

AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DE *Cissus sicyoides* EM CAMUNDONGOS COM DIABETES INDUZIDO

EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF *Cissus sicyoides* IN MICE WITH INDUCED DIABETES

Rayana Ribeiro Martins⁽¹⁾

Jady Dandara Martins⁽¹⁾

¹ Acadêmica do curso de Biomedicina, Faculdade União das Américas, Foz do Iguaçu/PR.

Gustavo Roberto Villas Boas⁽²⁾

² Docente do curso de Farmácia, Faculdade União das Américas, Foz do Iguaçu/PR.

Adriane Cristina Guerino⁽³⁾

Ivaneliza Simionato de Assis⁽³⁾

³ Docente do curso de Biomedicina, Faculdade União das Américas, Foz do Iguaçu/PR. Doutoranda em Saúde Pública na EERP/USP.

Adriana Zilly⁽⁴⁾

⁴ Docente do Programa de Pós Graduação Stricto Sensu em Ensino e do Programa de Pós Graduação Stricto Sensu em Saúde Pública em Região de Fronteira, Centro de Educação, Letras e Saúde (CELS), Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Foz do Iguaçu/PR.
Endereço para correspondência: Rua Guairá, 314, Jardim Paraná, Foz do Iguaçu/PR, CEP: 85867-130.
Fone: 45 9927 2200. Email: aazilly@hotmail.com

RESUMO

O Diabetes Mellitus (DM) é uma disfunção metabólica de etiologia múltipla que se caracteriza por hiperglicemia crônica. A planta *Cissus sicyoides* é conhecida popularmente por seu efeito antidiabético. O objetivo de estudo foi analisar o possível efeito protetor da planta sobre a indução química (por aloxano) de DM em camundongos. Foram utilizados 10 camundongos Swiss fêmeas, tratados com solução aquosa de *C. sicyoides* pelo período 30 dias e submetidos à indução do diabetes experimental com Aloxano, outros 10 animais formaram o grupo controle que recebeu água. Os animais foram divididos em 3 grupos: o grupo teste 1 e 2 para tratamento com doses de 40 g L⁻¹ e 20 g L⁻¹ do extrato aquoso da planta e o grupo controle que recebeu água. Após o término do tratamento, todos os animais receberam três doses de aloxano 2%. Após o quarto dia (última aplicação) foram sacrificados e uma punção cardíaca para dosagem glicêmica foi realizada, além de uma extração do pâncreas com subsequente preparo histológico do mesmo. Observou-se que o grupo teste 1 e 2 apresentaram diferença significativa no efeito protetor da DM em relação ao grupo controle, porém não apresentaram diferença significativa entre si (ou seja, entre o teste 1 e 2), onde os níveis glicêmicos ficaram baixos. Nos cortes histológicos, os resultados foram os mesmos. Os grupos testes apresentaram hiperplasia das ilhotas de Langerhans, enquanto o grupo controle apresentou somente alterações morfológicas causadas pela ação do aloxano. Suspeita-se que a hiperplasia visualizada nos grupos teste pode ter relação com uma resposta a ação de componentes de *C. sicyoides*. Mesmo não identificando seu exato mecanismo de ação, percebeu-se que esta planta influencia no efeito protetor contra o diabetes.

Palavras-Chave: Diabetes Mellitus; aloxano; glicemia; fitoterapia.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disorder of multiple etiology characterized by chronic hyperglycaemia. The plant *Cissus sicyoides* is commonly known for its antidiabetic effect. The research objective was to analyze the possible protective effect of this plant in mice with DM induced by alloxan. Ten Swiss female

