabetes mellitus: pathogenesis and treatment strategies. **J Med Chem.**, v. 47, n. 17, p. 4113-4117, 2004.

SMITH, A. J.; TANEJA, T. K.; MANKOURI, J.; SIVAPRASADARAO, A. Molecular Cell Biology of Katp Channels: Implications for Neonatal Diabetes. **Expert. Rev. Mol. Med.**, v. 9, n. 21, p. 1-17, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES – SBD. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/aprendendo/historia/historiaprimeiros.php>>. Acesso em: 14, fev., 2011.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE ENDOCRINOLOGIA. Manual sobre insulino-resistencia. Portugal, Editora Multitema-Soluções de Impressão, 2009.

SOUSA, J. P. B.; LEITE, M. F.; JORGE, R. F. ; RESENDE, D. O.; SILVA FILHO, A. A.; FURTADO, N. A. J. C.; SOARES, A. E. E.; SPADARO, A. C. C.; MAGALHÃES, P. M.; BASTOS, J. K. Seasonality Role on the Phenolics from Cultivated *Baccharis dracunculifolia*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-8, 2009.

SOUZA, A.; MBATCHI, B.; ANDRE HERCHUELZ, A. Induction of insulin secretion by an aqueous extract of *Tabernanthe iboga* Baill. (Apocynaceae) in rat pancreatic islets of Langerhans. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 1015–1020, 2011.

STUMVOLL, M.; GOLDSTEIN, B. J.; HAEFTEN, T. W. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. **Lancet**, v. 365, n. 9467, p. 1333-1346, 2005.

TAKEDA, I. J. M.; FARAGO, P. V. **Vegetação do Parque Estadual de Vila Velha: Guia de campo**. Curitiba: Serzegrafi, 2001.

TRIPATHI, B. K.; SRIVASTAVA, A. K. Diabetes Mellitus: Complications and therapeutics. **Med Sei Monit**, v. 12, n. 7, p. RA130-RA147, 2006.

TSAO, T. S.; LODISH, H. F.; FRUEBIS, J. ACRP30, a new hormone controlling fat and glucose metabolism. **European Journal of Pharmacology**, v. 440, n. 2, p. 213-221, 2002.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

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. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 4, p.35-45, 2002. v. 49, p. 863-870, 2001.

VOLTERA, A. F.; MÁRIO, L. R.; CESARETTI, M. G.; KOHLMANN JR., O. Efeito da Indução de Obesidade Neuroendócrina sobre a Hemodinâmica Sistêmica e a Função Ventricular Esquerda de Ratos Normotensos. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 52, n. 1, p. 47-54, 2008.

WAJCHENBERG, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 6, p. 697-738, 2000.

WANG, Z. Q.; FU-ER, L.; SAN-HUA, L.; XIN-SHENG, F.; GUANG, C.; ZENG-SI, W.; LI-PING, D.; ZHONG-QING Y. Facilitating effects of berberine on rat pancreatic islets through modulating hepatic nuclear factor 4 alpha expression and glucokinase activity. **J Gastroenterol**, v. 14, n. 39, p. 6004-6011, 2008.

WEISS, E. P.; BRANDAUER, J.; KULAPUTANA, O.; GHIU, L. A.; WOHN, C. R.; PHARES, D. A.; SHULDINER, A. R.; HAGBERG, J. M. FABP2 Ala54Thr genotype is associated with glucoregulatory function and lipid oxidation after a high-fat meal in sedentary nondiabetic men and women. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v. 85, p. 102-108, 2007.

WEYER, C.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; HOTTA, K.; MATSUZAWA, Y.; PRATLEY, R. E.; TATARANNI, P. A. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 5, p. 1930-1935, 2001.

WHITE, M. F. The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. **Mol Cell Biochem**, v. 182, p. 3-11, 1998.

WHITLOCK, G.; LEWINGTON, S.; SHERLIKER, P.; CLARKE, R.; EMBERSON, J.; HALSEY, J.; QIZILBASH, N.; COLLINS, R. (PROSPERITY STUDIES COLLABORATION). Body-mass index and cause-specific mortality in 900000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **The Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083-1096, 2009.

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

YUN-XIA, L.; QIU, Z.; JUN, L.; YU-XIU, S.; LING-YUN, W.; WEN-MING, C.; XIANG-YANGZ, H. Antidiabetic Effects of Total Flavonoids from *Litsea Coreana* leave on Fat-Fed, Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Rats. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 38, n. 4, p. 713–725, 2010.

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.