

**UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA
INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO**

Maria Juciára de Abreu Reis Guimarães

**“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA *Bauhinia
forficata* (PATA-DE-VACA) NO PERFÍL GLICÊMICO E LIPÍDICO
DE RATOS “WISTAR” MACHOS EM MODELO DE DIABETES
INDUZIDA POR ALOXANO”**

São José dos Campos, SP

2005

Maria Juciára de Abreu Reis Guimarães

**“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA
Bauhinia forficata (PATA-DE-VACA) NO PERFÍL GLICÊMICO E
LIPÍDICO DE RATOS “WISTAR” MACHOS EM MODELO DE
DIABETES INDUZIDA POR ALOXANO”**

“The effect avaluation of hidric extract of *Bauhinia forficata* (cow-paw) in glicemic and lipidic level of male “wistar” rats in diabetics models induced”

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, como complemento dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador. Prof. Dr. Wellington Ribeiro

São José dos Campos, SP

2005

G979a

Guimarães, Maria Juciára de Abreu Reis

Avaliação dos efeitos do extrato aquoso da *bauhinia forficata* (pata-de-vaca) no perfil glicêmico e lipídico de ratos "wistar" machos em modelo de diabetes induzida por aloxano / Maria Juciára de Abreu Reis Guimarães.
São José dos Campos: UniVap, 2005.

72f.: il.; 30cm.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2005.

1. Fitoterapia 2. Diabetes Mellitus Experimental 3. Aloxano I. Ribeiro, Wellington ,
Orient. II. Título

CDU:633.88

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiador ou transmissão eletrônica.

Aluno:

Data: 10.10.5/2005

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA *Bauhinia forficata*
(PATA-DE-VACA) NO PERFIL GLICÊMICO E LIPÍDICO DE RATOS “WISTAR”
MACHOS EM MODELO DE DIABETES INDUZIDA POR ALOXANO”**

Maria Juciára de Abreu Reis Guimarães

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Vicente Franco Oliveira (UNIVAP).....

Prof. Dr. Wellington Ribeiro (UNIVAP).....

p/ Profª Dra Fabiana Gatti (USP).....

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco

Diretor IP&D – UNIVAP

São José dos Campos,

Dedico este trabalho aos meus pais José Reis e Branca (*in memoriam*) pela dádiva da vida e aos meus filhos Luciana e Luís Otávio, razão do meu prosseguir.

Agradecimentos

Ao responsável por tudo o que sou e por mais esta etapa: *Jesus Cristo*.

Ao meu orientador Prof. Dr. Wellington Ribeiro, pela amizade, ajuda e compreensão.

Aos professores Profa Dra Cristina Pacheco Soares e Prof. Dr. José Carlos Cogo pelo voto de confiança depositado.

Aos colegas e amigos Flavio Aimbire, Maria José Bandeira, Carlos Minné, Pombo, Rafaela, Gustavo, Labat, cuja ajuda foi valiosa na realização deste trabalho.

As amigas Ana Maria e Luciana pelas palavras de conforto e de apoio.

Aos meus familiares pela compreensão dos momentos ausentes.

E especialmente ao meu filho Luís, pela ajuda no tratamento dos animais, elaboração dos gráficos e por deixar aflorar o seu amor para a pesquisa.

Nem sempre ganha na batalha da vida
O mais forte ou mais rápido homem,
Mas, cedo ou tarde, o homem que vence
É o homem que pensa e acredita que pode.

(Anônimo)

Resumo

O presente estudo verificou os efeitos da infusão de folhas de *Bauhinia forficata* (*Bf*) (150g/l água) em substituição a água de beber em ratos Wistar machos diabéticos induzidos por aloxano. Noventa e dois ratos Wistar machos adultos com peso corporal variando entre $181,87g \pm 12,2$ foram tratados com uma única dose de aloxano (40mg/kg i.v.) para induzir o *Diabetes Mellitus* Tipo I (DM I). Três dias após a indução, a hiperglicemia foi confirmada, com níveis médios de $362,5mg/dL \pm 74,4$. Animais diabéticos foram separados em 2 grupos de 8 animais e 4 grupos de 19 animais cada. Dois experimentos foram realizados. No experimento I, 19 ratos diabéticos crônicos (31 dias sem tratamento) e no experimento II, 19 ratos diabéticos crônicos (41 dias sem tratamento), receberam infusão de *Bf*, por via oral, por um período de 40 e 60 dias. No experimento I e II respectivamente, os parâmetros clínicos e laboratoriais avaliados, foram: peso médio corporal, peso médio do fígado e dos rins, ingesta média diário de ração e líquido, glicose plasmática, triglicérides plasmático, colesterol total plasmático e frações. Ao final de ambos os experimentos, amostras de sangue (5ml) foram coletadas por punção cardíaca em todos os animais previamente anestesiados. Os ratos diabéticos tratados de ambos os experimentos mostraram uma significativa redução na glicose e triglicérides plasmático quando comparado com o grupo não tratado. Além disso, os sinais clínicos da DM tipo I, como polifagia, polidipsia foram reduzidos nestes grupos. Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que o uso da infusão de *Bf* como substituto da água de beber é eficiente no controle da hiperglicemia, hipertrigliceridemia e na redução dos sinais clínicos da DM tipo I.

Palavras-chaves: *Bauhinia forficata*, *Diabetes Mellitus*, aloxano.

Abstract

The present study verified the effects of *Bauhinia forficata* leaf infusion (150g leaf/l water) as a drinking-water substitute in male Wistar rats alloxan-induced. Ninety two adult male Wistar rats with body weight ranging from $181,87\text{g} \pm 12,2$ were treated with a single dose of alloxan (40mg/kg i. v.) to induce *Diabetes Mellitus Type I* (DM I). Three days after the induce, hyperglycemia was confirmed with mean level of $362,5\text{ mg/dL} \pm 74,4$. Positive animals were allocated into 2 groups of 8 rats and 4 groups of 19 rats each. Two experiments were performed. In the first 19 rats chronic diabetes (31 days untreated), in the second 19 rats chronic diabetes (41 days untreated) received decoction leaf of *Bauhinia forficata* as a drinking-water substitute for a period of 40 and 60 days for experiments I and II respectively. The clinical and laboratory parameters measured were: mean body weight, mean weight liver and kidney, mean intake food and liquid, plasma glucose, plasma triglycerides, plasma cholesterol total and fraction. At the end of both experiments sample the blood (5ml) was collected by cardiac puncture with whole animals previously anaesthetize. The diabetic rats treated with infusion of *Bf* in both experiments showed a significant reduction in plasma glucose and plasma triglycerides as compared to untreated group. Moreover clinical signs of DM I like polyfagia, polydpsia were attenuated in this groups. In conclusion, the result suggest that the use of an infusion of leaf of *Bf* insteated of water is efficient in the control of hyperglycemia, hypertriglyceridemia and reduction of clinical signs of DM I.

Key words: *Bauhinia forficata*; *Diabetes mellitus*; hypoglycemia; hipotriglyceridemia; alloxan; body weight

SUMÁRIO

1. Introdução.....	01
1.1 Fatores de Risco para o Diabetes.....	02
1.1.1 Diabetes do Tipo I.....	03
1.1.2 Diabetes do Tipo II.....	03
1.2 Classificação da Neuropatia Diabética.....	05
1.2.1 Neuropatia periférica.....	05
1.2.2 Neuropatia autonômica.....	06
1.2.3 Neuropatia de início agudo.....	07
1.2.4 Caquexia diabética neuropática.....	08
1.3 Metabolismo Lipídico no Diabetes Melito.....	09
1.3.1 Triglicerídeos.....	09
1.3.2 HDL-colesterol.....	09
1.3.3 LDL-colesterol.....	10
1.3.4 Lipoproteínas.....	10

1.4 Fitoterapia no Tratamento do Diabetes Melito.....	12
2. Objetivos.....	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específicos.....	16
3. Material e Métodos.....	17
3.1 Animais.....	17
3.1.1 Estabelecimento dos Padrões de Normalidade de Glicemia Pós Prandial em Ratos Sadios.....	17
3.2 Coleta do Material Botânico	18
3.3 Preparação da Infusão.....	18
3.4 Manejo e Acondicionamento.....	19
3.5 Indução.....	19
3.6 Verificação da Glicemia.....	20
3.7 Avaliação do Peso Corpóreo.....	21
3.8 Parâmetros Estudados.....	22
3.9 Parâmetros Nutricionais.....	22

3.10 Momentos de Avaliação.....	22
3.11 Coleta de dados.....	23
3.1.2 Coleta de Sangue e Análise Bioquímica.....	23
4. Resultado.....	25
5. Discussão.....	41
6. Conclusão.....	47
Referência Bibliográfica.....	48
Anexos.....	54

Lista de Figuras

- Figura 1** – Foto da planta *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), encontrada no município de São José dos Campos, São Paulo.....15
- Figura 2** - Níveis plasmáticos da glicemia (mg/dL) em ratos não diabéticos (Cont.) e após 3 dias da indução do diabetes por aloxano.....26
- Figura 3** - Evolução da glicemia em animais diabéticos tratados por 40dias (DT) e não tratados (DNT) no período de 50 dias.....28
- Figura 4** - Evolução da glicemia em animais diabéticos tratados por 60dias (DT) e não tratados (DNT) no período de 80dias.....29
- Figura 5** - Peso corporal (g) apresentado ao final do experimento por ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais32
- Figura 6** - Níveis plasmáticos da glicemia (mg/dL) observados em ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais.....34
- Figura 7** - Níveis plasmáticos de triglicérides (mg/dL) observados em ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais.....35
- Figura 8** - Níveis plasmáticos do colesterol (mg/dL) observados em ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais.....36
- Figura 9** - Níveis plasmáticos de HDL colesterol (mg/dL) observados em ratos Wistar no diferentes grupos experimentais.....37

Lista de Tabelas

- Tabela 1-** Distribuição da prevalência de diabetes no Brasil, por faixa etária.....01
- Tabela 2-** Prevalência do diabetes e intolerância à glicose na população de 30 a 69 anos em algumas capitais brasileiras.....02
- Tabela 3-** Número de óbitos entre os animais diabéticos tratados (DT) e diabéticos não tratados (DNT) durante o experimento.....25
- Tabela 4-** Efeitos do aloxano nos níveis de glicose sanguínea no terceiro dia após indução experimental do diabetes.....26
- Tabela 5-** Evolução da glicemia durante o período de 40 dias de tratamento.....27
- Tabela 6-** Evolução da glicemia durante o período de 60 dias de tratamento.....28
- Tabela 7-** Consumo médio diário de líquido (ml) e ração (g) para os animais dos diferentes grupos experimentais.....31
- Tabela 8-** Peso corporal (g) e visceral (g) de animais controle (Controle 40d e 60d), diabéticos não tratados (DNT) e diabéticos tratados (DT), ao final do período experimental.....33
- Tabela 9-** Parâmetros metabólicos obtidos para os diferentes grupos experimentais.....38
- Tabela 10-** Média do peso corporal pré indução e pós indução, ingesta médio diário de ração (g) e Quociente de Eficiência Alimentar (QEA) dos animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais.....39

Lista de Abreviaturas , Símbolos e Siglas

AC	Antes de Cristo
Apo A1	Apolipoproteína
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
ICAM 1	Moléculas indutoras da adesão de leucócitos
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
OMS	Organização Mundial da Saúde
<i>S. aureus</i>	<i>Streptococcus aureus</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
VCAM	Moléculas indutoras da adesão celular
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade

1. Introdução

O Diabetes é uma doença conhecida desde a antiguidade. Mil anos A.C. o pai da medicina na Índia, Susruta, diagnosticou o Diabetes (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000; DAVIDSON, 2001; OLIVEIRA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2001). Caracterizada por elevados níveis de glicose no sangue e excesso de urina com sabor adocicado. É um dos mais importantes problemas mundiais de saúde em praticamente todo o mundo, especialmente em países em desenvolvimento, onde são observados os maiores índices de prevalência e incidência, sendo que projeções da OMS para 2025 sugerem que esse número possa chegar a 300 milhões (LERCO et al., 2003). Estima-se que no Brasil, existam mais de 5 milhões de diabéticos, dos quais metade desconhece o diagnóstico (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 1997). De acordo com os dados obtidos pelo Estudo Brasileiro de Prevalência do Diabetes, realizado em 1990 em 9 capitais brasileiras, evidenciou-se que o diabetes apresenta uma maior incidência nos grupos populacionais com idade mais elevada, sendo que no grupo mais idoso (60 a 69 anos), esta prevalência é de 14,7% (Tabela 1), o que significa que para cada seis indivíduos da população geral, nessa faixa etária, um é diabético (LERÁRIO, 1998).

Tabela 1

Distribuição da prevalência de diabetes no Brasil, por faixa etária.

Faixa etária (anos)	Prevalência (%)	Razão
30 – 39	2,7	1 : 37,0
40 – 49	5,5	1 : 18,2
50 – 59	12,7	1 : 7,9
60 – 69	14,7	1 : 5,6

Fonte: LERARIO, 1998.

É uma doença freqüente em praticamente todas as regiões do país, sendo que aproximadamente 50% das pessoas com diabetes desconhecem sua condição mórbida e

10% delas são portadoras de diabetes Tipo I (LERCO et al., 2003). A incidência da doença independe das diferenças de latitude, clima, hábitos alimentares, etnias e nível sócio econômico, apesar de ocorrerem índices mais elevados em São Paulo (9,7%) e Porto Alegre (8,9%), como pode se observar na Tabela 2 (LERÁRIO, 1998).

Tabela 2

Prevalência do diabetes e intolerância à glicose na população de 30 a 69 anos em algumas capitais brasileiras.

Prevalência (%)		
Capital	Diabete melito	Intolerância à glicose
Belém	7,2	9,5
Brasília	5,2	4,5
Fortaleza	6,5	5,8
João Pessoa	7,9	7,2
Porto Alegre	8,9	12,2
Recife	6,4	5,4
Rio de Janeiro	7,5	9,2
Salvador	7,9	4,8
São Paulo	9,7	11,2
Total	7,6	7,8

Fonte: LERÁRIO, 1998.

1.1 Fatores de Risco Para o Diabetes

Estudos recentes demonstram que as duas formas clínicas principais do diabetes espontâneo, denominadas diabete do Tipo I e do Tipo II, apresentam causas etiopatogênicas distintas que explicam as diferenças de suas apresentações clínicas, porém possuem em

comum a incapacidade da manutenção da homeostase glicêmica e das conseqüências crônicas que destas decorrem (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000; DE FRONZO; BONNADONA;FERRANNINI, 1992; THAI;EISENBARTH, 1993).