mice were treated with aqueous solution from *C. sicyoides* for a period of 30 days and induction of experimental diabetes with alloxan were used, they were named Test 1 and 2, with five animals each. Another ten animals were the control group that received just water. The animals were divided into 3 groups: Test 1 and 2 for treatment with 40 g L⁻¹ and 20 g L⁻¹ of aqueous plant extract and the control group that received just water. After the end of the treatment, all animals received three doses of alloxan 2%. After the fourth day of the last application, they were sacrificed, cardiac puncture for glucose dosage was performed, and pancreas was extracted for histological preparation. It was observed that test 1 and 2 showed significant differences in protective effect from DM when compared with the control group, but showed no significant difference between them (i.e. between Test 1 and 2), where glycemic levels were low. In histological sections, the effect observed was the same. Test groups showed hyperplasia of the islets of Langerhans, while the control group showed only morphological changes caused by the action of alloxan. It is suspected that hyperplasia visualized in test groups may be related to one response action to *C. sicyoides* components. Even without identifying its exact mechanism of action, it was noticed that this plant influences the protective effect against diabetes.

Keywords: Diabetes Mellitus; alloxan; glycemia; phytotherapy..

INTRODUÇÃO

A DM é uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia e associadas a complicações, disfunções e insuficiências de vários órgãos (olhos, rins, nervos, cérebro, coração e vasos sanguíneos), podendo resultar em defeitos de secreção e/ou ação da insulina envolvendo processos patogênicos específicos, como por exemplo, destruição das células beta (β) do pâncreas, resistência à ação da insulina, distúrbios da secreção da insulina, entre outros (1).

É uma patologia de incidência crescente, estimava-se que em 1995 atingia 4% da população adulta mundial, agora estima-se que em 2025, alcançará 5,4% da população mundial, sendo que parte desse aumento será em países em desenvolvimento, concentrando-se na faixa etária de 45-60 anos (2). Outro fator importante desta patologia está relacionado com os custos para atendimento ao diabetes variam de 4% a 15% dos gastos nacionais em saúde, dependendo da prevalência local da patologia e da complexidade do tratamento disponível (1).

Para os portadores de DM-I não existe cura, apenas tratamento, pois estes são insulino dependentes. Já para os portadores do DM-II que não respondem mais a métodos não medicamentosos, existem os hipoglicemiantes orais. Estes se classificam em: estimuladores da secreção de insulina (sulfoniluréias e glinidas), redutores da velocidade de absorção da glicose (inibidores da alfa-glicosidase), inibidores da gliconeogênese hepática (biguanidas) e/ou os utilizam a glicose periférica (glitazonas), ou seja, os que

umentam a secreção de insulina e os que não aumentam (3).

Para comprovação do efeito antidiabético das plantas medicinais, geralmente utiliza-se os testes em modelos animais, onde a DM é induzida quimicamente. O aloxano é uma substância que tem ação comprovada de seleção e destruição sobre as células β pancreáticas(4,5) induzindo assim o DM tipo I químico. Essa substância diabetogênica é usada para induzir o DM em animais experimentais quando em doses adequadas (6).

Além dos estudos para comprovação da propriedade antidiabética das plantas medicinais, pesquisas sobre o efeito protetor destas plantas também vêm sendo realizadas (7).

No Brasil há um grande número de plantas popularmente usadas para combater a DM. Cerca de 800 plantas com potencial antidiabético podem ser encontradas (8).

Muitos autores comprovaram o efeito antidiabético e hipoglicemiante de várias plantas. Algumas já eram popularmente utilizadas mesmo não tendo seu efeito comprovado cientificamente, dentre elas encontra-se a *Cissus sicyoides* (Figura 1).

Essa planta está incluída na seguinte classificação taxinômica: Reino *Plantae*, Subreino *Traquibionta*, Superdivisão *Spermatophyta*, Divisão *Magnoliophyta*, Classe *Magnoliopsida*, Subclasse *Rosidae*, Ordem *Rhamnales* e Família *Vitaceae* (9).

Popularmente esta planta é conhecida como insulina vegetal, anil trepador, cortina japonesa, tinta-dos-gentios, achite, cipó-pucá e uva brava (10-11).

