

## Efeito do composto “mais vida” na ativação de macrófagos de ratos diabéticos

FRANÇA, E.L.; FAGUNDES, D.L.G.; LEÃO, L.D.; HONÓRIO-FRANÇA, A.C.\*

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - UFMT, Pontal do Araguaia/MT, Rodovia MT100, Km 3,5, CEP: 78698-000, Pontal do Araguaia-Brasil \*adenilda@ufmt.br

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade funcional de macrófagos de ratos diabéticos, através da liberação do ânion superóxido, na presença do composto “mais vida”. Os animais foram divididos em dois grupos, controle (N=20) e diabético (N=20). Avaliou-se a glicemia, massa corpórea e a liberação de superóxido pelos macrófagos de baço de ratos. O composto “mais vida” foi obtido através da mistura de extratos de sete plantas, sendo *Orbignia martiana* Rodr., *Tabebuia avellanedae* L.G., *Arctium lappa* L., *Rosa centifolia* L., *Maytenus ilicifolia* Mart., *Vernonia condensata* Baker e *Thuja occidentalis* L. Observou-se que glicemia foi maior no grupo diabético. A liberação espontânea do ânion superóxido pelos macrófagos foi menor no grupo diabético. O composto “mais vida”, independente dos níveis glicêmicos, aumentou a liberação de superóxido dos macrófagos. Quando as células foram estimuladas pelos extratos vegetais isolados, também houve aumento na liberação do ânion superóxido pelos macrófagos em ambos os grupos. As maiores liberações de superóxido ocorreram quando os macrófagos foram estimulados pela *Thuja occidentalis* L., *Rosa centifolia* L., *Tabebuia avellanedae* L.G. e *Maytenus ilicifolia* Mart. Estes dados sugerem que a ativação de macrófagos pelo composto “mais vida” pode representar um mecanismo alternativo de defesa para infecções em indivíduos diabéticos.

**Palavras-chave:** Fitoterápico, fagócitos, diabetes, aloxana, ânion superóxido

**ABSTRACT: Effects of "mais vida", a commercial natural mix, on the activation of macrophages from diabetic rats.** This study investigated the effects of “mais vida”, a commercial natural mix, on macrophages functional activity as evaluated by the superoxide release in diabetic rats. The animals were divided into two groups, control (N = 20) and diabetic (N = 20). This was achieved by determining blood glucose weight and the superoxide released by spleen macrophages. The “mais vida” mix was obtained by the combination of extracts from seven medicinal species, which were: *Orbignia martiana* Rodr., *Tabebuia avellanedae* L.G., *Arctium lappa* L., *Rosa centifolia* L., *Maytenus ilicifolia* Mart., *Vernonia condensata* Baker and *Thuja occidentalis* L. Blood glucose levels were significantly higher ( $p < 0.05$ ) in the diabetic group, as compared to blood glucose levels in the control group. Superoxide levels in macrophages isolated from normoglycemic rats were higher than those obtained from diabetic animals. The “mais vida” mix, independently of glycemic status, increased significantly the superoxide release in the macrophages. Each extract by itself also increased the superoxide release by phagocytes in the macrophages in both groups. The largest superoxide release occurred when the phagocytes were stimulated by *Thuja occidentalis* L., *Rosa centifolia* L., *Tabebuia avellanedae* L.G. and *Maytenus ilicifolia* Mart. In addition, the activation of macrophages by the “mais vida” mix may represent an additional protection mechanism for diabetic individuals against infections.

**Key words:** phytotherapy, phagocytes, diabetes, alloxan, superoxide anion

### INTRODUÇÃO

Diabetes *mellitus* é doença metabólica caracterizada por níveis elevados de glicose no sangue. É o resultado da ausência ou insuficiência de secreção de insulina do pâncreas, com ou sem comprometimento concomitante de ação da insulina (Baynes, 1999; Robertson, 2004; ADA, 2009) e tem

sido associada às alterações no metabolismo (Balda & Pacheco-Silva, 1999). Como consequência da deficiência da insulina, observa-se alterações no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (Niemeijer-Kanters et al., 2001).

O diabetes *mellitus* também resulta em

desequilíbrio na razão entre moléculas oxidantes e anti-oxidantes, com aumento da concentração de radicais livres (Biondi-Zoccai et al., 2003). A hiperglicemia crônica está associada ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (Hayek et al., 2005).