1.1.1 Diabetes do Tipo I

O diabetes do Tipo I ou diabete juvenil ocorre predominantemente em indivíduos jovens nas suas duas primeiras décadas de vida e caracteriza-se clinicamente por insuficiência de secreção pancreática de insulina, obrigando seu portador à utilização de injeções diárias de insulina para sua sobrevivência. Clinicamente, esses pacientes, que são geralmente magros, apresentam quadro clínico mais intenso, com tendência a descompensações metabólicas freqüentemente acompanhadas por desidratação, cetoacidose aguda e coma (LERÁRIO, 1998). Esta forma de diabetes resulta de uma deficiência grave e absoluta de insulina causada por uma redução da massa de células β das ilhotas de Langerhans. Três mecanismos são responsáveis pela destruição das células β das ilhotas: suscetibilidade genética, auto-imunidade e agressão ambiental, o diabetes surge após a destruição da maioria das células β (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000; DAVIDSON, 2001).

1.1.2 Diabetes Tipo II

Chamado de diabetes do adulto ou da maturidade por ocorrer predominantemente em indivíduos a partir da quarta década de vida, é a forma mais freqüente dessa patologia. Clinicamente, em geral é associado à obesidade, apresentando diferentes graus de deficiência insulínica que podem produzir alterações do metabolismo dos hidratos de carbono, que variam desde pequena intolerância à glicose até a forma insulinopênica, que exige o uso terapêutico com insulina exógena. O estudo histopatológico do tecido pancreático desses pacientes não evidencia destruição da célula beta, não apresentando

associação com doenças auto-imunes, assim como não é detectada a presença de anticorpos circulantes (LERÁRIO, 1998).

A alteração fisiopatológica mais característica do diabetes do Tipo II baseia-se na menor sensibilidade às células alvo à ação da insulina (resistência à insulina), que na fase inicial da doença produz uma hiperinsulinemia compensatória. Como consequência, através de um mecanismo ainda desconhecido, ocorreria a exaustão da capacidade secretória da célula beta, perdendo o organismo a sua capacidade de manter a homeostase glicêmica no jejum (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000; DAVIDSON, 2001; LERÁRIO, 1998). O diabetes Tipo II têm início em um estado de hiperinsulinemia, sem alteração do controle glicêmico, seguido por um estado de hipoinsulinemia gradual, inicialmente insuficiente para manter os níveis glicêmicos pós-prandiais e, posteriormente, pela incapacidade de manter a glicemia normal de jejum (LERÁRIO, 1998). É um distúrbio multifatorial complexo, que envolve uma redução na liberação de insulina, resultando em deficiência relativa do hormônio, bem como uma falta de sensibilidade dos órgãos terminais (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000).

Apesar de possuírem diferentes mecanismos etiopatogênicos e fisiopatológicos, cada uma das duas formas clínicas do diabetes, por ter como elemento comum à hiperglicemia crônica, está igualmente sujeita às complicações crônicas da doença (LERÁRIO, 1998).

Em uma base relativa, as pessoas com diabetes têm 25 vezes mais probabilidade de sofrer doença renal, 20 vezes mais de ter uma gangrena, 30 a 40 vezes mais de sofrer uma amputação. Sendo a causa principal de cegueira em indivíduos entre 20 e 74 anos de idade nos países industrializados (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000; DAVIDSON, 2001).

O diabetes não tem cura, sendo uma síndrome com componentes metabólicos, vasculares e neuropáticos inter-relacionados.

A síndrome metabólica corresponde a alterações no metabolismo dos carboidratos, das gorduras e das proteínas, que são secundárias a uma ausente ou acentuadamente diminuída secreção de insulina e/ou a uma ação deficiente desta (SILVA et al., 2002).

A síndrome vascular consiste em anormalidades nos grandes vasos (macroangiopatia) como nos pequenos vasos (microangiopatia) (DAVIDSON, 2001).

As alterações macroangiopáticas causam acidentes cerebro-vasculares, infartos miocárdios e doença vascular periférica (gangrena), a qual é cerca de cem (100) vezes mais freqüente em diabéticos do que na população em geral (DAVIDSON, 2001).

As microangiopatias é um dos componentes morfológicos mais consistentes do diabetes, sendo devido ao espessamento difuso das membranas basais dos capilares renais e medula renal, capilares da pele, músculos esqueléticos e retina.

Os rins constituem os principais alvos do diabetes. A insuficiência renal ocupa o segundo lugar depois do infarto do miocárdio como causa de morte nesta doença (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000; DAVIDSON, 2001).

A microangiopatia diabética, com comprometimento da microcirculação, envolve disfunção endotelial, diminuição da vasomotricidade e da deformabilidade das hemácias, além de aumento da permeabilidade e da adesão leucocitária em vênulas pós capilares. Estes distúrbios microcirculatórios são os maiores contribuintes da alta mortalidade e morbidade em diabetes (GONZALEZ et al., 2001).

A neuropatia também desempenha um importante papel no aumento da morbidade e da mortalidade sofrida pelos indivíduos com diabetes. Embora não seja conhecido o mecanismo exato, é geralmente admitido que a causa seja a hiperglicemia a longo termo.

1.2 Classificação da Neuropatia Diabética

1.2.1 Neuropatia periférica

É a forma mais precoce, mais largamente reconhecida e provavelmente a mais comum das neuropatias diabéticas. É uma complicação comum, intimamente relacionada

com a duração do diabetes. A prevalência global na população diabética é de 25% a 35% (DAVIDSON, 2001).

A neuropatia periférica é uma polineuropatia sensitivo-motora de início gradual, que geralmente é progressiva. As pernas são quase sempre afetadas mais cedo do que as mãos. À medida que a neuropatia periférica progride, os pés ficam entorpecidos e o paciente é incapaz de sentir o trauma. Adicionalmente, o envolvimento das fibras motoras pode causar debilidade muscular e atrofia. Isto pode causar deformidade dos pés, incluindo as áreas que recebem aumento de pressão e se manifestam inicialmente pela formação de calos. Estes repetidos traumas nos pés podem destruir as estruturas articulares, com subsequente achatamento do arco do pé. Como os pacientes têm uma diminuição das sensações nos pés, estas áreas podem se ulcerar. Uma vez que a integridade da pele foi perdida, a possibilidade de uma infecção grave é maior, especialmente se o paciente é muito hiperglicêmico (DAVIDSON, 2001).

A combinação da perda de sensação induzindo à ulceração da pele com a diminuição da circulação, é a causa-raiz do grande número de amputações das extremidades inferiores em pacientes diabéticos (DAVIDSON, 2001).

1.2.2 Neuropatia autonômica

Embora vários testes possam revelar anormalidades no funcionamento do sistema nervoso autônomo (tanto o simpático como o parassimpático) no início da evolução do diabetes, os sinais e sintomas clínicos aparecem muito mais tarde e quase sempre depois que a neuropatia periférica está estabelecida (DAVIDSON, 2001).

A taquicardia em repouso é a principal manifestação clínica cardiovascular que ocorre na fase inicial da neuropatia autonômica, podendo causar hipotensão postural (ortostática), que tem sido definida de dois modos: ou um acréscimo de 30mmHg na pressão sanguínea sistólica ou uma queda de 10mmHg na diastólica dois minutos depois da

posição ereta. Os pacientes se queixam de tonteados, fraqueza, náusea e, ocasionalmente, vômitos ou síncope quando ficam em pé rapidamente.

A neuropatia autonômica pode envolver todas as partes do trato gastrointestinal: esôfago, estômago, vesícula biliar, intestino delgado e grosso (COTRAN;KUMAN;COLLINS, 2000; DAVIDSON, 2001).

A disfunção da bexiga em homens, a ejaculação retrógrada e impotência são resultados da neuropatia autonômica envolvendo o trato geniturinário.

A impotência (disfunção erétil) é, infelizmente, um problema freqüente em pacientes diabéticos (DAVIDSON, 2001).

Os pacientes com disfunção autonômica podem ter também disfunção sudomotora. Áreas de anidrose e de hiperidrose são em geral distribuídas por todo o corpo, sendo as primeiras mais comuns nas extremidades inferiores e as últimas ocorrendo em geral no tronco e na face. Com freqüência ocorre sudorese excessiva na hora das refeições, durante a noite, ou sob estresse (DAVIDSON, 2001; GUYTON;HALL, 2002).

1.2.3 Neuropatia de início agudo

Podem ocorrer em pacientes sem neuropatia periférica ou autonômica.

Classificadas como neuropatias de início agudo estão as lesões de vários nervos (mononeuropatias múltipla) e lesões focais do plexo (plexopatias), lombossacro (ou raramente do braquial), ou das raízes dos nervos (radiculopatias).

São provavelmente causadas por trombose ou isquemia aguda dos vasos que nutrem as estruturas do sistema nervoso envolvido, e não pela hiperglicemia crônica.

1.2.4 Caquexia diabética neuropática

Síndrome muito incomum, ocorrendo na sua maioria em homens, consiste em anorexia, neuropatia dolorosa, depressão e profunda perda de peso (caquexia diabética neuropática) (DAVIDSON, 2001).

Estudos epidemiológicos prospectivos têm demonstrado que a incidência de doença arterial coronariana (doenças cardiovasculares), é a principal causa de óbito em indivíduos diabéticos, sendo cerca de duas a três vezes maior do que a observada na população em geral, revelando o processo aterosclerótico mais severo nesses indivíduos (RABELO;MARTINEZ, 1998).

Em 1988, Reaven criou o termo “síndrome do X” para caracterizar a associação entre obesidade central, intolerância à glicose, hipertrigliceridemia, hipertensão e o risco cardiovascular. As quatro anormalidades que constituem a síndrome metabólica de Reaven, foi designado de “quarteto moral” por Kaplan. Recentemente, Campbell sugeriu um sexteto, pois novos componentes foram adicionados; a trombogênese e a doença aterosclerótica (KASKI, 2001).

Vários fatores contribuem para que a aterosclerose seja mais comum em pacientes diabéticos; dislipidemia, hipertensão arterial, resistência à insulina, hiperglicemia, anormalidades na função endotelial, diminuição da fibrinólise, e aumento da agregação plaquetária e da coagulabilidade (RABELO;MARTINEZ,1998).

Considera-se que a disfunção endotelial representa um fator de maior risco para episódios cardiovasculares, mesmo na presença de doença arterial coronariana leve e desempenha um papel patogênico na aterogênese. Intervenções que levem a redução de lipídios, inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) e redução da homocisteína, exercem efeitos benéficos na melhora da disfunção endotelial (KASKI, 2001).

1.3 Metabolismo Lipídico no Diabetes Melito

O risco para aterosclerose é duas a três vezes maior em diabéticos que em não-diabéticos, independentemente de outros fatores de risco, sendo essa proporção maior no sexo feminino (4,9 vezes maior), em relação aos homens (ARMAGANIJAN;BATLOUNI, 2000). A anormalidade lipídica mais freqüente, está relacionada ao metabolismo dos triglicérides e do HDL-colesterol (ARMAGANIJAN;BATLOUNI, 2000; GUTIERREZ; HIGUCHI, 1998; MARTINEZ;VALE, 2000; SERRANO;HEINISCH;NICOLAU, 1998; RACHED;FILHO, 1998).

1.3.1 Triglicerídeos

A hipertrigliceridemia e a diminuição dos níveis de HDL-colesterol representam as alterações lipoproteicas mais comuns no diabetes melito, por estar diretamente relacionada à redução da atividade da lipase lipoproteica, enzima responsável pela hidrólise dos triglicerídeos em ácidos graxos livres e glicerol, cuja ação está diretamente relacionada aos níveis circulantes de insulina (ARMAGANIJAN;BATLOUNI, 2000; RABELO; MARTINEZ, 1998).

1.3.2 HDL-colesterol

A baixa concentração plasmática de HDL tem sido apontada como um dos mais fortes fatores de risco independentes para doença aterosclerótica coronária, por sua função protetora em reduzir a peroxidação lipídica do LDL (BERTOLAMI, 2000; PASSARELLI;QUINTÃO, 2000).

A diminuição dos níveis de HDL-colesterol em indivíduos diabéticos é uma das alterações lipoproteicas mais comuns, principalmente por ocorrer à redução em sua síntese (pela menor atividade da lipase pancreática) e aumento em seu “clearance” (pela maior

atividade da lipase hepática) (ARMAGANIJAN;BATLOUNI, 2000; RABELO; MARTINEZ, 1998).

1.3.3 LDL-colesterol

As alterações envolvendo as partículas de LDL-colesterol, podem ser divididas em quantitativas e qualitativas. Em relação às alterações quantitativas, dados do “National Health and Nutrition Survey II” (NHANES II) revelam que níveis de LDL-colesterol superiores a 160mg/dl ocorrem com maior frequência em pacientes diabéticos em relação à população em geral, devido à alteração na composição das partículas de VLDL-colesterol nesses pacientes (RABELO;MARTINEZ,1998).

Quanto às alterações qualitativas, chama a atenção à elevada prevalência de partículas de LDL-colesterol pequenas e densas, mais ricas em triglicérides, as quais são mais aterogênicas que as partículas de LDL grandes (BERTOLAMI, 2000).

Os processos de glicolização não-enzimática e de peroxidação contribuem para a formação dessas partículas, que apresentam maior potencial de aterogenicidade (ARMAGANIJAN;BATLOUNI, 2000; BERTOLAMI, 2000; RABELO;MARTINEZ, 1998)

1.3.4 Lipoproteínas

A lipoproteína (a) [Lp (a)], sintetizada no fígado, é uma lipoproteína rica em colesterol semelhante a lipoproteína de baixa densidade (LDL), porém apresenta uma apolipoproteína adicional [Apo (a)] ligada à apolipoproteína b-100 [Apo (b)] através de ligações dissulfeto. A Lp (a) apresenta-se envolvida no processo aterosclerótico (IZAR; IHARA;RELVAS, 2000; RACHED;FILHO, 1998) não somente por ser uma análoga do LDL, mas também por predispor à trombose por potencializar os níveis elevados do LDL-colesterol (SANTOS;MARANHÃO, 2000), encontrando-se mais elevada nos diabéticos (IZAR;IHARA;RELVAS, 2000; RACHED;FILHO, 1998).

Quando os triglicérides são hidrolisados, a partícula resultante torna-se menor, e essa modificação parece afetar a ligação existente com a Apo (a). Uma vez dissociada da partícula de HDL, a Apo (a) pode ser filtrada pelos glomérulos renais e a maioria é degradada nos túbulos renais após reabsorção (AZEVEDO;PEDRO;LAURINDO, 2000; IZAR;IHARA;RELVAS, 2000; RABELO;MARTINEZ, 1998; SERRANO;HEINISCH; NICOLAU, 1998).

Diabéticos possuem aumento no fluxo de ácidos graxos livres para o fígado, o que estimula a formação e a secreção de lipoproteínas contendo a Apo (b), fazendo com que ocorra desequilíbrio entre sua produção e degradação intracelular (RABELO;MARTINEZ,1998).

Na presença de dislipidemia e hipertensão arterial, a produção de óxido nítrico encontra-se diminuída, o que leva a uma menor proteção em relação a vasoconstrição, a proliferação celular e a agregação plaquetária o que propicia a disfunção endotelial (OLIVEIRA;LUZ;RAMIRES, 1998).