C. sicyoides (*Cissusverticillata*) muito conhecida popularmente pelos seus efeitos antidiabéticos, hipoglicemiantes,

antioxidante, antimicrobiana (12,13) anti-inflamatória, anti-hipertensiva, antipirética, antipiléptica e antirreumático (10, 14-16). Esses efeitos podem advir dos compostos detectados nas folhas como: triterpenos

esteróides, compostos redutores, taninos, flavonóides, aminoácidos e compostos graxos (17,18).



Figura 1: Fotografia da planta 'in natura'. Fonte: Fotografia realizada pelos próprios autores no Horto de Plantas Medicinais do Refúgio Biológico de Itaipu Binacional, Foz do Iguaçu/PR, 2015

O extrato aquoso da *C. sicyoides* já foi utilizado em outros estudos em que avaliou se o efeito hipoglicemiante desta planta se assemelha com a ação das biguanidas, ou seja, diminui a absorção intestinal de glicose assim como a produção de gliconeogênese hepática, aumentando a sensibilidade do receptor insulínico (15- 16, 19).

São poucos os estudos encontrados sobre o efeito protetor contra o diabetes mellitus, por exemplo, Zanoello et al. avaliaram o efeito protetor do *Syzygiumcumini* contra o DM induzido com aloxano em ratos fêmeas, e foi possível concluir o efeito protetor desta planta contra o DM induzido com aloxano, porém sem comprovar se o efeito foi devido à elevação da glicemia em animais normoglicêmicos observados antes da indução ou a outro mecanismo desconhecido (7).

O objetivo geral deste trabalho foi analisar supostos efeitos protetores de *C. sicyoides* sobre o diabetes experimental induzido por aloxano em camundongos.

METODOLOGIA

1. Animais e indução do diabetes experimental

Foram utilizados 20 camundongos fêmeas da linhagem Swiss (*Mus musculus*), de oito semanas de vida, pesando cerca de 20 a 30g, provenientes do Biotério da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sendo mantidos no Biotério da Faculdade União das Américas, em condições convencionais, temperatura (20 ± 2) e umidade (50 ± 5), e fotoperíodo de 12 horas, recebendo água e ração padrão autoclavadas e oferecidos *ad libitum*.

Após o período de adaptação dos animais, eles foram separados aleatoriamente para compor os grupos experimentais, que foram divididos em:

Grupo teste 1: 5 (cinco) animais foram tratados com a infusão aquosa da planta, na concentração de 40 g L^{-1} , como única fonte hídrica durante o período de 30 dias.

Grupo teste 2: 5 (cinco) animais foram tratados com infusão aquosa da planta, na concentração de 20 g L^{-1} , como única fonte hídrica durante o período de 30 dias.

Grupo controle: 10 (dez) animais receberam água no lugar da infusão aquosa da planta, durante os 30 dias de tratamento. Este grupo foi considerado o grupo controle, sendo 5 animais controle para cada grupo teste.

Logo após o período de tratamento com a solução aquosa de *C. sicyoides*, os animais do grupo teste 1 e 2, permaneceram

em jejum de 12 horas com fornecimento de água livre (20). Após, os animais foram submetidos à indução do diabetes experimental com aloxano 2% (21), na dose de 40mg kg^{-1} após 12 horas de jejum, por via intraperitoneal (22). Posterior a indução, os animais receberam como única fonte hídrica, solução de glicose a 10% por 24 horas, sendo a alimentação mantida normalmente (20). A indução do diabetes experimental com aloxano também ocorreu no grupo controle.

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal/FAG, sob parecer número 035/2011.

1.1 Material vegetal e preparo da infusão aquosa

A planta utilizada foi coletada no mês de outubro de 2011, no Município de Foz do Iguaçu (Paraná, Brasil), no Refúgio Biológico Bela Vista da Itaipu Binacional e foi acondicionada no Laboratório de Bio Saúde da Faculdade União das Américas.