Os portadores de diabetes apresentam redução na fagocitose, atividade microbicida, liberação de enzimas lisossomais e produção de espécies reativas de oxigênio, com alterações nos sistemas antioxidantes (Jakelic et al., 1995; Rocha et al., 2002; Alba-Loureiro et al., 2006).

Desde tempos remotos, a utilização de plantas com potencial terapêutico tem sido relatada para várias doenças (Ferro, 2006). Embora os resultados científicos sobre os efeitos ainda são parcialmente compreendidos (Di Stasi, 1989).

Vários trabalhos relatam a utilização de plantas capazes de estimular células imunes e atuar como forma alternativa no tratamento às infecções. Na etnofarmacologia popular brasileira, mistura de sete plantas tem se mostrado útil para a melhoria do sistema imunológico, aumento da atividade celular e redução de infecções. Esta mistura denominada “mais vida” inclui a preparação do extrato das plantas babaçu (*Orbignia martiana* Rodr.), ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae* L.G.), bardana (*Arctium lappa* L.), rosa (*Rosa centifolia* L.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.), boldo baiano (*Vernonia condensata* Baker), tuia (*Thuja occidentalis* L.). O composto “mais vida” tem sido utilizado como potente imunostimulador, capaz de estimular a produção do ânion superóxido pelos fagócitos do sangue humano. A ativação funcional celular pelo composto “mais vida” está associada aos mecanismos de defesa do organismo (Corrêa et al., 2006; França et al., 2010). Esta ativação pode ser avaliada pela quantificação do consumo de oxigênio (Pick & Mizel, 1981) ou pela formação de derivados do metabolismo oxidativo celular, entre estes o ânion superóxido (França et al., 2009; Honorio-França et al., 2009).

Por outro lado, as disfunções fagocitárias e alterações na geração do ânion superóxido são atribuídas como fatores importantes que contribuem para a geração das doenças infecciosas (Larijani et al., 2007).

Trabalhos experimentais em ratos com diabetes demonstram que há redução na produção de anticorpos e menor atividade de linfócitos T (Honório et al., 1996), diminuição da atividade fagocítica (Panneerselvam & Govindasamy, 2003), alterações na quimiotaxia (Fortes, 1991; Panneerselvam & Govindasamy, 2003), redução de peróxido de hidrogênio (Alba-Loureiro et al., 2006), aumento do estresse oxidativo (Aksoy et al., 2003) e alterações na liberação do ânion superóxido (França et al., 2009), sendo estas disfunções associadas ao

aumento dos níveis glicêmicos.

A importância do composto “mais vida” como potente imunomodulador (Corrêa et al., 2006; França et al., 2010), bem como de outras plantas (Kuhlwein et al., 2001), tem sido relatada com capacidade de ativar o sistema imune, porém os efeitos sobre indivíduos diabéticos ainda não foram elucidados.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade funcional de fagócitos de ratos diabéticos, através da liberação do ânion superóxido, na presença do composto “mais vida”.

## MATERIAL E MÉTODO

### Animais

Foram utilizados 40 ratos Wistar, com três meses de idade, pesando entre 200 a 250 g. Durante o período experimental, a temperatura do biotério foi mantida a  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alternância automática, em período de 12 horas, de claro-escuro. Os animais receberam água e ração *ad libitum*.

### Indução do Diabetes mellitus

Antes da indução do diabetes os animais permaneceram 12 horas em jejum. A indução foi realizada com a injeção intravenosa de aloxana ( $42 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso) em dose única na região mediana da cauda. Os animais sorteados para compor o grupo controle receberam solução fisiológica a 0,9%, em volume igual ao de animais tratadas com aloxana com peso equivalente. O período diabetogênico, com a comprovação da indução do diabetes ocorreu 15 dias após a indução da aloxana, com a aferição da glicemia. O diabetes foi confirmado pela presença de hiperglicemia (maior que  $120 \text{ mg dL}^{-1}$ ), através do uso do glicosímetro Accu-Check Advantage com as fitas glicotestes (Roche).

### Delineamento experimental

Os animais foram divididos em dois grupos, Grupo controle (N= 20) e Grupo diabético (N= 20). O período experimental foi de 21 dias, sendo a glicemia e massa corpórea determinadas nos seguintes intervalos: 1, 7, 14 e 21<sup>o</sup> dias após o período diabetogênico. A média glicêmica foi calculada através de todos os valores glicêmicos obtidos durante todo o experimento.