A lesão endotelial é um importante evento inicial na aterogênese por promover a formação de estrias gordurosas, que aumentam a formação de moléculas indutoras da adesão de leucócitos (VCAM-1, ICAM-1, E-seletina), cuja secreção pode estar ligada à produção de citocinas, principalmente a interleucina-1, a interleucina-4, o fator de necrose tumoral e a gama interferon, o que favorece o recrutamento e a adesão de monócitos, aumentando à permeabilidade a essas células e, também, a macrófagos e lipoproteínas, que se acumulam na parede vascular e provocam a proliferação e a migração de células musculares lisas. Esse crescimento celular pode depender da falta de liberação endotelial de óxido nítrico e de oligossacarídeos semelhantes a heparina derivados do endotélio ou por maior adesão plaquetária, que aumenta a produção local do fator de crescimento derivado das plaquetas (OLIVEIRA;LUZ;RAMIRES, 1998).

1.4 Fitoterapia no Tratamento do Diabetes Melito

Sendo o Diabetes uma doença que não tem cura, seu tratamento é feito principalmente a base de injeções de insulina, sendo sua ingestão ineficaz. Buscar substitutos a esta terapia de tratamento, principalmente os que exerçam seus efeitos por via oral tem sido um estímulo a novas pesquisas (OLIVEIRA et al, 2001; SOARES, 2000).

Durante anos, a insulina foi dita como um hormônio presente exclusivamente em animais, apesar de registros contínuos na literatura indicarem os efeitos benéficos de uma enorme variedade de extratos de folhas e de sementes de diversas plantas no tratamento do Diabetes (ABDEL BARRY et al., 1997; COSTA, 1975; NADA;BASHANDY;NEGM, 1997; OLIVEIRA et al., 2001; PEPATO et al., 1993, PEPATO et al. 2002; PRINCE;MENON, 1998; PRINCE;MENON, 1999; PUSHPARAJ;TAN, 2000; RAO; RAO, 2001; SILVA et al. 2002; SOARES, 2000; STANELY;MENON, 2001).

Trabalhos indicando a presença de substâncias possivelmente similares à insulina em plantas datam desde 1923 com as pesquisas de Collip e de Best *et al* (COSTA, 1975; IVORRA;PAYÁ;VILLAR,1989; OLIVEIRA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2001; PEPATO et al, 2002; SILVA et al. 2002).

Em 1976, Khann *et al* forneceram indícios mais concretos sobre a presença de insulina em plantas, utilizando sementes de frutos de *Momordica charantia* (melão-de-São Caetano), posteriormente, Collier *et al* em 1987 relataram o isolamento de proteínas de folhas de espinafre, de centeio e de plantas de *Lemna gibba G3* as quais apresentam pesos moleculares semelhantes aos da insulina animal (OLIVEIRA et al., 2000; OLIVEIRA et al. 2001). Bordia *et al* em 1997 trataram pacientes diabéticos que apresentavam complicações cardíacas com *Trigonella foenum graecum* (fenogrego) e obtiveram redução acentuada dos níveis de glicose e colesterol.

Marfo *et al* em 1990, observaram que extratos proteicos de sementes de *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco) apresentavam considerável efeito na redução nos níveis de

colesterol do plasma e no fígado de ratos. Estudos realizados por Carrol em 1991, demonstraram redução nos níveis de colesterol no sangue de porcos quando estes foram submetidos à dieta com concentrados proteicos de sementes de *Glycine max* (soja).

Em 1993, Kingman *et al* observaram efeitos semelhantes quando utilizaram concentrados de proteína de sementes de *Phaseolus vulgaris* (feijão comum) e de *Phaseolus lunatus* (fava) (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal, encontram-se as plantas do gênero *Bauhinia*, pertencentes à família Leguminosae, as quais são encontradas principalmente nas áreas tropicais do planeta, compreendendo aproximadamente 300 espécies. Muitas destas plantas são usadas via oral, como remédio na medicina popular em várias regiões do mundo, incluindo África, Egito, Ásia e América Central e do Sul (MANSOUR;NEWAIRY;YOUSEF, 2002; SILVA *et al.* 2002)

Em trabalhos realizados por Oliveira *et al* em 1999, conseguiu-se isolar e caracterizar proteínas com homologia de seqüência com a insulina animal a partir do tegumento (casca) de sementes de *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco); frutos (vagens verdes) de *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda) e folhas de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca).

No Brasil, as espécies do gênero *Bauhinia* são conhecidas como “Pata-de-vaca” ou “Unha-de-boi”. As folhas, caules e raízes das espécies de *Bauhinia*, são amplamente utilizadas em forma de chás para o tratamento de várias enfermidades, principalmente diabetes (COSTA, 1945; OLIVEIRA;SAITO, 1989;SILVA *et al.* 2002). Os primeiros estudos científicos sobre a ação hipoglicemiante desta planta datam de 1929 e 1931 (COSTA, 1975; OLIVEIRA;SAITO,1989; PEPATO *et al.* 2002; SILVA *et al.*2002; SILVA K;CECHINEL, 2002). Estudos subseqüentes foram feitos em 1945 para determinar os constituintes químicos responsáveis por esta atividade (ALMEIDA, 1993; COSTA, 1975; SILVA *et al.*, 2002). Os estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados com esta planta indicam que as mesmas são constituídas principalmente de glicosídeos, esteroídicos, triterpenos, lactonas e flavonóides (SILVA K.; CECHINEL, 2002).

Em artigo publicado no ano de 2002, por Silva e Cechinel Filho, relatou-se que os principais compostos químicos encontrados nas plantas da espécie *Bauhinia forficata*, foram identificados como flavonóides e esteróides. Apesar de muitos compostos serem conhecidos, pouco se conhece sobre a atividade farmacológica das plantas do gênero *Bauhinia*, sendo que a sua ação hipoglicemiante é provavelmente resultante, do aumento da permeabilidade capilar facilitando a absorção da molécula de glicose pelas células (IEPA, 1998).

Trabalhos realizados no Chile demonstraram o efeito hipoglicemiante do extrato aquoso das folhas das plantas da espécie *Bauhinia* em ratos diabéticos (LEMUS; GARCIA; DELVILLAR; KNOP, 1999). O efeito hipoglicemiante foi observado 2 horas após a administração, não havendo diferença do efeito sendo por via oral (12mg/kg) ou intravenosa (15mg/kg) o que mostra boa absorção do extrato (TESKE; TRENTINI, 1995)

A administração oral (100mg/kg) baixou o nível de glicose em ratos normais depois de 2 horas da aplicação de injeção de glicose, o mesmo efeito hipoglicemiante foi observado em ratos diabéticos induzidos por aloxano depois de 5 horas da ingestão via oral de 12mg/kg (IVORRA; PAYÁ; VILLAR, 1989).

Russo e colaboradores (1990) demonstraram que a infusão preparada com as folhas de *Bauhinia forficata* (*Bf*) não apresentou efeito hipoglicemiante em pacientes com glicemia normal e em pacientes com diabetes Tipo II. Quando se analisou a ação hipoglicemiante do decoto da planta, imitando-se o uso na medicina popular, através da administração oral crônica em ratos diabéticos, os animais mostraram uma melhora no metabolismo de carboidratos verificado pelos menores níveis de glicemia e glicosúria.

Damasceno e colaboradores (2000) verificaram, que o extrato alcoólico de folhas desta planta não reduz a concentração da glicose em ratos diabéticos induzidos pela streptozotocina, (SILVA K.; CECHINEL, 2002) porém Pepato e colaboradores (2002) relataram o efeito hipoglicemiante da infusão de folhas de *Bf* em ratos diabéticos induzidos intravenosamente com streptozotocina. Silva K. e colaboradores, em artigo publicado em 2002, relatam que fatores ambientais (tipo de solo, clima, etc) e sazonais podem gerar

resultados discrepantes sobre o efeito antidiabético da *Bf*, bem como os diferentes tipos de processos extrativos, os quais devem ser considerados.



Figura 1 – Foto da *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), planta encontrada no município de São José dos Campos, SP.

Souza e colaboradores em 2000 avaliaram a atividade antimicrobiana das frações da *Bf* através do método de difusão radial em ágar, observando que somente uma fração desta inibiu o crescimento da *E. coli* e *S. aureus* na concentração de 1000µg/ml. Luz e colaboradores, em 1995 analisaram a atividade antiedematogênica, associada à ação analgésica periférica, demonstrando fortes indícios de que o extrato bruto da *Bf* administrado por via oral, possui ação antiinflamatória.

Quanto à toxicidade aguda, observou-se que o extrato bruto nas doses de 0,5 a 5,0g/kg administrados por via oral, não apresentou qualquer efeito tóxico (SILVA K.;CECHINEL, 2002).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o efeito hipoglicêmico e hipolipídico da infusão de folhas frescas de *Bf* em ratos “Wistar” machos diabéticos.

2.2 Específico

Os objetivos específicos compreenderam:

- 1- Avaliar o uso da infusão de folhas frescas de *Bf* administrado oralmente a ratos “Wistar” machos diabéticos, como auxiliar no tratamento do *Diabetes Mellitus* tipo I.
- 2- Avaliar o efeito da infusão de folhas frescas de *Bf* administrado oralmente a ratos “Wistar” machos, em diferentes períodos (40 e 60 dias) nos níveis séricos do colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicerídeos, glicemia de jejum e pós prandial.
- 3- Comparar o peso médio corporal e visceral de ratos “Wistar” machos diabéticos tratados oralmente com infusão de folhas frescas de *Bf* versus ratos “Wistar” machos diabéticos não tratados.
- 4- Avaliar o quociente de eficiência alimentar (QEA) dos ratos “Wistar” machos não diabéticos (controle), ratos “Wistar” machos diabéticos tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* por 40 e 60 dias e ratos “Wistar” machos diabéticos não tratados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa experimental foi realizada de acordo com os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA e de acordo com a lei federal 6.638 de 08 de maio de 1979 (BARBOSA et al. 2003; COBEA, 1991) submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Vale do Paraíba (UNIVAP) sob número LO11/2005.

3.1 Animais

Foram utilizados 92 ratos Wistar machos, com peso médio de $140,28g \pm 71,10$ provenientes da Fazenda Bem-Te-Vi do Biotério Central do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP).

3.1.1 Estabelecimento dos Padrões de Normalidade de Glicemia Pós Prandial em Ratos Sadios

Para estabelecer os valores apresentados da glicemia pós prandial, com o uso da ração, foram separados 6 (seis) ratos “Wistar” machos sadios, com peso corpóreo médio de $181,8g \pm 12,22$, alimentados com 30g de ração comercial “Labina” (Purina[®])/100g de peso corporal (HARKNESS; WAGNER, 1993).

Os ratos foram retirados do biotério e levados ao laboratório para a coleta das amostras de sangue. Antes da realização do processo de coleta, os animais foram acondicionados em contentor próprio. Em seguida, a cauda do animal foi puncionada e uma gota de sangue foi depositada diretamente sobre a célula da tira de papel para glicemia Prestige[®]. As amostras de sangue foram analisadas no aparelho marca Prestige LX[®], calibrado conforme instruções do fabricante e adquirido do laboratório Home Diagnostics, Inc (HDI), Fort Lauderdale, Estados Unidos.

Após a coleta do sangue, o local da incisão foi cauterizado com solução de iodo a 10%. Uma coleta de amostra de sangue ao dia, foi obtida durante 04 (quatro) dias consecutivos, sempre com início às 16:00 horas.

3.2 Coleta do Material Botânico

As folhas da *Bf* utilizadas no presente trabalho foram adquiridas no município de São José dos Campos, no bairro da Vila Industrial.

A planta foi identificada pelo Engenheiro Agrônomo Marco Antonio de Carvalho Lima, CREA 5.060.111.077/D responsável pela Casa da Agricultura do município de Paraibuna, São Paulo.

Uma muda da referida planta foi depositada no Viveiro de Plantas Medicinais da Universidade Vale do Paraíba – UNIVAP, São Paulo.

3.3 Preparação da Infusão

A infusão foi feita na proporção de 150g de folhas frescas de *Bf* (coletadas a cada 2 dias e mantidas sob refrigeração a 10°C) para 1 litro de água a 100°C, conforme protocolo de Pepato et al. (2002). A água fervente foi despejada sobre as folhas frescas, o vasilhame foi tampado, permanecendo assim por 30 minutos de forma que as substâncias ativas das folhas fossem extraídas.

Após este período, a infusão foi filtrada em um simples filtro de papel (Melitta®), sendo preparada a cada 2 dias e mantida em garrafas de vidro âmbar sob refrigeração a 4°C.

3.4 Manejo e Acondicionamento

Os ratos passaram por um período de adaptação de 10 dias, e foram mantidos em caixas individuais em ambiente com temperatura controlada entre 22°C a 23°C, sendo o ciclo de luz (dia/noite) realizado de 12 em 12 horas.

Os animais foram alimentados diariamente com ração comercial balanceada 10g/100g de peso corporal/dia, própria para ratos “Labina” (Purina®) e 10ml/100g de peso corporal/dia de água de beber (HARKNESS, WAGNER, 1993).

3.5 Indução

A droga diabetogênica de escolha foi o aloxano, devido seu uso amplo emprego no desenvolvimento de protocolos experimentais envolvendo indução do diabetes, (ABDELBARRY et al., 1997; ARISUE et al., 1994; NADA;BASHANDY;NEGM, 1997; MAROO et al., 2002; PARI et al., 2001; PRINCE;MENON,1998; PRINCE;MENON,1999; SILVA et al.,2002; SOARES, 2000; STANELY;MENON,2001; YADAV;VATS, 2002) por apresentar citotoxicidade específica para as células beta. Essa droga causa insuficiência insulínica primária do pâncreas, provocando uma resposta trifásica nos níveis glicêmicos durante as primeiras horas da administração (LERCO,SPADELLA,MACHADO,2003).

A Ketamina (Dopalen®) (6mg/kg) foi o anestésico de escolha para a realização deste experimento, por não provocar disfunção e toxicidade no tecido hepático, promovendo anestesia por ação depressora no SNC e tendo sido utilizado em diversos trabalhos nos quais estudou-se a função hepática (BARBOSA et al.,2003; CARVALHO, 2002; MARSHALL, 1991, YAMANE;ABE, 1996; ZARAGOZA;ANDRÉS;SARRIÓN, 2000).

A indução do diabetes nos ratos foi realizada da seguinte forma; após um período de jejum de 16 horas, em gaiola metálica, “*ad libitum*”, os animais foram anestesiados com Ketamina (Dopalen®) (6mg/kg) e submetidos a uma única injeção intravenosa na veia dorsal do pênis, de aloxano, adquirido do Laboratório Sigma na dose de 40mg/kg de peso

corporal, diluído em 10ml de solução salina, (CARVALHO, 2002; CRUZ, 1999). Após 30 minutos da indução, os animais receberam alimentação normalmente.