Para preparação da infusão aquosa, utilizou-se a parte folhosa *C. sicyoides*. As folhas foram passadas em água corrente, retirando o excesso de água e posteriormente foram secas em estufa a 50°C por 72 horas. A infusão de folhas foi preparada em duas concentrações, sendo uma de 20g de folhas secas para cada litro de água (20 g L^{-1}) e a outra com 40g de folhas secas para cada litro de água (40 g L^{-1}) e aquecidas a uma temperatura de aproximadamente 80°C (9, 22).

1.2 Determinação da glicose sanguínea e histologia

A glicemia de jejum (8 horas) foi monitorada após a indução do DM experimental com aloxano, através do uso de glicosímetro, retirando-se amostra de sangue da veia caudal do animal, utilizando para este fim lancetas estéreis. Os animais foram considerados diabéticos após leitura e confirmação da glicemia através de glicosímetro, com valores de glicose superiores a 250mg dL^{-1} ($13,8\text{ mM}$) (23).

Depois de mensurada a glicemia sanguínea, os animais foram sacrificados através do deslocamento cervical, após confirmada a morte do animal, retirou-se

amostras de sangue para posterior análise da glicemia, através de punção cardíaca.

Para o preparo histológico, o pâncreas foi removido e fixado no formol bruto a 10% durante duas horas, e depois lavado em água corrente por dois minutos. A seguir, foi iniciada a sequência de banhos com álcool etílico para a desidratação do material, onde foram realizados banhos de 20 minutos para cada um dos álcoois: 70%, 80%, 90%, exceto o 100%, que recebeu dois banhos.

Posteriormente realizou-se a diafinização, utilizando álcool/xilol (1:1) em um banho de 20 minutos, seguido de três banhos de 20 minutos de xilol 100%. Então, o material foi incluído em parafina, e permaneceu em estufa a 58°C durante duas horas. Após esse período, os órgãos foram emblocados e cortados por micrótomo em cortes com espessura de $6\mu\text{m}$. Para proceder a coloração, foi necessário efetuar a desparafinização e a hidratação. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE).

1.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por meio do software Statistica (Stat Soft Inc., Tulsa, OK, USA), sendo que os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) dos grupos.

Todas as medidas obtidas nos procedimentos experimentais foram testadas quanto à homogeneidade da variância e normalidade da distribuição. As variáveis, que apresentaram distribuição normal e variância homogênea, foram analisadas segundo o teste de variância (ANOVA) de uma via. Em seguida, as comparações entre os grupos ou entre os tratamentos foram realizadas através do teste *post hoc* de Newman Keuls. O nível de significância a ser considerado foi $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após três tentativas de indução com aloxano 2%, sendo duas doses de 40mg kg^{-1} de peso do animal e uma de 60mg kg^{-1} , foi diagnosticado DM nos grupos controles, o mesmo demonstrado em outro estudo (7).

Os níveis de hiperglicemia em ambos os grupos testes foram baixos quando comparados com o grupo controle, como demonstrados na Tabela 1. No entanto, consideramos como valor de referência para

DM igual ou acima de 250 mg dL^{-1} , pode-se considerar apenas o grupo II e o grupo controle diabéticos (24).

Tabela 1: Média dos níveis de glicemia dos grupos testes (1 e 2), além do controle

| Grupos | Média das Glicemias (mg/dL^{-1}) |
|---------------------------------|---|
| Teste 1 (40 g L ⁻¹) | 174,6 |
| Teste 2 (20 g L ⁻¹) | 268,2 |
| Grupo Controle | 436,2 |

Ao analisar na Figura 1 observa-se que houve diferença significativa entre o Grupo Teste 1 ($F(2,17)=7,24$, $p=0,008601$) e o Grupo Teste 2 ($F(2,17)=7,24$, $p=0,041811$) quando comparados com o grupo controle, porém, o Grupo Teste 1 e o Grupo Teste 2 não apresentaram diferença significativa entre si, ou seja, não houve diferença significativa entre as doses aplicadas, 20 e 40 g L^{-1} , isto é, não segue o padrão de dose-resposta. Estes resultados sugerem que a infusão aquosa de *C. sicyoides*, na concentração de 40 g L^{-1} pode ter exercido

efeito protetor sobre a DM induzida por aloxano em camundongos fêmeas Swiss, pois a glicemia do animal nesta dose manteve-se abaixo do valor estipulado para ser classificado como diabético (250 mg dL^{-1}).

