
AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO PÂNCREAS DE RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM EXTRATOS DE *Azadirachta indica* (NEEM) E ESTREPTOZOOTOCINA 6 CH

ROSA, Marília Ferreira¹
PACHECO, Maria Rita²
GIRARDI, Annita Moraes³
SILVA, Matheus Henrique Magalhães⁴
MACHADO, Márcia Rita Fernandes⁵
SANTOS, Edanir dos⁶

Recebido em: 2014.10.23

Aprovado em: 2015.06.12

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.1388

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos extratos aquoso e hidroalcoólico de *Azadirachta indica*, A. Juss e da estrepto-zootocina 6 CH sobre a histologia do pâncreas de ratos com diabetes mellitus, induzida por estrepto-zootocina, mediante análise à microscopia de luz. Verificou-se que as ilhotas e o pâncreas como um todo apresentavam aspecto normal no grupo controle e em todos os grupos tratados. Conclui-se que, apenas pela análise morfológica por microscopia de luz, não foi possível detectar os efeitos da indução do diabetes nem dos tratamentos realizados sobre o pâncreas destes animais.

Palavras-chave: Agentes hipoglicemiantes. *Diabetes mellitus*. Fitoterapia. Home

HISTOLOGICAL EVALUATION OF THE PANCREAS OF DIABETIC RATS TREATED WITH *Azadirachta indica* (NEEM) EXTRACTS AND STREPTOZOTOCIN 6 CH

SUMMARY: The aim of this study was evaluate the effects of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Azadirachta indica*, A. Juss and streptozotocin 6 CH on the pancreas histology of streptozotocin-induced diabetic rats. The morphological results indicate that the islets and the entire pancreas showed normal appearance in the control and all treated groups. It follows that, only by morphological analysis by light microscopy, it was not possible to detect the effects of diabetes mellitus induction or treatments on the pancreas of these animals.

Keywords: *Diabetes mellitus*. Herbal medicine. Homeopathy. Hypoglycemic agents

INTRODUÇÃO

Os hormônios pancreáticos são sintetizados em grupamentos arredondados de células epiteliais endócrinas, as ilhotas de Langerhans (SCHOSSLER, 2004) e armazenados em grânulos intracelulares (BERNE *et al.*, 2000). As células β , secretoras de insulina, perfazem 70% da ilhota

¹ Médica Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Jaboticabal

² Professor Assistente Doutor, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Jaboticabal

³ Doutoranda em Clínica Médica Veterinária, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Jaboticabal

⁴ Mestre em Clínica Médica Veterinária, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Jaboticabal

⁵ Professor Adjunto, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Jaboticabal

⁶ Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Jaboticabal

(JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008) e ocupam sua região central (JOHNSON, 2000). A insulina reduz as concentrações sanguíneas de glicose, ácidos graxos e aminoácidos, promovendo sua conversão às formas de armazenamento (CUNNINGHAM, 1993).

O *diabetes mellitus* é um distúrbio metabólico crônico caracterizado por glicemia elevada pela deficiência e/ou resistência à insulina, com várias complicações graves como problemas macrovasculares, microangiopatia, retinopatia, nefropatia e neuropatia (RANG *et al.*, 2000). Nas ilhotas, causa redução de número e tamanho, infiltração leucocitária, degranulação das células β e substituição amilóide no diabetes tipo 2 (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000).

Quanto à indução do *diabetes mellitus*, a estrepto-zootocina produz uma ação tóxica sobre as células β ao se acumular na região central das ilhotas de Langerhans (FURLAN, 2001), possivelmente por estimular a produção de radicais livres, o que leva a destruição e disjunção destas células (MARLES; FARNSWORTH, 1999).

A *Azadirachta indica*, conhecida como Neem, é uma planta indiana (CHOPRA, 1958; SAXENA, 1993) introduzida no Brasil em 1993 pela EMBRAPA – CNPAF, que possui grande concentração de terpenóides responsáveis pelas suas ações terapêuticas (RAGASA *et al.*, 1997).