3.6 Verificação da Glicemia

No terceiro dia após a indução, a glicemia pós prandial foi verificada através de amostras de sangue coletadas da veia caudal (CANDIDO, et al., 2002; LERCO; SPADELLA; MACHADO, 2003; PUSHPARAJ; TAN, 2000; SILVA et al., 2002).

Uma pequena incisão foi feita na porção inferior da cauda e o sangue coletado para a dosagem e leitura da glicemia no aparelho Prestige Smart System[®].

Os ratos com níveis de glicemia acima de 200mg/dL (NADA; BASHANDY; NEGM, 1997; PRINCE; MENON, 1998; PRINCE; MENON, 1999) foram considerados diabéticos e incluídos no experimento. Os animais que apresentaram glicemia inferior a 200mg/dL sem sinais clínicos de diabetes (polifagia, e polidipsia), foram desprezados.

Os animais do presente experimento foram divididos aleatoriamente em 6 (seis) grupos experimentais:

- Grupo controle normal de 40 dias (Con.40): Constituído por 8 animais saudáveis, não diabéticos.
- Grupo controle normal de 60 dias (Con.60): Constituído por 8 animais saudáveis, não diabéticos.
- Grupo diabético tratado 40 dias (DT40): Constituído por 19 animais diabéticos tratados com infusão de *B. forficata*, por via oral (PEPATO, et al., 2002).
- Grupo diabético não tratado 40 dias (DNT 40): Constituído por 19 animais diabéticos, sem qualquer tipo de tratamento.
- Grupo diabético tratado 60 dias (DT 60): Constituído por 19 animais diabéticos tratados com infusão de *Bauhinia forficata*, por via oral (PEPATO, et al. 2002).
- Grupo diabético não tratado 60 dias (DNT 60): constituído por 19 animais diabéticos, sem qualquer tipo de tratamento.

Os animais considerados diabéticos foram separados para tratamento e tiveram a glicemia pós-prandial e de jejum monitorada a cada 2 semanas (DT 40 dias) e 4 semanas (DT 60 dias). Esta conduta foi adotada, como medida preventiva a fim de garantir valores glicêmicos estáveis e para confirmar o estabelecimento do processo diabetogênico do aloxano. Conforme Kaneko *et al.*, 1978 apud SOARES, 2000, a resposta hiperglicêmica às drogas diabetogênicas é bastante variável, considerando que experimento de indução do diabetes por aloxano administrado pela mesma via e empregando a mesma dose podem algumas vezes produzir resultados diferentes de glicemia, atribuindo este fato a metabolização e eliminação da droga do organismo durante o período do experimento, bem como o efeito tóxico da droga pode não atingir todas as células beta e estas por sua vez, sofrer uma hipertrofia compensatória (SOARES, 2000).

Os ratos diabéticos (tratados e não tratados) e os não diabéticos, permaneceram em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura entre 22°C a 23°C, sendo o ciclo de luz (dia/noite) controlado de 12 em 12 horas.

Todos os animais tratados e não tratados com *Bf*, receberam ração comercial balanceada, própria para ratos “Labina” (Purina[®]) (30g/100g de peso corporal). Os animais diabéticos não tratados, receberam água de beber (40,3±3,9ml/100g de peso corporal), os animais diabéticos tratados receberam infusão de folhas frescas de *Bf* (35,4±3,3ml/100g de peso corporal) conforme protocolo de Pepato *et al.* (2002) e os animais não diabéticos receberam água de beber (10ml/100g de peso corporal) (HARKNESS, 1993). O consumo da ração, da infusão de *Bf* e da água de beber, foram registrados a cada 48 horas, em ambos os grupos.

Durante o período de tratamento, a glicemia foi monitorada, através de amostras de sangue coletadas por punção na porção inferior da veia caudal. A dosagem e a leitura da glicemia, foi feita no aparelho Prestige Smart System[®].

3.7 Avaliação do Peso Corpóreo

Os animais foram pesados durante o período do experimento em balança da marca Metter[®]. O peso dos animais pertencentes aos grupos DT 40 e DT 60 dias foram

monitorados nos seguintes intervalos de tempo: na chegada destes, na pré indução, após 3 dias da indução, no início do tratamento com infusão de folhas frescas de *Bf* via oral e no final do período de tratamento.

3.8 Parâmetros Estudados

Foram estudados os seguintes parâmetros:

- Aspecto geral, peso corporal, ingestão hídrica e ingestão alimentar,
- Laboratoriais; glicemia de jejum e pós-prandial, colesterol total e frações HDL, VLDL, LDL e triglicérides.

3.9 Parâmetros Nutricionais

Os ratos diabéticos (tratados e não tratados) e os não diabéticos foram avaliados quanto ao quociente de eficiência alimentar (QEA) através da fórmula (CÂNDIDO, 2002)

$$\text{QEA} = \frac{\text{ganho de peso} \quad \text{g}}{\text{consumo da dieta} \quad \text{g}}$$

3.10 Momentos de Avaliação

Os ratos tratados por 40 e 60 dias foram avaliados em relação a glicemia pós prandial, respectivamente em 3 fases:

- Ratos tratados por 40 dias; avaliação no início do tratamento e após 15 dias de tratamento;
- Ratos tratados por 60 dias; avaliação no início do tratamento, após 20 dias e 40 dias de tratamento;
- Em relação a glicemia de jejum de 16 horas, ambos os grupos foram avaliados uma única vez, ao final do experimento.

3.11 Coleta de Dados

Para a coleta dos dados clínicos e laboratoriais, cada animal foi submetido a um esquema padronizado de avaliação. A metodologia foi a seguinte:

- a) colocação dos animais em caixa individuais;
- b) fornecimento de volume conhecido de água de beber e infusão das folhas frescas da planta durante todo o período de 48 horas;
- c) fornecimento de quantidade conhecida de ração para roedores, com a seguinte composição nutricional para 100g de ração (275kcal; sendo 15,81g de proteína; 1,22g de gordura e 50,19g de carboidrato), durante todo o período de 48 horas;
- d) determinação da quantidade de alimentos consumida durante 48 horas (ingestão alimentar de 48 horas em gramas);
- e) determinação do volume de água e chá ingerido durante 48 horas (ingestão hídrica de 48 horas em mililitros);
- f) determinação, no final do experimento do peso animal em gramas, do peso do fígado e dos rins em gramas;
- g) coleta de amostra de sangue da veia caudal para a dosagem da glicose plasmática pós prandial, realizada após um período de jejum de 1 hora;
- h) coleta de amostras sanguíneas por punção da veia cava inferior dos ratos diabéticos (tratados e não tratados) e dos não diabéticos, após jejum de 16 horas.

3.12 Coleta de Sangue e Análise Bioquímica

Ao término do período de tratamento, foi coletado amostras de sangue por punção da veia cava inferior, de todos os animais .

Para a realização deste procedimento os animais foram previamente anestesiados com ketamina (Dopalen)[®] (6mg/kg) via intra muscular. O efeito anestésico foi monitorado através de indicadores como perda de reflexo corneano (2 a 5 minutos), frequência respiratória, relaxamento da musculatura abdominal e da mandíbula, e resposta reflexa.

(COBEA,1991; GUTIÉRREZ-SALINAS et al.,1999; THEOCHARIS, et al. 2001). Posteriormente os animais tiveram o tórax aberto, expondo o coração e retirando cerca de 5ml de sangue da veia cava inferior. Após a coleta, os animais foram sacrificados, seguindo os Preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA e de acordo com a lei federal 6.638 de 08 de maio de 1979 (COBEA, 1991), através da administração de KCl (10%) intracardiaco. O soro foi separado do sangue por centrifugação (3.000 rpm/10 min.) armazenado sob refrigeração a 4°C, para posterior análise glicêmica e lipídica, utilizando “kits” comerciais da marca Labtest Dignóstica S.A.[®].

A glicemia e os lipídeos foram quantificados de acordo com o método enzimático colorimétrico. Após centrifugação, a concentração de colesterol na fração HDL, que permaneceu no sobrenadante, foi quantificada. Para a determinação da LDL colesterol foi utilizado a fórmula de Friedewald; LDL colesterol = colesterol total – HDL colesterol – VLDL colesterol, sendo que VLDL colesterol é igual a triglicérides (CANDIDO, et al. 2002).

4. RESULTADO

Dos 76 animais submetidos à injeção endovenosa de aloxano (40mg/kg de peso corporal), 10 animais (13%) não ficaram diabéticos, sendo desprezados do experimento. Dos 87% restantes, 12 animais (18%) morreram 15 dias após a indução, 5 animais (8%) morreram após 30 dias, 10 animais (15%) morreram após 45 dias, 7 animais (11%) morreram após 60 dias e 6 animais (9%) morreram após 75 dias da indução. O percentual total de óbitos entre os ratos que desenvolveram o diabetes durante a realização dos experimentos foi de 61%, apresentando a seguinte taxa de mortalidade nos diferentes grupos experimentais: 42% no grupo DNT 60 dias, 28% no grupo DNT 40 dias, 13% no grupo DT 40 dias e 17% no grupo DT 60 dias, indicando o efeito da infusão de folhas frescas de *Bf* na melhora do estado geral dos animais pertencentes aos grupos DT (Tabela 3).

Tabela 3

Número de óbitos entre os animais diabéticos tratados (DT) e diabéticos não tratados (DNT) durante o experimento. Os valores representam o número de óbitos dos animais diabéticos após a indução experimental do diabetes até o término do experimento.

Tempo de Indução	Grupos			
	DNT 40 dias	DT 40 dias	DNT 60 dias	DT 60 dias
15 dias	5	2	4	2
30 dias	3	1	2	1
45 dias	3	2	3	2
60 dias	0	0	5	0
75 dias	0	0	3	2

Os 16 animais do grupo Con. 40d e Con. 60d, evoluíram sem quaisquer alterações clínicas durante todo o experimento, sendo avaliados diariamente quanto ao consumo hídrico e de ração alimentar.

Os animais que compuseram o grupo diabético não tratado (DNT) evoluíram com parâmetros clínicos (polifagia e podipsia) e laboratoriais compatíveis com diabetes grave. Esses animais apresentaram, ao longo do experimento, progressiva queda do estado geral, ou seja, apatia, perda de peso, alteração da pelagem, odor forte da urina.

A dosagem da glicose sanguínea realizada no terceiro dia após a indução experimental do diabetes (Pós- indução) por aloxano (40mg/kg de peso corporal), demonstrou uma severa hiperglicemia quando comparado com os níveis de glicose sanguínea inicial (Controle) ($p < 0,05$, Tabela 4).

Tabela 4

Efeitos do aloxano nos níveis de glicose sanguínea no terceiro dia após indução experimental do diabetes. Os valores foram expressos como a média \pm EPM; $n=34$ para o grupo Controle e $n=25$ para o grupo Pós-indução.

Parâmetros	Glicemia Controle	Glicemia pós-indução
Níveis de glicose sanguínea (mg/dl)	46,6 \pm 6,7	362,5 \pm 74,4*

$p < 0,05$ quando comparado a glicemia controle e pós indução.

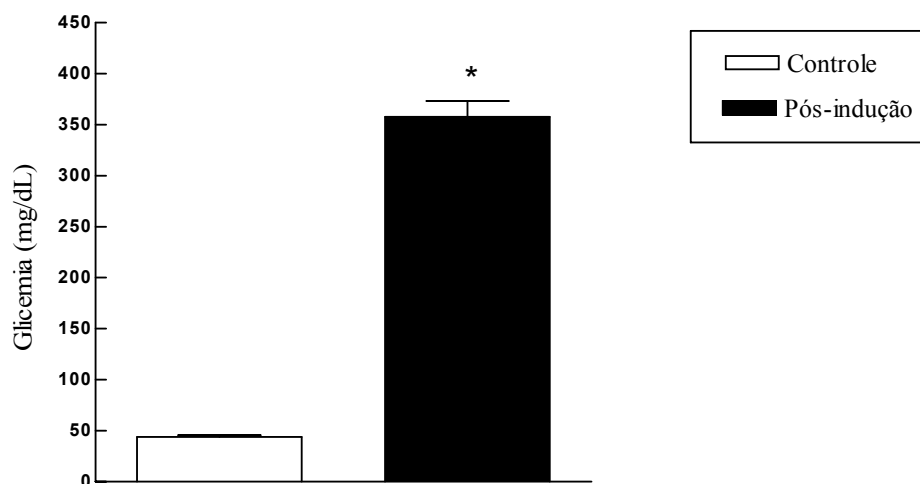


Figura 02: Níveis plasmáticos da glicemia (mg/dL) em ratos não diabéticos (Con.) e após 3 dias da indução experimental do diabetes por aloxano via i.v. (40mg/kg). Os dados representam a média \pm EPM, $p < 0,05$ quando comparado a resposta obtida Controle ($n=34$) *versus* * Pós-indução ($n=25$) (Anova, seguido teste de Tukey-kramer de comparação múltipla).

A partir do quarto dia após a indução, os animais dos grupos DT 40 e 60 dias e DNT 40 e 60 dias, começaram a apresentar os sinais clássicos do diabetes; polidipsia e polifagia, os quais foram amenizados progressivamente nos grupos DT 40 e 60 dias até o último dia do experimento, fato que não ocorreu nos grupos DNT 40 e 60 dias.

Tabela 5

Evolução da glicemia durante o período de 40 dias de tratamento.

Os valores representam a média \pm EPM, para início do tratamento, 0 dias (n=12), após 15 dias de tratamento (n=12) e após 40 dias de tratamento (n=8).

Grupo	Parâmetros		
	0 dias	15 dias *	40 dias * #
Glicemia Mg/dl	366,58 \pm 20,5	279,8 \pm 22,1	144,25 \pm 19,83

p<0,05 quando comparado a glicemia do *início do tratamento *versus* 15 dias e 40 dias de tratamento; e p<0,05 quando comparado a glicemia de # 15 dias de tratamento *versus* 40 dias de tratamento.

A figura 3, compara a evolução da glicemia dos ratos Wistar diabéticos induzidos por aloxano via i.v. (40mg/kg) sem tratamento (DNT) e ratos tratados através da administração oral da infusão de folhas frescas de *Bf* (DT) durante o período de 40 dias.