Já a infusão de *C. sicyoides* na concentração de 20 g L^{-1} , não reduziu a glicemia, pois os animais apresentaram glicemia superior a 250 mg dL^{-1} , sendo assim, os animais deste grupo foram considerados diabéticos.

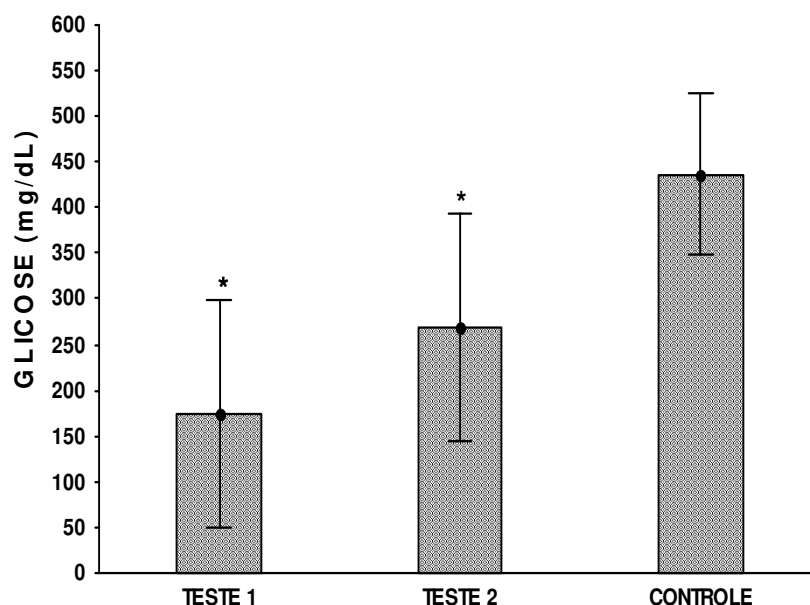


Figura 1: Média \pm erro padrão da glicemia (mg dL^{-1}) dos camundongos do grupo controle e dos grupos teste 1 e 2, com 40 g L^{-1} e 20 g L^{-1} , respectivamente, da infusão aquosa de *C. sicyoides*. Existência de diferenças significativas em entre o Grupo controle e os grupos testes, usando o teste *post hoc* de Newman Keuls, com nível de significância de $p < 0,05$.

A dose de aloxano influencia na severidade da destruição das células beta pancreáticas (22). No entanto, estudos demonstram que tais células são capazes de produzir um mecanismo de defesa diante de tal agressão se tornando menos suscetível a drogas ou ao seu mecanismo de degeneração celular devido à produção de substâncias utilizadas durante a destruição intracelular minimizando a toxicidade do agente diabotogênico (7).

Através da análise histológica foi possível observar em ambos os grupos testes a ocorrência de hiperplasia das ilhotas de Langerhans apresentadas nas Figuras 2B e 2C quando comparados com as ilhotas encontradas no grupo controle (figura 2A) e com uma ilhota de Langerhans normal (figura 2A).