A ação hipoglicemiante de extratos do Neem tem sido descrita em estudos com animais (ALAM; SIDDIQUI; HUSSAIN, 1990; KHOSLA *et al.*, 2000; BISWAS *et al.*, 2002; HUSSAIN, 2002; CHANDRA; MAHDJA; SINGHA, 2007; EBONG *et al.*, 2008; MOSTOFA *et al.*, 2007; ATANGWHO *et al.*; 2010). Porém, Rosa *et al.* (2010) consideraram seu uso duvidoso no controle da glicemia de ratos diabéticos estrepto-zootocínicos pois os níveis glicêmicos dos animais tratados com extratos aquoso e hidroalcoólico de suas folhas foram maiores que os do grupo controle diabético. Além disso, Rosa *et al.* (2011) relataram que estes mesmos extratos não tiveram efeito significativo quanto à morfometria das ilhotas pancreáticas de ratos diabéticos. Em humanos, já foi descrita sua atividade hipoglicêmica em diabéticos tipo 2 (WAHEED; MIANA; AHMAD, 2006; KUMARI, 2010). Há relatos de que o efeito hipoglicemiante do extrato de suas folhas pode ser devido ao bloqueio do efeito inibitório da serotonina sobre a liberação de insulina mediada pela glicose (CHATTOPADHYAY, 1999) e à presença de um flavonóide, a quercetina (BISWAS *et al.*, 2002). Alguns autores relatam que a *Azadirachta indica* tem atividade antioxidante (MAHDI *et al.*, 2003; GUPTA *et al.*, 2004; CHANDRA; MAHDJA; SINGHA, 2007).

Além de reduzir a glicemia, alguns estudos descrevem a melhora no quadro clínico de ratos diabéticos após tratamento com os extratos de *Azadirachta indica*, como reestabelecimento do peso corporal (PARSHAD *et al.*, 1999; HUSSAIN, 2002; MOSTOFA *et al.*, 2007), diminuição da mortalidade (PARSHAD *et al.*, 1999), redução dos lipídios séricos (HUSSAIN, 2002;

KUMARI, 2010), reversão das anormalidades da retina e da inflamação dos membros (HUSSAIN, 2002).

Em relação à avaliação morfológica do pâncreas de ratos diabéticos sob tratamento fitoterápico, Schossler *et al.* (2004) observaram que o extrato da casca de *Syzygium cumini* não afeta o número, o tamanho e a citoarquitetura das ilhotas pancreáticas e não promove um aumento no número de células β . Ainda, Jelodar *et al.* (2005) relataram que os tratamentos com alho, cebola e fenacho não regeneraram as mudanças necróticas causadas pela aloxana nas ilhotas pancreáticas.

A homeopatia é uma ciência baseada na lei de cura *Simila similibus curentur*, ou seja, os semelhantes curados pelos semelhantes. Assim, toda substância capaz de produzir um quadro mórbido poderia, em doses convenientes, curar o indivíduo sensibilizado por uma doença semelhante, excetuando-se lesões irreversíveis (KOSSAK-ROMANACH, 1993). Nas ultra alta diluições, uma substância é diluída sequencialmente a 1:100 (C) e sofre succussão a cada passagem. A centesimal Hahnemanianna (CH) corresponde à diluição de 100 vezes e o número que a precede indica a quantidade de passagens (CARVALHO, 2000). O rato é o modelo mais utilizado em estudos com substâncias diluídas e potencializadas (VAN WIJK; CLAUSEN; ALBRECHT, 2009). Observou-se ação hipoglicemiante da aloxana 6 CH (SANTOS, 1990) e da estreptozotocina 6 CH (ROSA *et al.*, 2010) em ratos diabéticos. Porém, Rosa *et al.* (2011) não observaram efeitos do tratamento homeopático com estreptozotocina 6 CH na análise morfométrica das ilhotas pancreáticas destes animais.

Assim, objetivou-se avaliar os efeitos dos extratos aquoso e hidroalcoólico de *Azadirachta indica*, A. Juss e da estreptozotocina em ultra alta diluições em sistemas dinamizados, substâncias potencialmente hipoglicemiantes, sobre a histologia do pâncreas, mais especificamente das ilhotas de Langerhans, à microscopia de luz, em ratos induzidos ao diabetes pela administração de estreptozotocina.

MATERIAL E MÉTODO

Preparou-se dois extratos de *Azadirachta indica*, um aquoso e outro etanólico, com as folhas do Neem cultivadas e fornecidas pela EMBRAPA - CNPAF, que previamente passaram por processo de estabilização à sombra em ambiente coberto e ventilado. Após esta secagem e posterior trituração das folhas, foi preparado um extrato etanólico a 70% (p/p) por percolação, até o esgotamento do ativo, numa velocidade de 8 gotas por minuto e, em seguida, este foi concentrado até a obtenção de um extrato mole. Preparou-se também um extrato aquoso,

utilizando-se água destilada para a percolação até o esgotamento do ativo, nas mesmas condições anteriores e, posteriormente, este extrato aquoso foi liofilizado.