Os dados apresentam a média \pm EPM, p<0,05 quando comparado o grupo DNT em diferentes períodos *versus* o grupo DT por 40 dias. (Anova, seguido de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

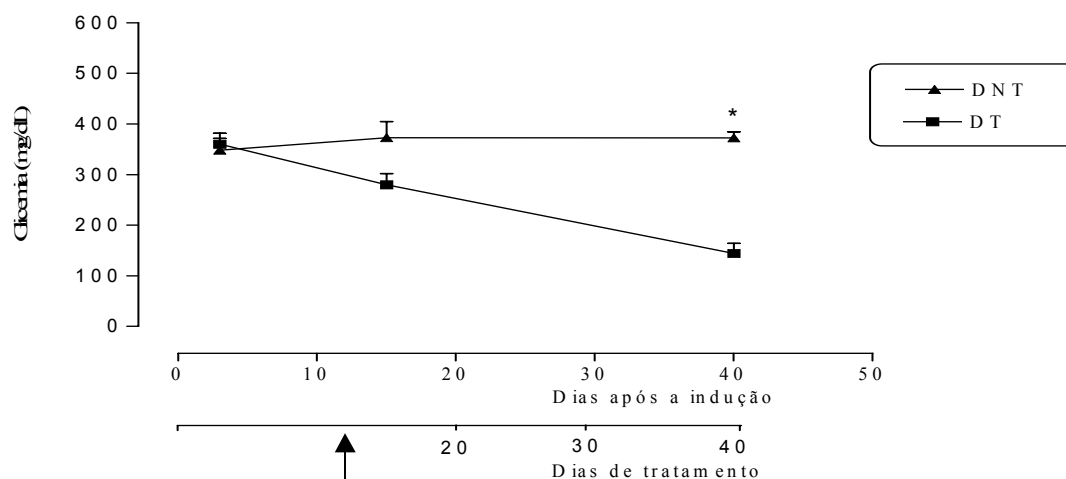


Figura 3- Evolução da glicemia em animais diabéticos tratados por 40 dias (DT) e não tratados (DNT) no período 50 dias. Os dados representam a média \pm EPM; $p < 0,05$ quando comparado a resposta obtida para o grupo DT (n=8) *versus* grupo DNT* (n=8) (Anova, seguido teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

Tabela 6

Evolução da glicemia durante o período de 60 dias de tratamento.

Os valores representam a média \pm EPM, para início do tratamento, 0 dias (n=11), após 20 dias de tratamento (n=10) e após 40 dias e 60 dias de tratamento (n=8).

Grupo	Parâmetros			
	Início	20 dias*	40 dias *	60 dias * [#]
Glicemia mg/dl	388,2 \pm 31,9	296,9 \pm 14,6	246,3 \pm 26,7	172,8 \pm 28,1

$p < 0,05$ quando comparado a glicemia do * início tratamento *versus* glicemia 20, 40 e 60 dias de tratamento; $p < 0,05$ quando comparado a glicemia de [#] 20 dias *versus* 60 dias de tratamento.

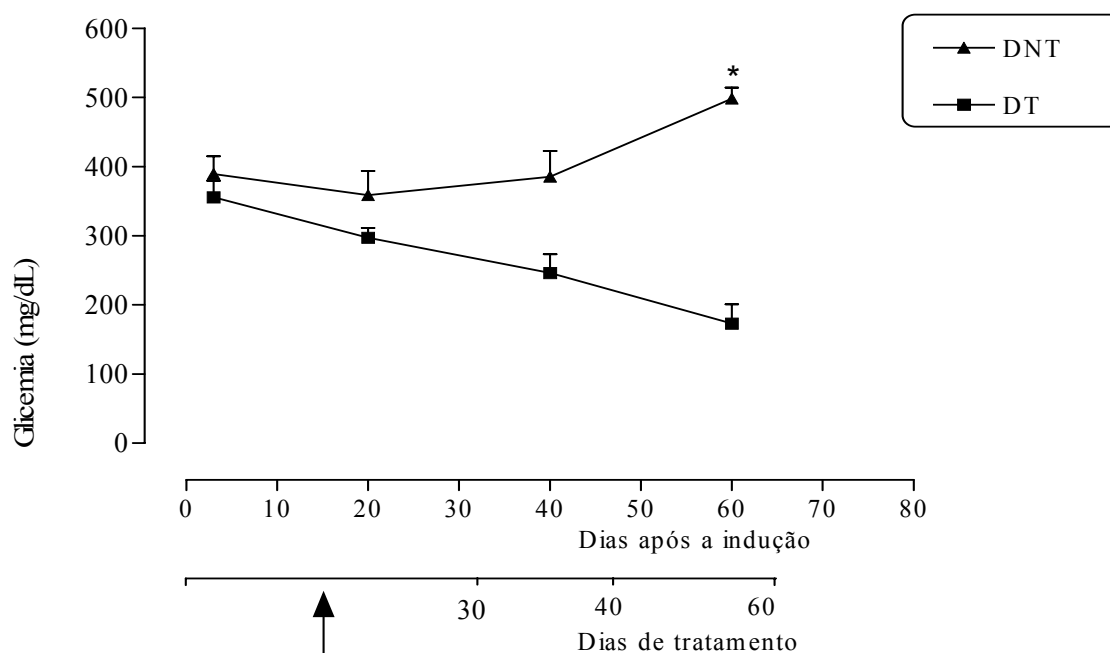


Figura 4- Evolução da glicemia em animais diabéticos tratados (DT) por 60 dias e não tratados (DNT) no período de 80 dias. Os dados representam a média \pm EPM; $p < 0,05$ quando comparado a resposta obtida para o grupo tratado DT ($n=8$) *versus* o grupo não tratado DNT* ($n=8$) (Anova, seguido teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

A figura 4, compara a evolução da glicemia em ratos Wistar diabéticos induzidos por aloxano via i.v. (40mg/kg) não tratados (DNT) *versus* ratos tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* (DT) durante um período de 60 dias. Os dados apresentam a média \pm EPM, $p < 0,05$ quando comparado o grupo DNT em diferentes períodos *versus* o grupo DT 60. (Anova, seguido de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

A diminuição da glicemia foi observada nos dois diferentes grupos que receberam o tratamento com a *Bf*, esta diminuição ocorreu no 15º dia de tratamento para o grupo DT 40d quando comparado ao grupo DNT ($p < 0,05$); (Tabela 5, Figura 3) e no 20º dia de tratamento para o grupo DT 60d quando comparado ao grupo DNT ($p < 0,05$); (Tabela 6, Figura 4).

Os animais dos grupos DT 40 e 60 dias e DNT foram monitorados em relação a ingesta hídrica, ingesta alimentar e evolução do peso. Sendo o consumo médio diário de ração e a ingesta hídrica obtidos através da diferença entre os valores em gramas de ração, mililitro de água de beber e mililitro de infusão de folhas frescas de *Bf* no início do tratamento e ao final de 24 horas. Onde podemos observar que estes animais apresentaram uma evolução fisiopatológica compatível com a sintomatologia do diabetes descrito na literatura, ou seja, polifagia e polidipsia.

Ao analisarmos o consumo médio diário de líquido para os diferentes grupos experimentais, podemos observar que ocorreu aumento no consumo médio diário de líquido para os animais do grupo DNT quando comparado ao grupo Controle ($p < 0,05$), (Tabela 7). Observamos uma redução significativa no consumo médio diário de infusão de folhas frescas de *Bf* dos animais dos grupos DT 40 e 60 dias, comparado ao consumo médio diário de água de beber dos animais do grupo DNT ($p < 0,05$), (Tabela 7).

A não aceitação da infusão de folhas frescas de *Bf* pelos animais ocorreu durante os 6 primeiros dias de tratamento, quando obtivemos um percentual de rejeição de 68% e 54%, no entanto descartou-se na análise da ingesta hídrica, um menor consumo em decorrência da não palatabilidade da infusão pelos animais, uma vez que as mamadeiras retornavam constantemente, com mais de 50% do volume consumido.

Ao analisarmos o consumo médio de ração nos diferentes grupos experimentais, observou-se um aumento significativo no consumo médio diário de ração dos animais do grupo DNT quando comparado ao grupo Controle ($p < 0,05$). Ao analisarmos o consumo médio de ração dos animais dos grupos DT 40 e 60 dias quando comparado ao grupo DNT, observou-se que ocorreu uma redução neste consumo, porém não significativa ($p > 0,05$), (Tabela 7).

Tabela 7

Consumo médio diário de líquido (ml) e ração (g) para os animais dos diferentes grupos experimentais. Os valores representam a média \pm EPM.

Parâmetros	Controle	DNT	DT 40 dias	DT 60 dias
Ingesta líquido (ml)	5,4 \pm 0,5	202,8 \pm 55,6 *	69,5 \pm 14,7 #	47,3 \pm 14,8 #
Ingesta ração (g)	10,0 \pm 0,6	43,0 \pm 5,3*	35,5 \pm 6,3 *	29,5 \pm 6,5 *

DT - animais diabéticos recebendo infusão de folhas frescas de *Bauhinia forficata*.

DNT - animais diabéticos recebendo água de beber.

Controle – animais não diabéticos recebendo água de beber.

$p < 0,05$ quando comparado a resposta obtida da ingesta hídrica para o grupo * Controle *versus* grupo DNT; e grupo # DNT *versus* DT 40 e 60 dias.

$p < 0,05$ quando comparado a resposta obtida da ingesta de ração para o grupo * Controle *versus* grupo DNT e grupo DT 40 e 60 dias.

Os animais do grupo DNT, apresentaram uma significativa perda de peso corporal (226,4g \pm 13,8), quando comparado aos valores médios do peso corporal dos grupos Controle 40 dias (316,0g \pm 7,19) e Controle 60 dias (416,0g \pm 21,7); ($p < 0,05$), (Tabela 8).

Ao compararmos o peso corporal dos animais, no final do experimento, entre os grupos DNT e grupos DT 40 e 60 dias, podemos observar que o tratamento não foi eficaz à fim de reduzir a perda de peso corporal dos animais tratados, ($p > 0,05$) (Tabela 8, Figura 5).

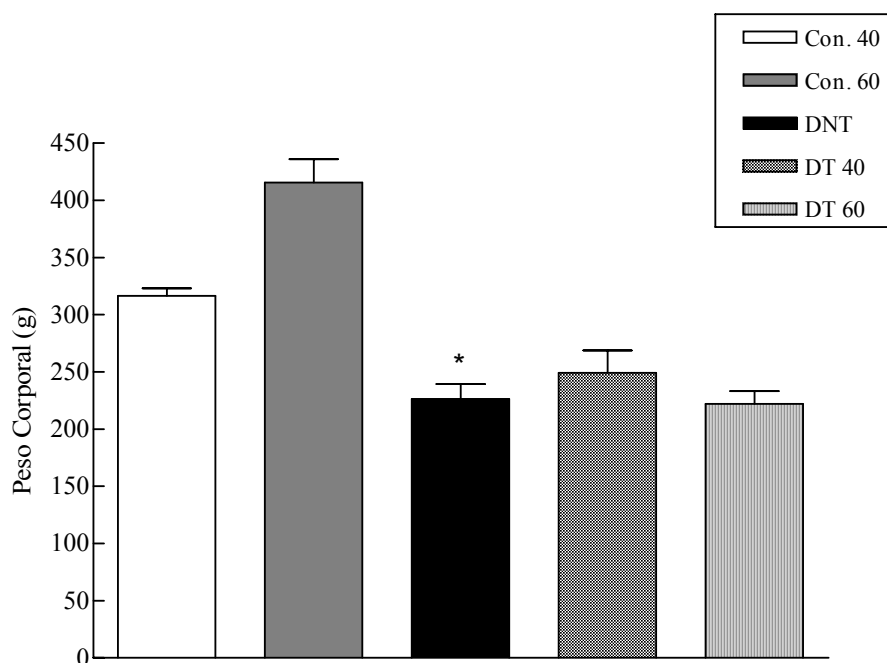


Figura 5- Peso corporal (g), apresentado ao final do experimento por ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais; não diabéticos 40 e 60 dias (Con. 40 e 60), diabéticos não tratados (DNT) e diabéticos tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* por 40 e 60 dias (DT 40 e 60). Os dados representam a média \pm EPM, $n=8$, $p<0,05$ quando comparado a resposta obtida para os grupos * Controle 40 e 60 dias em relação ao grupo DNT. (Anova, seguido de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

Quando ao peso dos órgãos (fígado e rins) não houve diferença estatística significativa entre os grupos experimentais, conforme dados apresentados na Tabela 8.

Tabela 8

Peso corporal (g) e visceral (g) de animais controle (Controle 40d e 60d), diabéticos não tratados (DNT) e diabéticos tratados (DT), ao final do período experimental. Os valores representam a média \pm EPM; n= 8 para todos os diferentes grupos experimentais.

Parâmetros	Grupos				
	Controle 40d	Controle 60 d	DNT	DT 40 d	DT 60 d
Peso corporal (g)	316 \pm 7,1	416 \pm 21,7	226 \pm 13,8*	249 \pm 1,1	221 \pm 12,0
Peso fígado (g)	10 \pm 0,4	12 \pm 0,7	9 \pm 0,4	8 \pm 0,6	7 \pm 0,5
Peso dos rins (g)	1,3 \pm 0,1	1,4 \pm 0,8	1,2	1,1	1,0

p<0,05 quando comparado o peso corporal dos animais do grupo controle (Controle 40 e 60 dias) *versus* grupo DNT.

Podemos observar que os grupos diabéticos tratados (DT 40 e 60 dias) com a infusão de folhas frescas de *Bf* apresentaram uma redução significativa nos níveis plasmáticos da glicose, quando comparado com o grupo diabético não tratado (DNT) (Figura 6, p<0,05).

Ao analisarmos os dados apresentados na Tabela 9, podemos observar que ocorreu uma redução nos níveis da glicose plasmática do grupo diabético tratado por 60 dias (DT 60d) atingindo valores próximos ao do grupo controle 60 dias (Cont. 60d).

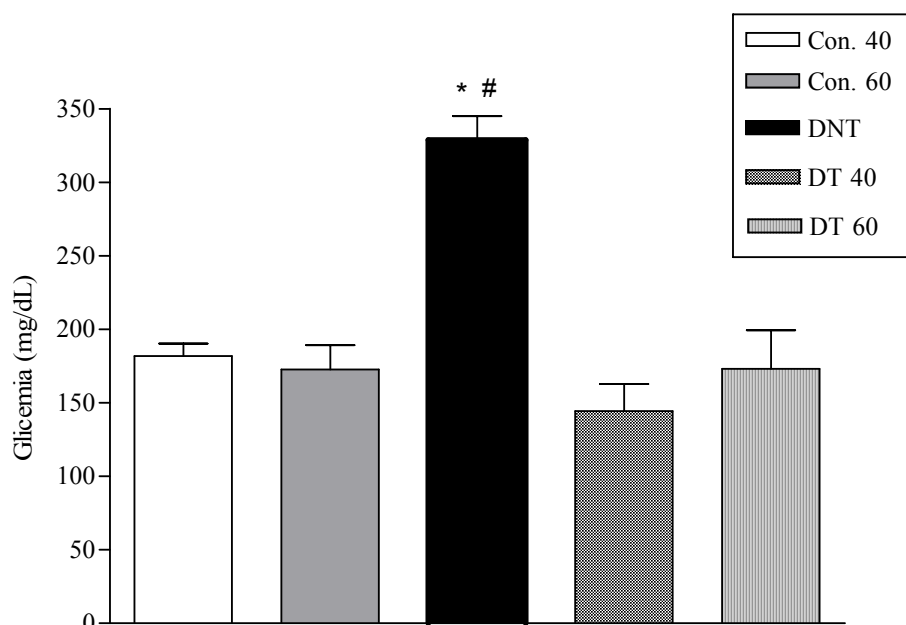


Figura 6- Níveis plasmáticos da glicemia (mg/dL) observados em ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais; não diabéticos 40 e 60 dias (Con. 40 e 60), diabéticos não tratados (DNT) e diabéticos tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* por 40 e 60 dias (DT 40 e 60). Os dados representam a média \pm EPM, $n=8$, $p<0,05$ quando comparado com a resposta obtida para os grupos * Cont. 40 e 60 dias *versus* DNT e # DT 40 e 60 dias *versus* DNT (Anova, seguido teste de Tukey-Kramer).