Na manhã do 21<sup>o</sup> dia, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico ( $50 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso do rato, intraperitoneal) e submetidos ao procedimento cirúrgico. O baço foi retirado, mantido em Solução Tampão Fosfato (PBS), para posterior separação de células e determinação da liberação de ânion superóxido. Após a retirada do baço os animais foram sacrificados. Todos os procedimentos deste trabalho de pesquisa foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética Institucional.

### **Preparação da mistura fitoterápica (“mais vida”)**

A mistura “mais vida” é composta por folha seca da *Orbignia martiana*, casca da *Tabebuia avellanedae*, folha da *Lappa major*, pétalas da *Rosa centifolia*, folha da *Maytenus ilicifolia*, folha da *Vernonia condensata* e folha da *Thuja occidentalis* (Corrêa et al., 2006). O preparo da mistura envolveu as etapas do processo de alcoolatura e processo de destilação.

#### **Processo de alcoolatura**

As alcoolaturas são formas farmacêuticas obtidas pela ação dissolvente do álcool sobre uma ou várias partes vegetais frescas. Foram preparadas de acordo com Código Farmacêutico Brasileiro (Farmacopéia, 1959).

As partes vegetais foram maceradas colocando-as em frascos de vidro de boca larga, sendo 200 g da planta para um litro de álcool 70%. Os frascos foram tampados e a planta em maceração foi deixada por 30 dias em temperatura ambiente. Durante os 10 primeiros dias os vidros foram agitados uma vez ao dia. Após esse período o preparado foi filtrado utilizando filtro de papel.

#### **Processo de destilação**

Os extratos são preparações concentradas, obtidas de drogas vegetais ou animais, frescas ou secas, por meio de um dissolvente apropriado, seguido de evaporação total ou parcial e ajustagem do concentrado a padrões previamente estabelecidos. Os extratos foram preparados de acordo com Código Farmacêutico Brasileiro (Farmacopéia, 1959).

Com exceção da *Thuja occidentalis* as amostras foram passadas em destilador, e foram concentradas até a consistência xaroposa, em temperatura até 60°C. Foi utilizado como conservante o Nipagim.

Todas as plantas estão depositadas no Herbário da Reserva Ecocerrado Brasil, Araxá/MG, Brasil, localizada a Latitude 19°36'47, 1" Longitude 47°08'20, 9", com 939 m altitude. O efeito imunestimulador da mistura fitoterápica foi avaliado *in vitro* utilizando macrófagos de baço de ratos diabéticos.

### **MÉTODOS DE AVALIAÇÃO**

#### **Isolamento, purificação e identificação de macrófagos**

Os baços foram macerados em Solução Salina Tamponada (PBS) e os macrófagos separados por gradiente de densidade com Ficoll- Paque 1.077 (Pharmacia). As células foram contadas em Câmara de Neubauer e as concentrações ajustadas para  $1 \times 10^6$  céls mL<sup>-1</sup>. Os macrófagos foram identificados

em microscópio e a viabilidade foi verificada pelo método de exclusão por Trypan Blue, antes dos procedimentos para dosagem do ânion superóxido (Honório-França et al., 1997).

#### **Determinação do ânion superóxido**

A dosagem do ânion superóxido foi avaliada pelo método do Citocromo C (Pick & Mizel, 1981). A suspensão de células de baço foi ressuspensa em 0,5 mL de PBS glicosado contendo ferricitocromo C (Sigma - concentração de 2 mg mL<sup>-1</sup>). A liberação de superóxido pelos macrófagos foi avaliada através de incubação destas células com Phorbol Miristrate Acetate (PMA - Sigma, concentração final de 10<sup>-7</sup> M - controle positivo); mistura fitoterápica “mais vida” (1g mL<sup>-1</sup>); sete plantas isoladas (babaçu - *Orbignia martiana* Rodr., ipê-roxo - *Tabebuia avellanedae* L.G., bardana - *Arctium lappa* L., rosa - *Rosa centifolia* L., espinheira santa - *Maytenus ilicifolia* Mart., boldo baiano - *Vernonia condensata* Baker, tuia - *Thuja occidentalis* L., concentração final de 1 g mL<sup>-1</sup>, de acordo com padronização prévia por Córrea et al. (2006). Também um controle foi realizado incubando os macrófagos na presença de PBS para verificar a liberação espontânea do ânion superóxido. As suspensões foram colocadas em placas de cultura celular de 96 poços, com volume de 150 µL por poço e deixadas em estufa a 37°C, durante 1 hora. A leitura foi feita em espectrofotômetro de placa com filtro de 450 nm (França et al., 2009). A concentração do ânion foi obtida através da relação Concentração de O<sub>2</sub><sup>-</sup> = DO/6.3 x 100.