Para a preparação de ultra alta diluições em sistemas dinamizados (estreptozotocina 6 CH) utilizou-se, como ponto de partida, estreptozotocina (Streptozotocin)⁷ e como veículo, solução etanólica em diferentes concentrações. Realizou-se 100 sucussões pelo processo de diluição e sucussão mecânicas. A sucussão foi executada por meio de movimento contínuo e ritmado, no sentido vertical, de modo a produzir choque do fundo do frasco contra um anteparo semi-rígido. Dispôs-se sobre a bancada seis frascos de 30 mL para atingir a dinamização desejada e colocou-se em cada frasco 19,8 mL de solução etanólica a 70% (V/V). Acrescentou-se no primeiro frasco 0,2 g de estreptozotocina, homogeneizou-se e sucussionou-se 100 vezes em braço mecânico. Obteve-se assim a 1 CH. A partir dessa diluição, procedeu-se de forma idêntica para as preparações subsequentes até atingir a dinamização desejada (6 CH). A preparação 6 CH foi feita em solução etanólica a 30% (V/V). O líquido obtido foi conservado em recipiente de vidro âmbar, bem fechado, protegido do calor e da luz direta.

Foram utilizados para a experimentação 25 ratos albinos, machos, adultos, da raça Wistar, provenientes do Biotério Central do Câmpus de Botucatu, UNESP. Estes foram divididos em grupos de cinco animais, adaptados por cinco dias em gaiolas, sob temperatura controlada e ciclo de claro-escuro de 12 horas, com fornecimento de ração para manutenção e água *ad libitum* durante cinco dias, no Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, UNESP.

Após o período de adaptação, os animais foram deixados em jejum alimentar por um período de 14 a 16 horas e coletou-se, através da artéria infraorbitária, amostras de sangue (1 mL) para a determinação da glicemia pelo método de King e Garner (1947), após leve anestesia inalatória por éter. Em seguida, foi administrada a 20 ratos, 35 mg/kg de estreptozotocina diluída em tampão citrato de sódio (pH 4,5), intravenosamente, no seio venoso do pênis, com os animais ainda anestesiados. Os outros cinco ratos serviram como grupo controle (não diabético). Após cinco dias, coletou-se sangue, de acordo com o método anteriormente citado, para a determinação da glicemia. Depois de confirmada a hiperglicemia dos animais que receberam estreptozotocina, estes foram separados em grupos, cada um com cinco animais.

Todos os animais foram tratados diariamente, por via oral, na dose de 2 mL/kg de peso corporal, por meio de gavagem, a saber: os grupos controle e controle diabético receberam água; um grupo recebeu extrato aquoso de *Azadirachta indica* a 10%; outro grupo foi tratado com extrato hidroalcoólico (70%) de *Azadirachta indica* a 10% e o último grupo com

⁷ Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA.

estrepto-zootocina em ultra alta diluições em sistemas dinamizados (estrepto-zootocina 6 CH). Este procedimento foi realizado durante 30 dias.

No 31º dia, os animais foram sacrificados por inalação de éter e o pâncreas, depois de coletado, foi fixado em solução de Bouin por 24 horas e processado rotineiramente para a inclusão em parafina. Após a microtomia semi-seriada a intervalos de 110 µm, os cortes histológicos, à espessura de 7 µm, foram corados pela técnica da hematoxilina-eosina (TOLOSA *et al.*, 2003) e fotomicrografados com auxílio de fotomicroscópio (LEICA DM5000 B)⁸, sendo analisados 25 cortes histológicos por animal. O experimento foi realizado conforme o delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições (PIMENTEL GOMES, 2000). Os procedimentos deste experimento foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, protocolo nº 025471-05.

RESULTADO E DISCUSSÃO

As características histológicas do pâncreas dos grupos analisados estão ilustradas nas figuras de 1 a 3. Este órgão, em todos os grupos experimentais, mostrou-se envolvido por cápsula de tecido conjuntivo denso que originou septos, dividindo-o em lóbulos constituídos por ácinos serosos, ilhotas de Langerhans e por ductos intercalares revestidos por epitélio simples cúbico, tributários de ductos interlobulares maiores forrados por epitélio simples cilíndrico (Figura 1). Nos septos interlobulares, evidenciavam-se ductos interlobulares, arteríolas, capilares, vênulas, vasos linfáticos, adipócitos e corpúsculo de Vater-Paccini (Figura 2). As ilhotas de Langerhans apresentavam-se como aglomerados arredondados imersos no tecido pancreático exócrino, constituídos por células epiteliais poligonais ou arredondadas, dispostas em cordões separados por capilares fenestrados que recebem os hormônios por elas produzidos, classificando-se assim como glândula endócrina cordonal (Figura 3). Estas evidências estão em conformidade com as descrições de Banks (1992) e Junqueira e Carneiro (2008).

⁸ Leica Microsystems, Wetzlar, Germany.