Podemos observar que os grupos diabéticos tratados (DT 40 e 60 dias) com a infusão de folhas frescas de *Bf* apresentaram uma redução estatística significativa nos níveis plasmáticos de triglicérides, quando comparados com o grupo diabético não tratado (DNT), (Figura 7, $p<0,05$).

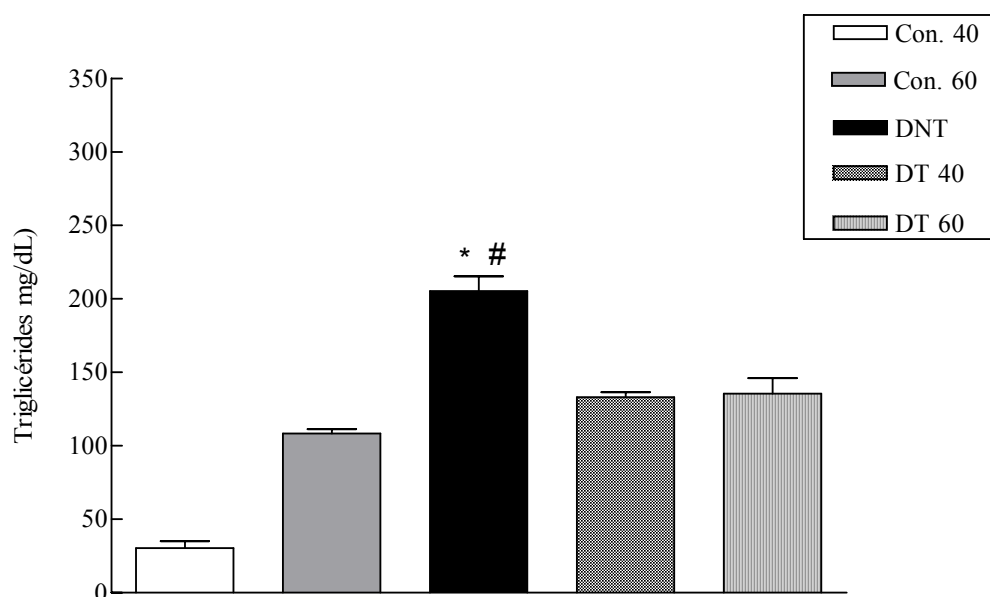


Figura 7- Níveis plasmáticos de triglicérides (mg/dL) observados em ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais; não diabéticos Controle 40 e 60 dias (Con. 40 e 60), diabéticos não tratados (DNT) e diabéticos tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* durante 40 e 60 dias (DT 40 e 60). Os dados representam a média \pm EPM, $n=8$, $p<0,05$ quando comparado com a resposta obtida para os grupos * Cont. 40 e 60 dias *versus* DNT e # DT 40 e 60 dias *versus* DNT. (Anova, seguido teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

A infusão de *Bf* teve um efeito na redução dos níveis plasmáticos dos triglicérides dos animais de ambos os grupos tratados DT 40 e 60 dias, durante todo o período de tratamento, quando comparado aos valores apresentados pelos animais pertencentes ao grupo DNT.

Analisando os dados apresentados na tabela 9, observamos um aumento nos níveis de colesterol e triglicérides plasmático (TG), conforme os animais foram envelhecendo.

O tratamento com a infusão de folhas frescas de *Bf* durante o período do experimento não reduziu os níveis de TG plasmático dos animais dos grupos DT 40 e 60 dias próximo aos valores obtidos para os animais dos grupos Controle 40 e 60 dias.

A infusão de folhas frescas de *Bf* promoveu uma redução não significativa nos níveis plasmáticos do colesterol total, quando comparado aos valores apresentados pelo

grupo DNT *versus* os valores apresentados pelos grupos DT 40 e 60 dias. Uma redução mais acentuada nos níveis plasmáticos de colesterol total, ocorreu com o prolongamento do período de tratamento. Em ambos os grupos tratados, DT 40 dias e 60 dias, não ocorreu uma redução dos níveis do colesterol total plasmático que se igualasse aos níveis plasmáticos dos grupos controle, conforme os dados apresentados na figura 8.

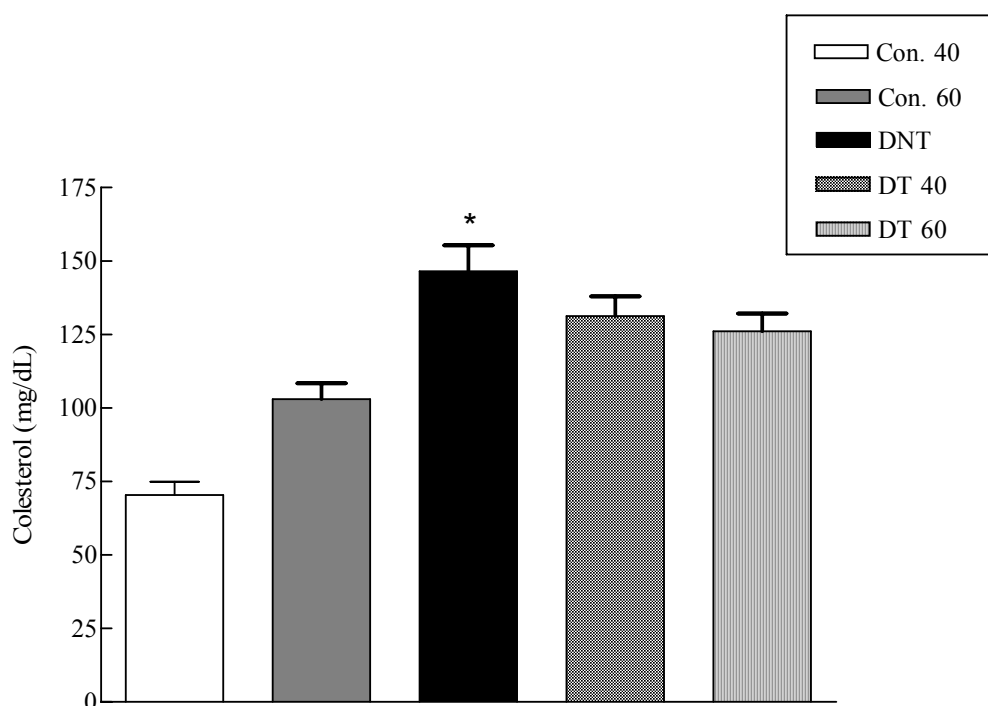


Figura 8- Níveis plasmáticos do colesterol (mg/dL) observados em ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais; não diabético 40 e 60 dias (Con.40 e 60), diabéticos não tratados (DNT) e diabéticos tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* por 40 e 60 dias (DT 40 e 60). Os dados representam a média \pm EPM, n=8, $p < 0,05$ quando comparado com a resposta obtida para os grupos * Controle *versus* DNT. (Anova, seguido teste de Tukey-Kramer).

A figura 9 ilustra os níveis plasmáticos HDL colesterol (mg/dL) para os diferentes grupos experimentais. Ao compararmos os níveis plasmáticos do HDL colesterol do grupo diabético não tratado (DNT) em relação aos grupos Controle 40 e 60 dias, podemos observar que não houve diferença significativa. Já ao compararmos os valores do grupo tratado 40 dias (DT 40d) em relação ao grupo DNT, podemos observar que ocorreu uma

redução significativa nos níveis plasmáticos do HDL. No entanto o grupo DT 60 dias não apresentou alteração significativa nos níveis plasmáticos do HDL colesterol quando comparado ao grupo DNT.

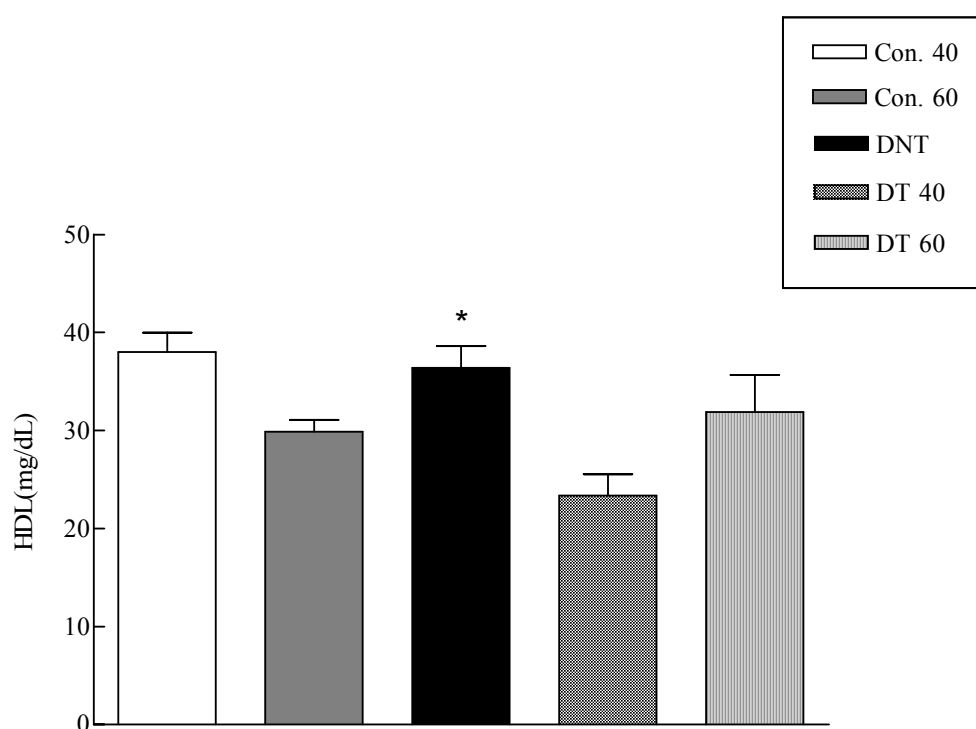


Figura 9- Níveis plasmáticos do HDL colesterol (mg/dL) observados em ratos Wistar nos diferentes grupos experimentais; não diabéticos controle 40 e 60 dias (Com. 40 e 60), diabéticos não tratados (DNT) e tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* durante 40 e 60 dias (DT 40 e 60). Os dados representam a média \pm EPM, $n=8$, $p<0,05$ quando comparado a resposta obtida para o grupo * DNT *versus* grupo DT 40 dias. (Anova, seguido teste de Tukey-Kramer).

Os dados expostos na tabela 9, indicam uma redução nos níveis da glicose, triglicérides e colesterol plasmático dos animais diabéticos pertencentes ao grupo tratado (DT) durante 40 e 60 dias, quando comparado aos dados apresentados pelos animais

diabéticos não tratados (DNT) , indicando que a infusão de folhas frescas de *Bf* exerceu efeito na redução dos níveis plasmáticos destes parâmetros metabólicos.

Tabela 9

Parâmetros metabólicos obtidos para os diferentes grupos experimentais; animais não diabéticos controle (Con. 40 e 60)), animais diabéticos não tratados (DNT) e animais diabéticos tratados (DT) com infusão de folhas frescas de *Bauhinia forficata* durante 40 e 60 dias (DT 40 e 60).

Parâmetro Metabólico mg/dl	Grupos				
	Cont.40 d	Cont. 60 d	DNT	DT 40 d	DT 60 d
Glicemia	181,7±9,1	172,6±17,6	328,7±17,4*	144,2±19,8 [#]	173,0±28,0 [#]
Colesterol	70,3 ± 4,8	103,0±5,7	146,5±9,3*	131,2±7,1	126,0±6,4
TG	30,3±4,9	108,3±3,2	205,3±10,7*	133,1±3,4 [#]	135,3±11,3 [#]
HDL	38,0±2,1	30,0±1,3	36,4±2,4	23,3±2,3 ⁺	31,8±4,0
LDL	26,4±3,3	51,2±5,0	68,9±8,0	81,0±8,5	67,1±8,4

Os valores representam a média ± EPM, n = 8 para cada grupo.

Cont. 40 e 60d - controle não diabéticos 40 e 60 dias.

DNT - diabéticos não tratados.

DT - diabéticos tratados infusão de folhas frescas de *Bauhinia forficata*.

* p<0,05 quando comparado os níveis plasmáticos da glicemia, colesterol e triglicérides do grupo controle não diabéticos 40 e 60 dias (Con. 40 e 60d) em relação ao grupo diabéticos não tratados (DNT).

[#] p<0,05 quando comparado os níveis plasmáticos da glicemia e dos triglicérides do grupo de ratos diabéticos não tratados (DNT) em relação aos grupos de ratos diabéticos tratados com infusão de folhas frescas de *Bf* durante 40 e 60 dias (DT 40 e 60d).

⁺ p<0,05 quando comparado os níveis plasmáticos do HDL colesterol do grupo de ratos diabéticos não tratados (DNT) em relação ao grupo de ratos diabéticos tratados durante 40 dias (DT 40d).

Através da tabela 10 observamos a média de peso corporal dos animais antes da indução ao diabetes pelo aloxano e após o período experimental, nos diferentes grupos experimentais: Cont. 40 e 60 dias, DNT e DT 40 e 60 dias. Verifica-se que durante o

período experimental ocorreu um ganho de peso corporal nos grupos controle e uma acentuada perda de peso corporal no grupo de animais diabéticos não tratados (DNT). No grupo de animais tratados com a infusão de folhas frescas de *Bf* por 40 dias, não houve alteração no peso corporal, porém no grupo de animais diabéticos tratados por 60 dias ocorreu uma pequena elevação do peso corporal (15g).

Ao analisarmos os dados apresentados pelo QEA, verificamos que os animais pertencentes aos grupos controle 40 e 60 dias (Con. 40d e 60d) e os do grupo tratado 60 dias (DT 60d), apresentaram uma média de ganho de peso corporal em relação ao consumo médio diário de ração (QEA positivo), ao passo que os animais pertencentes ao grupo DNT e os animais pertencentes ao grupo tratado por 40 dias (DT 40d) não apresentaram uma média de ganho de peso corporal em relação ao consumo médio diário de ração (QEA negativo).

Tabela 10

Média do peso corporal pré e pós indução experimental do diabetes, ingesta médio diário de ração e Quociente de Eficiência Alimentar (QEA) dos animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais.

Parâmetros	Grupos				
	Cont. 40d	Cont. 60d	DNT	DT 40d	DT 60d
PC (g) pré- indução ¹	206,8±4	251,3±13	281,8±6	266,8±5	206,8±5
PC (g) Pós experim. ²	316,3±7	415,6±28	226,3±13	249,1±27	221,8±15
Ganho de peso (g) ³	109,5	164,30	0,0	0,0	15,00
Ingesta ração (g)	10,05	15,0±6	43,0±4	35,5±6	29,5±4
QEA ⁴	+	+	-	-	+

Os dados representam a média ±EPM.