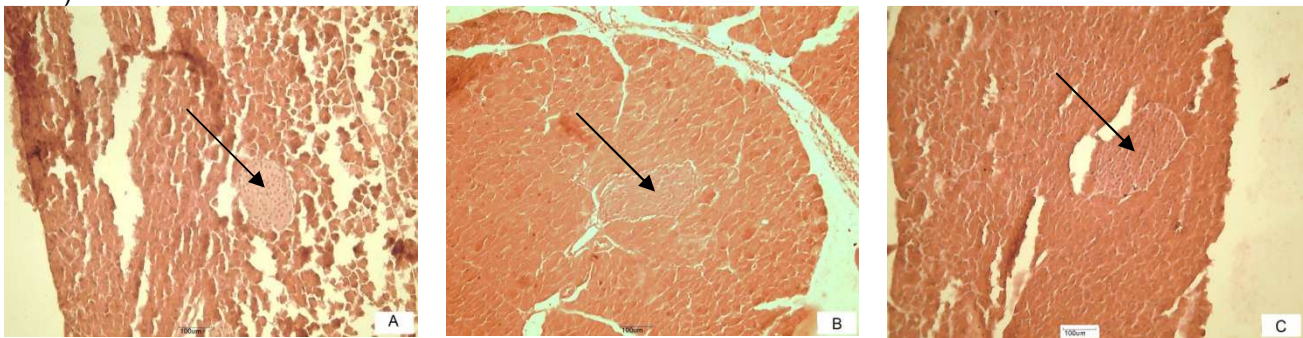


Figura 2. **A)** Setas indicam a Ilhota de Langerhans encontradas no grupo controle (objetiva de 10x, ocular 10x, aumento de 100x); **B)** Ilhota de Langerhans hiperplásicas encontradas no grupo teste 1 indicadas pela seta (objetiva de 10x, ocular 10x, aumento de 100x); **C)** Ilhotas de Langerhans hiperplásicas encontradas no grupo teste 2 indicadas pela seta (objetiva de 10x, ocular de 10x, aumento de 100x).

Esse tipo de hiperestimulação também pode ser observada no insulinoma que se caracteriza por um tumor benigno funcional das células beta das ilhotas de

Langerhans ou em doenças genéticas como Hipoglicemia Hiperinsulinêmica Persistente da Infância, a HHPI(28-29).

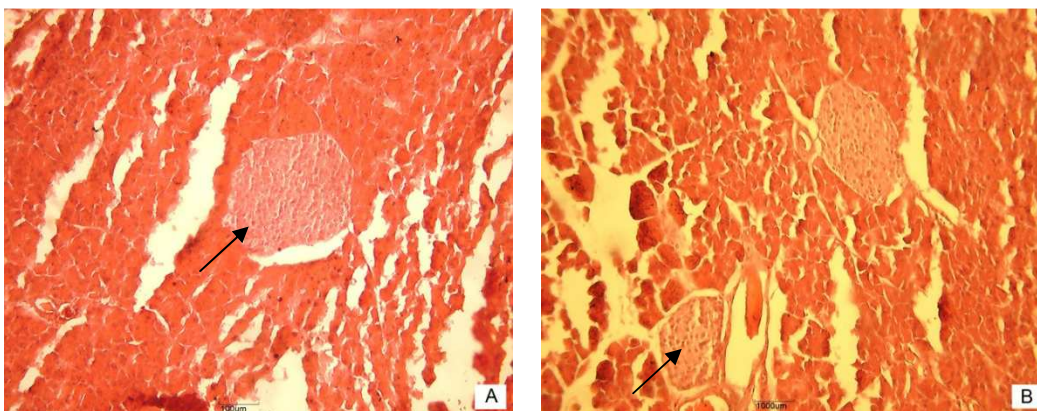


Figura 3. **A)** Corte histológico do pâncreas do grupo controle demonstrando as ilhotas de Langerhans alteradas (seta) pela ação do aloxano (objetiva de 10x, ocular 10x, aumento de 100x); **B)** Corte histológico

do pâncreas do grupo controle demonstrando as Ilhotas de Langerhans com tamanhos normais, indicados pela seta (objetiva de 10x, ocular 10x, aumento de 100x).

Após a ação do aloxano para indução do diabetes experimental observa-se que as células das ilhotas de Langerhans demonstram-se dispersas e de forma distorcida, assim como obtivemos no grupo controle (Figura 3A) (30).