#### **Análise estatística**

Para as variáveis, glicemia, massa corpórea, liberação do ânion superóxido utilizou-se a análise de variância (ANOVA) com o cálculo da estatística F, sendo as diferenças mínimas significativas calculadas pelo método de Tukey (Zar, 1981). Todos os resultados foram expressos como média ± SD. As estatísticas foram consideradas significativas quando seu “p value” foi menor que 0,05 (p<0,05).

### **RESULTADO**

#### **Confirmação do Diabetes**

A confirmação do diabetes foi comprovada a partir da glicemia avaliada em quatro momentos durante os vinte e um dias de experimento no grupo de ratos sensibilizados pela aloxana (Tabela 1). Não houve diferença significativa (p>0.05) entre a massa corpórea de animais dos grupos controles e diabéticos, ao longo do experimento.

O diabetes não alterou significativamente (p>0.05) o número e a viabilidade dos macrófagos do baço dos animais diabéticos induzidos pela aloxana (Tabela 1).

**TABELA 1.** Características gerais de ratas sensibilizados por aloxana e ratas do grupo controle.

Parâmetros avaliados	Grupo controle (N=10)	Grupo diabético (N=10)
Glicemia (mg dL <sup>-1</sup> )	102,2 ± 11,0	195,6 ± 17,3*
Massa corpórea (g)	212,5 ± 3,0	192,0 ± 8,1
Número de macrófagos (1x10 <sup>6</sup> células mL <sup>-1</sup> )	4.2 ± 0.5	3.9 ± 0.4
Viabilidade de macrófagos (%)	89 ± 4.7	87.9 ± 5.6

\*p<0.05 (ANOVA) comparando o grupo de ratos controle com o grupo diabético induzido pela aloxana.

### Liberação do ânion superóxido

A liberação espontânea do ânion superóxido pelos macrófagos de baço do grupo controle (6,0 ± 1,7) foi maior quando comparada à liberação do ânion superóxido pelos macrófagos dos animais diabéticos (3.6 ± 0,7- Figura 1).

O composto “mais vida” aumentou a liberação do ânion superóxido pelos macrófagos tanto no grupo controle (15,5 ± 7,2) como do grupo diabético (16,2 ± 4,5) com valores similares a liberação quando os fagócitos foram estimulados pelo PMA (controle positivo – grupo controle 19,5 ± 6.9; grupo diabético 18.5 ± 5.5). Não houve diferença significativa (p>0,05) quanto à liberação do ânion superóxido pelos macrófagos de ratos diabéticos e controles quando estes foram estimulados pela mistura “mais vida” (Figura 1).

Houve aumento na liberação do ânion superóxido pelos fagócitos de baço, em ambos os grupos, na presença de todos os extratos vegetais individuais que compõem a mistura fitoterápica, ao

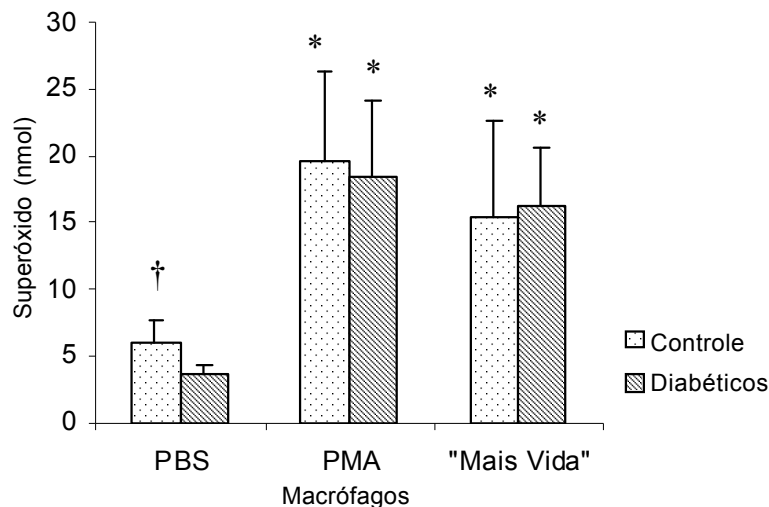
se comparar a liberação espontânea (Tabela 2).