¹ Média do peso corporal dos animais após jejum de 16 horas.

² Média do peso corporal dos animais após jejum de 16 horas.

³ Diferença entre a média do peso pré indução e pós indução, apresentado pelos animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais.

⁴ QEA, relação entre o ganho de peso corporal (g) e consumo de ração (g) dos animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais.

5. DISCUSSÃO

O diabetes constitui atualmente, um dos mais importantes problemas de saúde em praticamente todo o mundo (LERÁRIO, 1998; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 1997), sua prevalência está aumentando firmemente nos países em desenvolvimento (ANDERSON, 2003; LERÁRIO, 1998) principalmente em indivíduos acima de 70 anos (AGUIAR, 1998; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 1997), representando no Brasil a quarta causa de morte (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 1997).

As complicações crônicas do diabetes, principalmente as cardiovasculares (AGUIAR, 1998; CENTEMERO, et al, 1998; CHACRA; LERÁRIO, 1998; MASSARO, 1998; PEREIRA; KRIEGER, 1998; RABELO; MARTINEZ, 1998; RACHED; FILHO, 1998; SERRANO; HEINISCH; NICOLAU, 1998; SOLIMENI; OLIVEIRA, 1998; TAMBASCIA; COELHO, 1998; WAJCHENBERG, 1998) representam a maior parte dos custos os quais somados aos custos indiretos podem representar cerca de 0,2% do Produto Interno Bruto (PIB) (LERÁRIO, 1998).

No tratamento do diabetes, diversas espécies de plantas tem sido descritas na literatura científica e na medicina popular como tendo propriedades hipoglicêmicas, uma das quais a *Bf* (ALMEIDA, 1993; COSTA, 1945; COSTA, 1975; IEPA, 1998; IVORRA, PAYÁ; VILLAR, 1989; LEMUS, GARCIA; DELVILLAR; KNOP, 1999; OLIVEIRA; SAITO, 1989, OLIVEIRA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2001; PEPAT et al., 2002; PEREIRA N.A, 1997; SILVA et al., 2002; SILVA K.; CECHINEL, 2002). A justificativa para o estudo de plantas com efeito hipoglicemiante baseia-se principalmente para conferir alívio aos pacientes diabéticos do desconforto das múltiplas injeções subcutâneas de insulina.

Neste trabalho estudamos as propriedades terapêuticas hipoglicêmica e hipolipídica da infusão de folhas de *Bf* administrada oralmente, em substituição a água de beber para ratos diabéticos induzidos por aloxano.

Utilizamos neste trabalho ratos Wistar como animais de experimentação por apresentarem inúmeras vantagens; a) fácil manuseio; b) possibilidade de trabalhar

simultaneamente com vários grupos experimentais; c) elevada resistência à infecção; d) redução de gastos com o projeto; e) apresentarem semelhanças clínicas, laboratoriais e histopatológicas com o diabetes humano (LERCO et al., 2003); f) os modelos experimentais de diabetes induzidos no rato serem amplamente utilizados por pesquisadores em todo o mundo (ABDEL-BARRY et al., 1997; BENNANI-KABCHI et al., 1999; LERCO et al., 2003; NADA; BASHANDY; NEGM, 1997; PEPATO et al., 2002; PRINCE; MENON, 1998; PRINCE; MENON, 1999; SILVA et al., 2002; SOARES, 2000; YADAV; VATS, 2002).

Foi adotado o aloxano como droga diabetogênica pelo seu uso amplamente difundido (ABDEL-BARRY et al., 1997; BENNANI-KABCHI et al., 1999; LERCO; SPADELLA; MACHADO, 2003; MANSOUR; NEWAIRY; YOUSEF, 2002; NADA; BASHANDY; NEGM, 1997; PRINCE, 1998; PRINCE, 1999; SILVA, 2002; SOARES, 2000; YADAV et al., 2002) e por sua citotoxicidade específica para as células beta (LERCO et al., 2003), sendo a via de escolha para a administração à endovenosa (veia peniana), onde os efeitos do aloxano são mais evidentes (LERCO et al., 2003).

Utilizamos a dose de 40mg/kg de peso corporal, conforme protocolo de Cruz (1999) e obtivemos diabetes com valores glicêmicos acima de 300mg/dL (Figura 2, Tabela 4), porém diversos estudos demonstram ampla variação na dosagem de aloxano (SOARES, 2000).

O método químico da indução do diabetes experimental por aloxano é de fácil execução e permite a utilização de um grande número de animais, porém têm como consequência um elevado índice de mortalidade (LERCO et al., 2003). Sua toxicidade segue duas fases sequenciais antes do estado diabético propriamente dito. A fase I ocorre logo após a administração da mesma, onde se observa uma hiperglicemia inicial por resposta adrenérgica, com diminuição dos níveis plasmáticos de insulina e aumento nos níveis plasmáticos de glucagônio e cortisol e a fase II caracteriza-se por uma hipoglicemia associada a um aumento nos níveis plasmáticos de insulina, atribuída à liberação de insulina por degeneração das células beta (SOARES, 2000).

Em nosso experimento, obtivemos um índice de mortalidade da ordem de 51%, Lerco et al. (2003) relata em seu experimento um índice de mortalidade na ordem de 39%, Luckens (apud, LERCO et al., 2003), mostra índices muito variáveis de mortalidade, oscilando entre 33% e 100%, na mesma espécie. Segundo Lerco et al. (2003), vários fatores influenciam na taxa de mortalidade como; hidratação da droga, a velocidade da infusão, a via de administração, o percentual de gordura na dieta, o tempo de jejum, o peso do animal, entre outros (LERCO et al., 2003).

Desde 1929 em trabalhos publicados por Juliane, os efeitos benéficos da *Bf* em relação à hiperglicemia têm sido relatados (SILVA et al., 2002), e reforçados pelos trabalhos de Ivorra et al. (1989) e mais recentemente por Pepato et al. (2002).

A infusão de *Bf* utilizada neste trabalho teve como resultado um decréscimo significativo nos níveis de glicose e triglicérides plasmáticos (Figura 6 e 7, Tabela 9). Os níveis de glicose plasmática dos ratos diabéticos tratados por 60 dias, situaram-se bem próximos aos dos ratos controle (Figura 6, Tabela 9), revelando que a infusão de folhas de *Bf* reduziu a hiperglicêmica. Silva et al. (2002) relataram a atividade hipoglicêmica das folhas de *Bf* provavelmente em função da presença da fração n-butanol. Esta atividade pode ter sua ação em atrasar o catabolismo da insulina ou inibir a reabsorção de glicose pelo rim (SILVA et al, 2002); por conter substâncias químicas com atividade anti-insulinase que podem ser útil em manter níveis de alguma insulina residual presente no diabetes (PEPATO et al, 2002); ou aumentar a sensibilidade das células a algum resíduo de insulina presente em animais diabéticos tratados, aumentando a eficiência da insulina (PEPATO et al, 2002).

Pepato et al. (2002) tratou ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina com extrato aquoso de folhas de *Bf* em substituição a água de beber e verificou a redução da glicemia plasmática a partir de 18º dia de tratamento (23 dias após a indução do diabetes). No nosso estudo obtivemos no grupo DT 40 dias a redução da glicemia a partir do 15º dia de tratamento (31 dias após a confirmação do diabetes) e no grupo DT 60 dias no 20º dia de tratamento (41 dias após a confirmação do diabetes), indicando o efeito benéfico da infusão de *Bf* na redução da hiperglicemia diabética crônica.

A figura 7 e tabela 9 mostram que o tratamento com a infusão de *Bf* foi eficaz na redução dos níveis plasmáticos dos triglicerídios nos grupos tratados por 40 e 60 dias, quando comparado ao grupo não tratados, podendo a infusão de *Bf* ser um complemento auxiliar no tratamento da redução da hipertrigliceridemia em diabéticos.

Encontramos na literatura trabalhos que relatam o efeito hipocolesterolêmico de diferentes espécies de plantas, utilizadas no tratamento experimental do diabetes (PRINCE; MENON, 1999; BENNANI-KABCHI, et al., 1999; PUSHPARAJ; TAN, 2000).

Neste trabalho podemos avaliar um efeito redutor não significativo do colesterol plasmático no grupo de animais tratados por 40 dias, ocorrendo uma ligeira redução com o prolongamento do período de tratamento, conforme verificado no grupo de animais tratados por 60 dias (Figura 8, Tabela 9).

Pepato et al (2002), avaliou a atividade hipocolesterolêmica da *Bf* em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina e tratados por 31 dias com infusão de folhas de *Bf* em substituição a água de beber, não obtendo alterações nos níveis plasmáticos de colesterol, o mesmo ocorrendo com Soares (2000), quando estudou o efeito da infusão de folhas de *Bauhinia candicans* sobre a colesterolemia em ratos diabéticos induzidos por aloxano e tratados durante diferentes períodos (23 e 40 dias).

Os resultados alcançados neste trabalho em relação à redução da hipercolesterolemia, devem provavelmente decorrer por; ser outro agente químico utilizado na indução do diabetes; outra espécie de folhas de *Bauhinia* utilizada na infusão; e maior período de tratamento em que os animais foram submetidos (40 e 60 dias), visto que os melhores resultados na redução plasmática do colesterol ocorreram no grupo tratado por 60 dias.

A infusão de *Bf* não demonstrou efeito significativo sobre as frações do LDL-colesterol. Com relação ao HDL colesterol (Figura 9, Tabela 9), os valores médios apresentados pelo grupo DNT ($36,4\text{mg/dl} \pm 2,4$) foram superiores ao do grupo DT 40dias ($23,3\text{mg/dl} \pm 2,3$) e ao grupo DT 60 dias ($31,8\text{mg/dl} \pm 4,0$), indo de encontro aos resultados atingidos por Lerco (2003) em seu experimento. Este autor justifica, a elevação do HDL colesterol apresentado pelos animais diabéticos não tratados, como resultado de ;

“conferir uma proteção ao desenvolvimento da doença aterosclerótica macrovascular em animais diabéticos, contrariamente ao que se observa em humanos” (LERCO et al., 2003).

O efeito da carência de insulina sobre as três áreas gerais do metabolismo; carboidratos, proteínas e gorduras, reflete-se na fisiopatologia da cetoacidose diabética, a qual é causada por uma profunda carência de insulina. Os efeitos conjuntos da falta de insulina induzem a um catabolismo protéico com depleção da massa magra corporal e importante perda de peso (DAVIDSON, 2001; GUYTON; HALL, 2002; KRAUSE; MAHAN, 1991).

Os dados apresentados na tabela 10 mostram que o tratamento com a infusão de *Bf* não produziu grandes alterações no peso corporal dos ratos tratados. Uma pequena elevação do peso corporal (15g) foi observada somente no grupo de animais tratados por 60 dias.

Pelos dados da tabela 10, observa-se um aumento da ingesta de ração e ingesta hídrica nos grupos tratados e não tratados, quando comparado ao grupo controle. Ao analisarmos a ingesta de ração dos grupos DT 40 e 60 dias, comparado ao grupo DNT observa-se uma redução gradativa desta, a qual evoluiu com o tratamento. Em relação a ingesta hídrica dos grupos de animais tratados por 40 e 60 dias quando comparado a do grupo de animais não tratados (DNT), observa-se uma redução significativa (tabela 10) no decorrer do tratamento, indicando que a infusão de *Bf* foi eficiente na normalização dos sinais clínicos da polifagia e polidipsia.

Enquanto os animais dos grupos diabético tratado (DT) apresentaram ao longo do experimento, bom estado geral, parcialmente ativos, apetite pouco elevado, uma moderada perda de peso, ingesta hídrica e alimentar pouco elevada (Figura 5, Tabelas, 7 e 8), o comportamento dos animais do grupo diabético não tratado (DNT) foi completamente diferente sendo caracterizado por apatia, alterações da pelagem, odor forte da urina, anorexia, além de comprometimento acentuado e progressivo do estado geral, com polidípsia, e polifagia.

Em decorrência de todas estas alterações metabólicas, o controle da glicemia de pacientes portadores de diabetes mellitus é essencial. Neste contexto a terapia

nutricional é fundamental, a qual tem como objetivo principal manter a glicemia o mais próximo possível do padrão de normalidade, auxiliando na recuperação e manutenção do estado nutricional. Assim, a identificação de plantas com propriedades hipoglicemiantes, as quais possam ser administradas por via oral e incorporadas no planejamento alimentar de pacientes diabéticos tornam-se importantes auxiliares no tratamento do diabetes mellitus.

6. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos e nas condições experimentais, desta pesquisa, conclui-se que:

- A administração do aloxano por via venosa, na dose de 40mg/kg de peso corporal foi eficiente na indução experimental do diabetes mellitus Tipo I, demonstrado por alterações clínicas e laboratoriais bem caracterizadas em ratos “Wistar” machos.
- O aloxano acarreta um alto índice de mortalidade em ratos “Wistar” machos, quando induzidos experimentalmente o diabetes.
- A infusão de folhas frescas de *Bf* administrado oralmente em substituição a água de beber foi eficiente na redução da hiperglicemia e hipertrigliceridemia, em ratos “Wistar” machos em modelo experimental de diabetes induzida por aloxano.
- O método popular do uso de infusão de folhas de *Bf*, demonstrou ser eficiente no tratamento da hiperglicemia presentes em modelo experimental de diabetes por aloxano em ratos “Wistar” machos.
- A infusão de folhas de *Bf* não demonstrou efeito significativo sobre as frações do LDL-colesterol e HDL-colesterol em modelo experimental de diabetes por aloxano em ratos “Wistar” machos.
- O tratamento com infusão de folhas frescas de *Bf* auxiliou na redução da perda do peso corporal e na normalização dos sinais clínicos da polifagia e polidipsia em modelo experimental de diabetes por aloxano em ratos “Wistar” machos.
- O tratamento com infusão de folhas frescas de *Bf* não demonstrou efeito significativo em manter elevado o nível do quociente de eficiência alimentar (QEA).
- A infusão de folhas de *Bf* administrada oralmente é um potente auxiliar, simples, prático e econômico no tratamento do diabetes mellitus Tipo I em modelo experimental de diabetes por aloxano em ratos “Wistar” machos.

Referência Bibliográfica

ABDEL-BARRY, J. A. et al. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.58, p.149-155,1997

AGUIAR, E.T. Doença vascular periférica. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 8974-78, 1998.

ALMEIDA, E.R **Plantas Medicinais Brasileiras, Conhecimentos Populares e Científicos**, São Paulo: Hemus, 1993, 326 p.

ANDERSON, J.W. Tratamento Nutricional do Diabetes Mellitus *in* **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**, 9 ed., São Paulo: Manole, 2003. p. 1459-91, v.2.