Ainda no grupo controle foi possível observar que o tamanho das ilhotas estão normais (figura 3B) e não hiperplásicas como observados nos grupos testes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego de plantas medicinais nos programas de saúde atuais, principalmente no Programa Saúde da Família, ainda sofre certo preconceito, mesmo sendo este tipo de tratamento usado popularmente desde a era cristã. Diversas patologias podem ser

curadas, tratadas e até mesmo prevenidas por meio do uso das plantas medicinais, sendo uma delas o Diabetes Mellitus.

De acordo com dados obtidos nesta pesquisa, *C.sicyoides* apresentou efeito protetor contra o DM em camundongos Swiss fêmeas induzidos por aloxano, demonstrando alterações significativas tanto nos padrões glicêmicos como nos padrões histológicos do pâncreas. Ainda não se sabe qual o exato mecanismo de ação protetor da infusão aquosa da *C. sicyoides*, porém, observou-se que na concentração maior utilizada (40 g L⁻¹) não detectamos glicemias maiores que 250 mg dL⁻¹ (valor indicativo para glicemia em camundongos), sugerindo um possível efeito de proteção contra o diabetes.

REFERÊNCIAS

- (1) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Diabetes Mellitus**, 2006. Disponível em: <http://dab.saude.gov.br/docs/publicacoes/cadernos_ab/abcd16.pdf>. Acesso em: 26 ago. 2011.
- (2) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Diabetes Mellitus**, 2006. Disponível em: http://dab.saude.gov.br/docs/publicacoes/cadernos_ab/abcd16.pdf. Acesso em: 26 ago. 2011.
- (3) Sociedade Brasileira de Diabetes. **Tratamento e Acompanhamento do Diabetes Mellitus**: Diretrizes da SBD, 2006. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/diretrizes.pdf> >. Acesso em: 26 ago. 2011.
- (4) BOWMAN, W. C.; RAND, M. J. **Bases bioquímicas y patológicas, aplicaciones clínicas**: Sistema endocrino y drogas que a
- fectamsufunción. 2 ed. México: Nueva Editorial Interamericana, 1984.
- (5) MONTILLA, P.L., *et al.* Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: Protective effects of melatonin. **J. Pineal Res.** v. 25, n. 2, p. 94-100, 1998.
- (6) MULDER, H., *et al.* Islet amyloid polypeptide (amylin)- deficient mice develop a more severe form of alloxan-induced diabetes. **Am J PhysiolEndocrinolMetab**, v.278, n. 4, p. 684-691, 2000.
- (7) ZANOELLO, A.M., *et al.* Efeito protetor do *Syzygiumcumini* contra Diabetes Mellitus induzido por aloxano em ratos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 21, n. 1, p. 31-36, 2002.
- (8) CARVALHO, A.C.B.; DINIZ, M.F.F.M.; MUKHERJEE, R. Estudos da atividade antidiabética de algumas plantas de uso popular contra diabetes no Brasil. **Rev. Bras. Farm.** v. 86, n. 1, p. 11-16, 2005.