Não houve diferença significativa (p>0,05) entre a liberação do ânion superóxido pelos macrófagos de baço estimulados pelo babaçu, bardana e pelo boldo em ambos os grupos controle e diabético quando comparados ao composto “mais vida” (Tabela 2).

As maiores liberações de ânion superóxido ocorreram quando os fagócitos foram estimulados pela tuia, rosa, ipê-roxo e pela espinheira santa quando comparados ao “mais vida” (Tabela 2).

### DISCUSSÃO

Diabetes *mellitus* é doença metabólica caracterizada por hiperglicemia e está associada às infecções (Gallacher et al., 1995; Delamaire et al., 1997; Rocha et al., 2002; França et al., 2009; Honorio-França et al., 2009) As disfunções fagocitárias e alterações na geração do ânion superóxido são atribuídas como importantes fatores que contribuem



**FIGURA 1.** Efeito do composto “mais vida”, PBS (controle) e PMA (10<sup>7</sup>M - controle positivo) sobre a liberação de superóxido pelos macrófagos de ratos controles e diabéticos induzidos pela aloxana. Os resultados representam a média e o desvio padrão de 10 experimentos com células de diferentes animais. \*p<0.05 comparando a liberação de superóxido de células estimuladas com PMA ou “mais vida” com células na presença de PBS, considerando o mesmo grupo experimental. †p<0.05 comparando o grupo controle com o grupo diabético induzido com Aloxana, considerando o mesmo tratamento das células.

**TABELA 2.** Liberação do ânion em animais do grupo controle e animais do grupo diabético.

Liberação do ânion Superóxido	Controle(N=10)	Diabético(N=10)
Composto “Mais Vida”	15,51 ± 7,28	16,28 ± 4,52
Babaçu ( <i>Orbignia martiana</i> Rodr.)	12,63 ± 2,30	12,83 ± 3,90
Bardana ( <i>Arctium lappa</i> L.)	12,08 ± 0,90	12,04 ± 0,85
Boldo ( <i>Vernonia condensata</i> Baker)	21,83 ± 5,39	23,47 ± 1,95
Tuia ( <i>Thuja occidentalis</i> L.)	37,06 ± 3,62*	42,47 ± 2,93*
Rosa ( <i>Rosa centifolia</i> L.)	37,60 ± 3,62*	42,89 ± 3,30*
Ipê-Roxo ( <i>Tabebuia avellanedae</i> L.G.)	29,86 ± 1,10*	30,19 ± 2,33*
Espinheira Santa ( <i>Maytenus ilicifolia</i> Mart.)	46,79 ± 5,35*	49,67 ± 1,42*

\*p<0.05 (ANOVA) comparando o grupo de ratos controle com o grupo diabético induzido pela aloxana.

para a geração das doenças infecciosas (Larijani et al., 2007). No presente estudo experimental em animais avaliou-se *in vitro* o efeito imunestimulador do composto “mais vida” em macrófagos de baço de ratos diabéticos.

Os ratos com diabetes induzidos pela Aloxana apresentaram hiperglicemia, no entanto, o aumento dos níveis glicêmicos não alterou o número e a viabilidade dos macrófagos de baço. A hiperglicemia interferiu na capacidade de ativação destas células. A liberação espontânea de superóxido foi menor no grupo diabético (p<0.05). Resultados similares foram encontrados por Rocha et al. (2002) onde verificaram redução na produção de espécies reativas do oxigênio com alterações nos sistemas antioxidantes. Por outro lado, trabalhos de Jakelic et al. (1995) e Alba-Loureiro et al. (2007) observaram redução na fagocitose e atividade microbicida dos leucócitos em pacientes diabéticos, demonstrando uma relação entre a produção de radicais livres e a atividade funcional de fagócitos.

No estresse oxidativo, as células são capazes de gerar grandes quantidades do radical superóxido (Reiter, 1995; Robertson, 2004; Rodriguez et al., 2004). A geração de radicais livres tem sido reportada como importante mecanismo de defesa do organismo durante os processos infecciosos, principalmente em infecções intestinais (Honório-França et al., 1997; França-Botelho et al., 2006).