Anestésicos Gerais. In MARSHALL, BE et al. **As bases farmacológicas da Terapêutica**, 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. P. 189-204.

ARISUE, K. et al. Changes in serum lipid and lipoprotein in alloxan-diabetic rats- studies for one year. **Jekken Dobutsu**, V.43, n.2, p. 217-26, 1994

ARMAGANIJAN, D; BATLOUNI, M. Impact of traditional risk factors. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 10, n. 6, p.689-93, 2000.

AZEVEDO, L.C. P; PEDRO, M.A; LAURINDO, F.R.M. Participação do Endotélio nas Doenças Cardiovasculares. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Dislipidemias e Aterosclerose**, v. 10, n. 6, p. 769-779, 2000.

BARBOSA, R.C, et al. Efeitos metabólicos da glutamina em ratos submetidos à queimadura por água fervente (escaldadura). **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.18 , n.6, 2003.

BENNANI-KABCHI et al. Effect of Suaeda fructicosa aqueous extract in the hypercholesterolaemic and insulin resistant sand rat. **Thérapie**, v. 54, n. 6, p. 725-730, 1999.

BERTOLAMI, M.C. A Conexão entre as Lipoproteínas e a Aterosclerose. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Dislipidemias e Aterosclerose**, v. 10, n. 6, p. 694-699, 2000.

CANDIDO, L.M. et al **Efeito da semente de linho (*Linum usitatissimum*) sobre as concentrações séricas de lipídios e glicose em ratos “Wistar” e pacientes diabéticos tipo 2**, 2002, 32 f., Projeto de Pesquisa(Setor de Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Paraná, 2002.

CARVALHO, P.T. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos**, 2002, 32 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia), Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2002.

CENTEMERO, M. et al. Revascularização percutânea no paciente diabético. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 936-945, 1998.

CHACRA, A.R.; LERÁRIO, D.D. Novos avanços na terapia do diabetes do tipo 2. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**. v. 8, n. 25, p. 914-922, 1998.

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (COBEA). **Princípios Éticos na experimentação Animal**, São Paulo, 1991.

COSTA, O.A. Estudo farmacológico da unha-de-vaca. **Revista Flora Medicinal**, v.9 , n.4, p. 175-189, 1945.

COSTA, O.A. Plantas Hipoglicemiantes brasileiras. *Leandra*, n. 6, p. 5–106, 1975.

COTRAN, R.S; KUMAN, V.; COLLINS, T. **Patologia Estrutural e Funcional**.6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 887 p.

CRUZ, J.W. **Participação da via dos polióis no comportamento de células inflamatórias no diabetes mellitus experimental**, 1999, 99 f. Tese (Doutorado em Farmacologia), Instituto de Farmacologia da Universidade de São Paulo, 1999.

DAVIDSON, M.B. **Diabetes Mellitus Diagnóstico e Tratamento**. 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 270 p.

DE FRONZO, R.A.; BONNADONA, R.C.; FERRANNINI, E. Pathogenesis of NIDDM – a balance overview. **Diabetes care**, v.15, n.3, p. 318- 368, 1992.

GONZALEZ, A. et al. **Fisiopatologia em Medicina Cardiovascular**, Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 344 p.

GUTIERREZ, P.S; HIGUCHI; M.L. Alterações Cardíacas e Vasculares no Diabetes: Aspectos Anatomopatológicos. **Revista da Sociedade de Cardiologia do estado de São Paulo, Diabete e Doenças Cardiovasculares**, v. 8, n. 5, p. 1021-1024, 1998.

GUTIÉRREZ-SALINAS, J. et al Redox state and energy metabolism during liver regeneration: alterations produced by acute ethanol administration. **Biochemical Pharmacology**, v.58, p. 1831-1839, 1999.

GUYTON, C ; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**, 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 975 p.

INSTITUTO DE PESQUISAS CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS DO ESTADO DO AMAPÁ – IEPA. **Controle do Diabetes com Plantas Medicinais, Uma Alternativa de Saúde Pública**, 2 ed. Macapá: IEPA, 1998, 27 p.

HARKNESS, J.E; WAGNER, J. E. **Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores**, 3 ed., São Paulo, Roca, 1993, 238 p.

IVORRA, M.D; PAYÁ, M; VILLAR, A. A review of Natural Products and Plants as Potential Antidiabetic Drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 243-275, 1989.

IZAR, M. C.O; IHARA, S. S. M; RELVAS, W. G. Preditores Genéticos da Aterosclerose Coronária. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Dislipidemias e Aterosclerose**, v. 10 , n. 6, p- 761-768, 2000.

KASKI, J.C. Disfunção Endotelial no Diabetes: Novos Mecanismos Patogênicos e Tratamento. **Rev. Portuguesa de Cardiologia**, v. 21, n. 7- 8, p. 923 – 925, 2001.

KRAUSE, M.V; MAHAN, L. K. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**, 7 ed. São Paulo: Roca, 1991. 981 p.

LEMUS, I; GARCIA, R; DELVILLAR, E; KNOP, G. Hypoglycaemic activity of four plants used in Chilean popular medicine, **Phytother Res**, v.13, n.2, p. 91- 94, 1999.

LERARIO, A C. Diabete melito: aspectos epidemiológicos. Diabetes e Doenças Cardiovasculares. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 885-891, 1998.

LERCO, M.M. et al. Caracterização de um modelo experimental de *Diabetes Mellitus*. Induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 132-141, 2003.

MANSOUR, H.A; NEWAIRY, A.S. et al. Biochemical study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced rats. **Toxicology**, v.170, n.3, p. 221-228, 2002.

MARTINEZ, T.L.R; VALE, A.L. Aterosclerose Extracoronária: Etiologia, Relação com a Coronariopatia e Estratégias no Tratamento. **Revista da Sociedade de cardiologia do estado de São Paulo, Dislipidemia e Aterosclerose**, v. 10, n. 6, p. 828-832, 2000.

MAROO, J. et al. Glucose lowering effect of aqueous extract of *Enicostemma littorale* blume in diabetes: a possible mechanism of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 8, n. 3, p. 317-20, 2002

MASSARO, A.R. Acidente vascular cerebral no cardiopata diabético. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 1006-1012. 1998

- NADA, S.A.; BASHANDY, S.A; NEGM, S.A. Evaluation of the hypoglycemic activity of a traditional herbal preparation in male diabetic rats. **Fitoterapia**, v. 59, n. 3, p. 240-245, 1997.
- OLIVEIRA, AE. et al. Presença de insulina em plantas: função biológica e possível validação de sua utilização no tratamento do diabetes. **Diabetes Clínica**, v. 4, n. 4, p. 283-290, 2000.
- OLIVEIRA, A.E. et al. Insulina de Plantas, **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 19, p. 36-41, 2001.
- OLIVEIRA, F; SAITO, M.L. Alguns Vegetais Brasileiros Empregados no Tratamento do Diabetes. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 2 - 4, p. 179-196, 1989.
- OLIVEIRA, S.F; LUZ, P.L; RAMIRES, J.A. Disfunção Vascular no Diabete Melito. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p- 892-901, 1998.
- PARI, L. et al. Antihyperglycaemic effect of Diamed, a herbal formulation, in experimental diabetes in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, n. 8, p. 1139-1143, 2001.
- PASSARELLI, M; QUINTÃO, E.C.R. Metabolismo das Lipoproteínas de Alta Densidade. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Dislipidemias e Aterosclerose**, v. 10, n. 6, p. 734-743, 2000.
- PEPATO, M.T. et al. Anti-diabetic activity of *Bauhinia forficata* decoction in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 191-197, 2002.
- PEPATO, M.T et al. Assessment of the antidiabetic activity of *Myrcia uniflora* extracts in streptozotocin diabetic rats. **Diabetes Research**, v. 22, p. 49-57, 1993.
- PEREIRA, A.C; KRIEGER, J.E. Diabete e aterosclerose: até onde a genética molecular pode nos levar? **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p.1025-32.1998.
- PEREIRA, N. A. Plants as hypoglycemic agents. **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v. 49, p. 5-6, 1997.
- PRINCE, M.S; MENON, V.P. Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, p. 1-7, 1998.
- PRINCE, M. S; MENON, V. P. Hypolipidaemic action of *Tinospora cordifolia* roots in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p.53-57, 1999.

PUSHPARAJ, P; TAN, C.H. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 69-76, 2000.

RABELO, L.M; MARTINEZ, T.L. Dislipidemias, **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Diabete e Doenças Cardiovasculares**, v. 8, n. 5, p. 908-911, 1998.

RACHED, R.A; FILHO, C.C. Hemostasia e Diabete, **Revista da Sociedade de cardiologia do Estado de São Paulo, Diabete e Doenças Cardiovasculares**, v. 8, n.5, p. 1013-1019, 1998.

RAO, B.K; RAO, C.H. Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp. seed extracts in normal and diabetic rats. **Phytomedicine**, v. 8, n. 2, p. 88-93, 2001.

SANTOS, R.D; MARANHÃO, R.C. Importância da Lipoproteína (a) na Aterosclerose, **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Dislipidemias e Aterosclerose**, v. 10, n. 6, p. 723-727, 2000.

SERRANO, C.V; HEINISCH, R.H; NICOLAU, J.C. Diabete Melito e Infarto do Miocárdio, **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Diabete e Doenças Cardiovasculares**, v. 8, n. 5, p. 996-1005, 1998.

SILVA, F.R. et al Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 33-37, 2002.

SILVA, K.L; CECHINEL V. Plantas do gênero *Bauhinia*: Composição Química e Potencial Farmacológico. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 449-54. 2002.

SOARES, J.C. 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.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES - **Consenso Brasileiro de Condutas para o Diabetes Mellitus – Recomendações da Sociedade Brasileira de Diabetes para a Prática Clínica**, 1997.

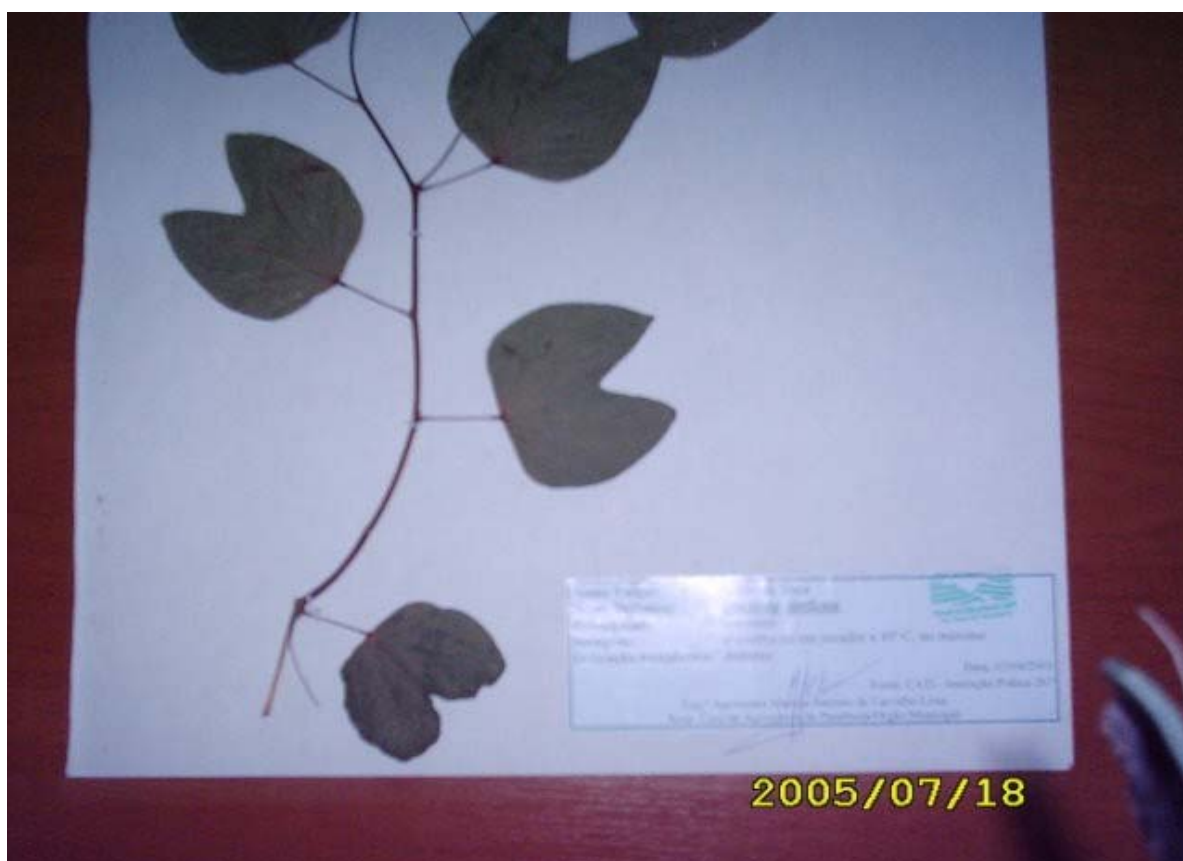
SOLIMENI, M.C; OLIVEIRA, S.F. Avaliação não-invasiva do paciente diabético assintomático: aspectos peculiares. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 929-35, 1998.

STANELY, M.P.; MENON, V.P. Antioxidant action of *Tinospora cordifolia* root extract in alloxan diabetic rats. **Phytother Res.**, v.15, n.3, p. 213-8, 2001.

- TAMBASCIA, M.A; COELHO, O.R. Uso de hipoglicemiante em cardiopatas. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 957-960, 1998.
- THAI, A.; EISENBARTH, S. The natural history of IDDM. **Diabetes Rev.**; v.1 ,n.1, p. 1-14, 1993.
- TESKE, M; TRENTINI, A. M.M. Compêndio de Fitoterapia. **Herbarium Lab. Botânico**, Curitiba, Paraná, 1995.
- THEOCHARIS, E.S et al Induction of metallothionein in the liver of carbon tetrachloride intoxicated rats: an immunohistochemical study. **Toxicology**, v.161, p. 129-138, 2001.
- WAJCHENBERG, B.L. Diabete melito, resistência à insulina e moléstia cardiovascular. **Revista da Sociedade de Cardiologia do estado de São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 923-28, 1998
- YADAV, S. et al. Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Murraya koenigii* leaves in diabetic rats, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, p. 111-116, 2002.
- YAMANE, M; ABE, A. High-performance liquid chromatography-thermospray mass spectrometry of 6,6-dihydroxyeicosatrienoate-1,5-lactone from tissue homogenates, **Journal of Chromatography B**, v.678, p. 339-343, 1996.
- ZARAGOZA, A; ANDRÉS, D; SARRIÓN, D. Potention of htioacetamide hepatotoxicity by phenobarbital pretreatment in rats. Indcibility of FAD monooxygenase system and age effect. **Chemico-Biologica Interactions**, v.124:, p. 87-101, 2000.

ANEXOS

Anexo 1- Foto da identificação da exsicata da *Bauhinia forficata*.



Anexo 2- Foto do selo de identificação.