- (9) BRAGA, T.V. **Avaliação da atividade farmacológica de *Cissusverticillata* Nicolson & C. E. Jarvis subsp. *Verticillata* como antioxidante, antifúngico, hipoglicemiante e cicatrizante.** 2008. 202 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008.
- (10) BELTRAME, F.L., *et al.* Estudo fitoquímico e avaliação do potencial antidiabético do *cissussicyoides*L. (VITACEAE). **Rev. Quim. Nova.**v. 24, n. 6, p. 783-785, 2001.
- (11) OLIVEIRA, S.L.C.; FILHO, W.D.L. AIDS e Diabetes Mellitus versus justiça distributiva no sistema público de saúde. **Rev. Bras. Enferm.** v. 57, n. 6, p. 750-753, 2004.
- (12) MURTHY, K.N.C., *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of *Cissusquadrangularis*L. **J. Med. Food**, v. 6, n. 2, p. 99-105, 2003.
- (13) SILVA, L., *et al.* Biciclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissusverticillata*(L.). Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Rev. Bras. Farmacogn.**v. 17, n. 3, p. 361-367, 2007.
- (14) GARCIA, M.D., *et al.* Anti-inflammatory activity of *Agave intermixta* Trel. And *Cissus sicyoides* L., species used in the Caribbean traditional medicine. **J. Ethnopharmacol.** v. 71, n. 3, p. 395-400, 2000.
- (15) VIANA, G.S.B., *et al.* Hypoglycemic and anti-lipemic effects of the aqueous extract from *Cissussicyoides*. **BMC Pharmacology**, v. 4, p. 9-15, 2004.
- (16) PEPATO, M.T., *et al.* *Cissus sicyoides* (princess vine) in the long-term treatment of streptozotocin-diabetic rats. **Biotechnol Appl Biochem**, v. 37, n. 1 p. 15-20, 2003.
- (17) LIZAMA, R.S.; MARTINEZ, M.M.; PEREZ, O.C. Contribuciónalestudio de *Cissussicyoides*L. **Rev. Cubana de Farmácia**, v. 34, n. 2, p. 120-124, 2000.
- (18) BARBOSA, W.L.R., *et al.* Flavonóides de *Cissus verticillatae* a atividade hipoglicemiante do chá de suas folhas. **Rev. Bras. Farmacogn**, v. 12, n.1, p. 13-15, 2002.
- (19) KESTER, M., *et al.* **Farmacologia: hipoglicemiantes.** Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- (20) CAVALLI, V.L.L.O., *et al.* Avaliação *in vivo* do efeito hipoglicemiante de extratos obtidos da raiz e folha de bardana *Arctiumminus* (Hill.) Bernh. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 17, n. 1, p. 64-70, 2007.
- (21) CARVALHO, E.N.; CARVALHO, N.A.S.; FERREIRA, L.M. Modelo experimental de indução do *diabetes mellitus* em ratos. **Acta Circ Bras.** v. 18, n.1, p. 60-64, 2003.
- (22) SOARES, J.C.M.; COSTA, S.T.; CECIM, M. Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com *Diabetes Mellitus* aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. **Ciência Rural.** v. 30, n. 1, p. 113-118, 2000.
- (23) ABREU, I.N., *et al.* Nitrogênio e fósforo na produção vegetal e na indução de mucilagem em plantas de insulina. **Hortic.Bras.**v. 20, n. 4, p. 536-540, 2002.
- (24) ITOH, N.; TSUJIMOTO, Y.; NAGATA, S. Effect of bcl-2 on Fas antigen-mediated cell death. **J Immunol.** v. 151, n. 2, p. 621-627, 1993.
- (25) KOSHY, A.S.; VIJAYALAKSHMI, R. Impact of certain flavonoids on lipid profiles. Potential action of Garciniacambogia flavonoids. **Phytother.Res.** v. 15, n. 5, p. 395-400, 2001.

- (26) OJEWOLE, J.A. Hypoglycaemic effect of *Clausenaaanisata* (willd) Hook methanolic root extract in rats. **J.Ethnopharmacol.** v. 81, n. 2, p. 231-237, 2002.
- (27) NEGRI, G. Diabetes Mellitus: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 41, n.2, p. 121-142, 2005.
- (28) PALLADINO, A.A.; BENNETT, M.J.; STANLEY, C.A. Hiperinsulinismo na infância: quando apenas uma dosagem de insulina não é suficiente. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 44, n. 6, p. 413-422, 2008.
- (29) ESPÍNDOLA, I.P., *et al.* Nesidioblastose: relato de caso. In: Terceira Jornada Interdisciplinar em Saúde. 2010, Santa Maria. **Promovendo Saúde na Contemporaneidade:** desafios de pesquisa, ensino e extensão. Santa Maria: JS, 2010.p. 7.
- (30) LIMA, M.A., *et al.* Análise quantitativa das células das ilhotas pancreáticas em ratos sob efeito de aloxana. **Medicina, Ribeirão Preto.** v. 34, n. 1, p. 308-314, 2001.

Enviado: 31/07/2014
Aceito: 18/01/2016
Publicado: 31/08/2016