No presente estudo verificou-se que o composto “mais vida” atuou com modulador do sistema imune, aumentando a liberação do ânion superóxido pelos macrófagos de ratos diabéticos. Não houve diferença significativa em relação à liberação do ânion superóxido pelos macrófagos estimulados pelo composto “mais vida” entre os animais do grupo controle e do grupo diabético. Resultados similares foram observados para macrófagos de sangue de indivíduos normais por Corrêa et al. (2006), que encontraram uma ação imunestimuladora na

produção de ânion superóxido pelos fagócitos do sangue humano.

Quando os macrófagos são ativados os níveis de oxigênio reativo aumentam, incluindo  $H_2O_2$ , os quais são conhecidos com a função de modulador celular (Kono et al., 1996). É conhecido o importante papel que os macrófagos desempenham no mecanismo de defesa frente às infecções. A modulação dos macrófagos em várias respostas biológicas tem sido associada à atividade imunomoduladora (Kang et al., 2002).

Na literatura, vários trabalhos reportam a função dos fagócitos frente às infecções, tendo-se atribuído um importante papel aos radicais derivados do oxigênio e seus possíveis moduladores (Babior et al., 1978; Mundi et al., 1991; Asad et al., 1994; Honório-França et al., 1997; Honório-França et al., 2009; França et al., 2011).

Neste trabalho quando se avaliou o efeito isolado das plantas sobre a liberação do ânion superóxido de macrófagos de ratos normais e diabéticos verificou-se que houve ativação diferenciada. Quando os macrófagos, tanto do grupo controle como do grupo diabético, foram estimulados pela tuia - *Thuja occidentalis* L., rosa - *Rosa centifolia* L., ipê-roxo - *Tabebuia avellanedae* L.G. e espinheira santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. houve maior liberação de superóxido quando comparado a liberação pelos macrófagos estimulados pela mistura fitoterápica “mais vida”.

Os principais efeitos isolados atribuídos a cada uma destas plantas são variados. A *Tabebuia avellanedae* L.G. apresenta propriedades etnoterapêuticas como antiinflamatória e antitumoral (Oga et al., 1969; Souza et al., 1998), anticoagulante (Block, 1974), imunestimulante (Wong et al., 1994), antimicrobiana (Avirutnant et al., 1983; Guiraud et al., 1994). A *Thuja occidentalis* L. com propriedades etnoterapêuticas como antiviral, antitumoral dentre outras; *Rosa centifolia* L., calmante; *Vernonia*

*condensata* Baker com propriedades analgésicas e de proteção gástrica (Boorhem et al., 1999).

Na literatura, trabalhos reportam a efetividade das plantas medicinais, sendo consideradas como perspectivas para obtenção de novas drogas para melhora do diabetes *mellitus* (Hasani-Ranjbar et al., 2008). Vários autores demonstraram efeitos benéficos das plantas medicinais para o diabetes, principalmente devido ao efeito hipoglicemiante (Asgary et al., 2008; de Ventera et al., 2008; Honório-França et al., 2008; Gbolade, 2009).

No presente trabalho, o composto “mais vida” apresentou capacidade de estimular a atividade funcional de fagócitos de ratos diabéticos de forma similar aos macrófagos de ratos controles, demonstrando ser importante nos processos infecciosos, uma vez que indivíduos diabéticos são mais susceptíveis às infecções.

Estes dados sugerem que o composto “mais vida” é potente imunoestimulador, e que a ativação por esta mistura fitoterápica pode representar um mecanismo alternativo de defesa para infecções em indivíduos diabéticos.

## AGRADECIMENTO

A Valeria Conde Correa e ao laboratório “Natuoterapia Sinhô Mariano” pelo apoio, cedendo o composto “Mais Vida”, necessário para a concretização deste trabalho, e a Fundação de Amparo a Pesquisa de Mato Grosso (FAPEMAT processo nº: 738264/2008).

## REFERÊNCIA

American Dietetic Association (ADA). Position of the american dietetic association: promoting and supporting breastfeeding. **Journal American Dietetic Association**, v.109, p.1924-6, 2009.

AKSOY, N. et al. Effects of melatonin on oxidative-antioxidant status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. **Cellular Biochemistry Function**, v.21, p.121-5, 2003.

ALBA-LOUREIRO, T.C. et al. Diabetes causes market changes in function and metabolism of rat neutrophils. **Journal of Endocrinology**, v.188, p.295-303, 2006.

ALBA-LOUREIRO, T.C. et al. Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.40 p.1037-44, 2007.

ASAD, N.R. et al. Lethal interaction between hydrogenperoxide and O-phenonhtholine in *Escherichia coli*. **British Journal of Medical of Biology Research**, v.27, p.2551-5, 1994.

ASGARY, S. et al. Effect of ethanolic extract of *Juglans regia* L. on blood sugar in diabetes-induced rats. **Journal of Medical Food**, v.11, p.533-8, 2008.

AVIRUTNANT, W.; PONGPAN, A. The antimicrobial activity

of some Thai flowers and plants. **Journal Pharmaceutical Sciences**, v.10, p.81-6, 1983.

BABIOR, B.M. Oxigen dependent microbial killing by phagocytes. **New England Journal Medicine**, v.298, p.659-68, 1978.

BALDA, C.A.; PACHECO-SILVA, A. Aspectos imunológicos do Diabetes *mellitus* Tipo 1. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.5, n.2, p.25-9, 1999.

BAYNES, Y.W.; THORPE R. Role of oxidative stress in diabetic complications. **Diabetes**, v.48, p.1-9, 1999.

BIONDI-ZOCCAI, G.G.L. et al. Atherotrombosis, inflammation and diabetes. **Journal of American College of Cardiology**, v.41, p.1071-7, 2003.

BLOCK, J.B. Early clinical studies with lapachol (NSC-11905). **Cancer Chemotherapy Reports**, v.4, n.2, p.27-8, 1974.

BOORHEM, R.L. et al. **Segredos e virtudes das plantas medicinais**. 1.ed. Rio de Janeiro: Reader's Digest Brasil Ltda, 1999. 416p.

CORRÊA, V.S.C. et al. Atividade funcional de fagócitos na presença do fitoterápico “Mais Vida”. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, n.2, p.26-32, 2006.

DE VENTERA, N.R. et al. Antidiabetic screening and scoring of 11 plants traditionally used in South Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, p.81-6, 2008.

DELAHAIRE, M. et al. Impaired leukocyte functions in diabetic patients. **Diabetic Medicine**, v.14, p.29-34, 1997.

DI STASI, L.C. et al. **Plantas medicinais da Amazônia**. São Paulo: Editora Unesp, 1989. 127p.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 2.ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira S/A. 1959. 1265p.

FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. v.1, São Paulo: Editora Ateneu, 2006, 502p.

FORTES, Z.B. Direct vital microscopic study of defective leukocyte-endothelial interaction in Diabetes-*Mellitus*. **Diabetes**, v.40, p.1267-73, 1991.

FRANÇA, E.L. et al. Immunomodulatory effects of herbal plants plus melatonin on human blood phagocytes. **International Journal of Phytomedicine**, v.2, p.354-62, 2010.

FRANÇA, E.L. et al. Modulatory role of melatonin on superoxide release by spleen macrophages isolated from alloxan-induced diabetic rats. **Bratislava Medical Journal**, v.7, p.163-73, 2009.

FRANÇA, E.L. et al. Human colostral phagocytes eliminate enterotoxigenic *Escherichia coli* opsonized by colostrum supernatant. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v.44, p.1-7, 2011.

FRANÇA-BOTELHO, A.C. et al. Phagocytosis of *Giardia lamblia* trophozoites by human colostral leucocytes. **Acta Pediatrica**, v.95, p.438-43, 2006.

GALLACHER, S.J. et al. Neutrophil bactericidal function in diabetes mellitus: evidence for association with blood glucose control. **Diabetic Medicine**, v.12, p.916-20, 1995.

GBOLADE, A.A. Inventory of antidiabetic plants in selected districts of Lagos State, Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, v.121, p.135-9, 2009.

GUIRAUD, P. et al. Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and B-lapachone. **Planta Médica**, v.60, p.373-4, 1994.

HASANI-RANJBAR, S.; LARIJANI, B.; ABDOLLAH, M.A. Systematic review of Iranian medicinal plants useful in diabetes mellitus. **Archives Medical Science**, v.4,

- p.85-92, 2008.
- HAYEK, A. et al. Macrophage-foam cell formation in streptozotocin induced diabetic mice: stimulatory effect of glucose. **Atherosclerosis**, v.183, n.1, p.25-33, 2005.
- HONÓRIO, A.C. et al. Avaliação da resposta imune materna e fetal de ratas diabéticas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.18, p.233-8, 1996.
- HONÓRIO-FRANÇA, A.C. et al. Colostral mononuclear phagocytes are able to kill enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) opsonized by colostral IgA. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.46, p.59-66, 1997.
- HONÓRIO-FRANÇA, A.C. et al. Colostral neutrophils express IgA Fc receptors (CD89) lacking  $\gamma$  chain association that mediate non-inflammatory properties of secretory IgA. **Journal of Leukocyte Biology**, v.69, n.2, p.289-96, 2001.
- HONÓRIO-FRANÇA, A.C. et al. Evaluation of hypoglycemic activity and healing of extract from amongst bark of "Quina do Cerrado" (*Strychnos pseudoquina*). **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.23, p.504-10, 2008.
- HONÓRIO-FRANÇA, A.C. et al. Melatonin effects on macrophage in diabetic rats and the maternal hyperglycemic implications for newborn rats. **International Journal Diabetes and Metabolism**, v.17, p.87-92, 2009.
- JAKELIC, J. et al. Nonspecific immunity in diabetes: hyperglycemia decreases phagocytic activity of leukocytes in diabetic patients. **Medical Archives**, v.49, p.9-12, 1995.
- KANG, N.S. et al. Modulation of macrophage function activity by ethanolic extract of larvae of *Holotrichia diomphalia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, p.89-94, 2002.
- KONO, K. et al. Hydrogen peroxide secreted by tumor-derived macrophages down-modulates signal-transducing zeta molecules and inhibits tumor-specific T cell-and natural killer cell-mediated cytotoxicity. **European Journal Immunology**, v.26, p.1308-13, 1996.
- KUHLWEIN, E.; IRWIN, M. Melatonin modulation of lymphocyte proliferation and Th1/Th2 cytokine expression. **Journal of Neuroimmunology**, v.117, p.51-7, 2001.
- LARIJANI, B. et al. Polymorphonuclear leucocyte respiratory burst activity correlates with serum zinc level in type 2 diabetic patients with foot ulcers. **British Journal of Biomedical Science**, v.64, p.13-7, 2007.
- MUNDI, H. et al. Extracellular release of reactive oxygen species from human neutrophils upon interaction with *Escherichia coli* strains causing renal scarring. **Infection and Immunity**, v.59, p.4168-72, 1991.
- NIEMEIJER-KANTERS, S.D.J.M.; BANGA, J.D.; ERKELENS, D.W. Lipid lowering therapy in diabetes mellitus. **Netherland Journal of Medicine**, v.58, p.214-22, 2001.
- OGA, S. Toxicity and antiinflammatory activity of *Tabebuia avellanedae* extracts. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da USP**, v.7, p.47-53, 1969.
- PANNEERSELVAM, S.; GOVINDASAMY, S. Sodium molybdate improves the phagocytic function in alloxan-induced diabetic rats. **Chemistry Biological Interact**, v.145, p.159-63, 2003.
- PICK, E.; MIZEL, D. Rapid microassays for the measurement of superoxide and hydrogen peroxide production by macrophages in culture using in automatic enzyme immunoassay reader. **Journal of Immunological Methods**, v.46, p.211-26, 1981.
- REITER, R.J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. **Faseb Journal**, v.9, p.526-33, 1995.
- ROBERTSON, R.P. Chronic oxidative stress: a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cell in diabetes. **Journal Biological Chemistry**, v.279, p.42351-4, 2004.
- ROCHA, J.L.L. et al. Aspectos relevantes da interface entre Diabetes *mellitus* e infecção. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v.46, p.221-9, 2002.
- RODRIGUEZ, C. et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. **Journal of Pineal Research**, v.6, p.1-9, 2004.
- SOUZA, M.M. et al. Analgesic properties of a hydroalcoholic extract obtained from *Alternanthera brasiliana*. **Phytotherapy Research**, v.12, p.279-81, 1998.
- WONG, C.K.; LEUNG, K.N.; FUNG, K.P. Immunomodulatory and anti-tumor polysaccharides from medicinal plants. **Journal of International Medical Research**, v.22, p.299-312, 1994.
- ZAR, J.H. **Bioestatical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, 1984. 718p.