FIGURA 1 – Fotomicrografias dos pâncreas de ratos machos albinos Wistar dos grupos controle branco (A), controle branco diabético (B), tratado com extrato aquoso de *Azadirachta indica* (C), tratado com extrato hidroalcoólico de *Azadirachta indica* (D) e tratado com estreptozotocina 6 CH (E), indicando: ilhota de Langerhans (IL), ducto intercalar (→), ducto interlobular (★), ácinos serosos (AS), arteríola (A), vênula (V) e tecido conjuntivo denso (TC). Hematoxilina – eosina.

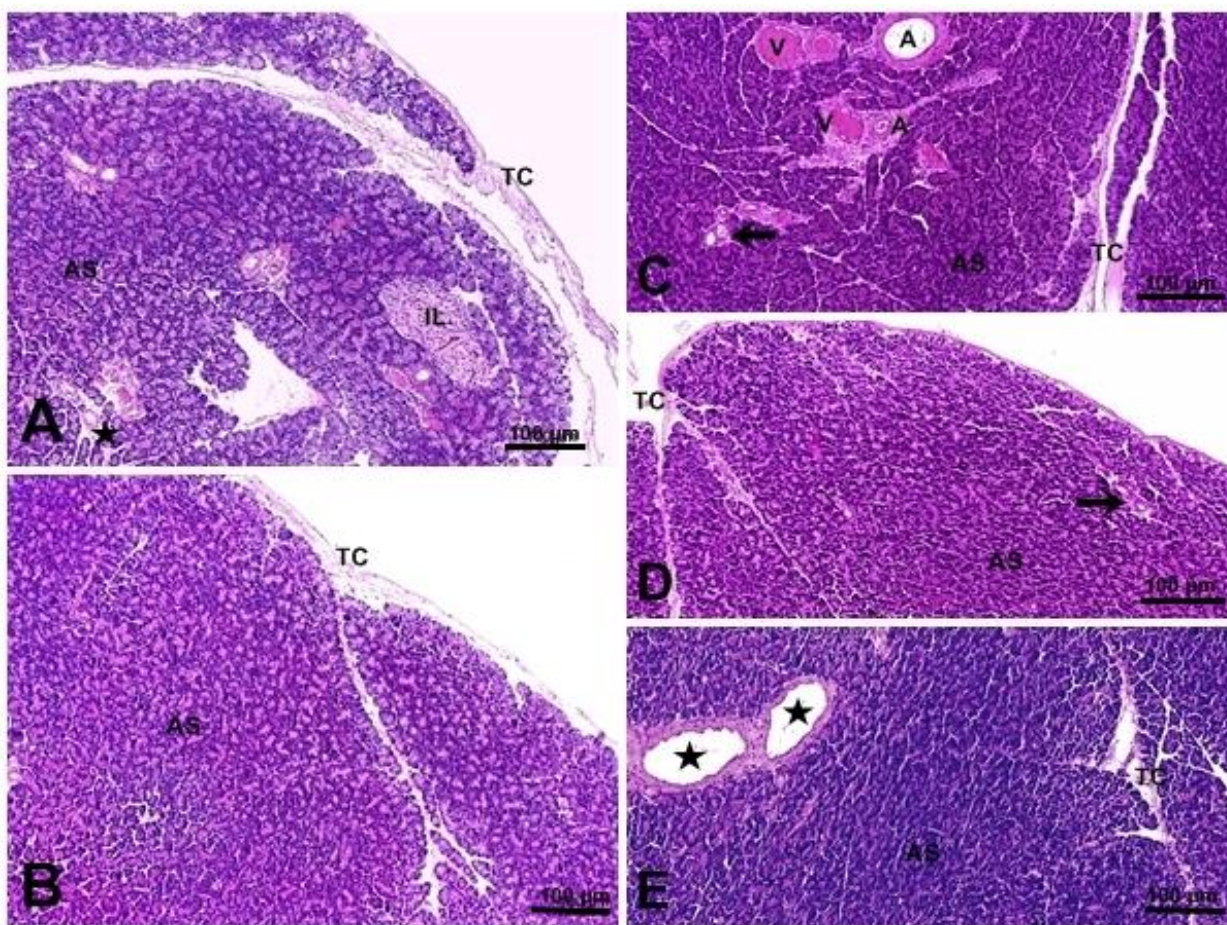


FIGURA 2 – Fotomicrografias dos pâncreas de ratos machos albinos Wistar dos grupos controle branco (A), controle branco diabético (B), tratado com extrato aquoso de *Azadirachta indica* (C), tratado com extrato hidroalcoólico de *Azadirachta indica* (D) e tratado com estreptozotocina 6 CH (E), indicando: ilhota de Langerhans (IL), ducto intercalar (→), ducto interlobular (★), arteriola (A), vênula (V), capilar (CP), vaso linfático (VL) e corpúsculo de Vater-Paccini (VP). Hematoxilina – eosina.

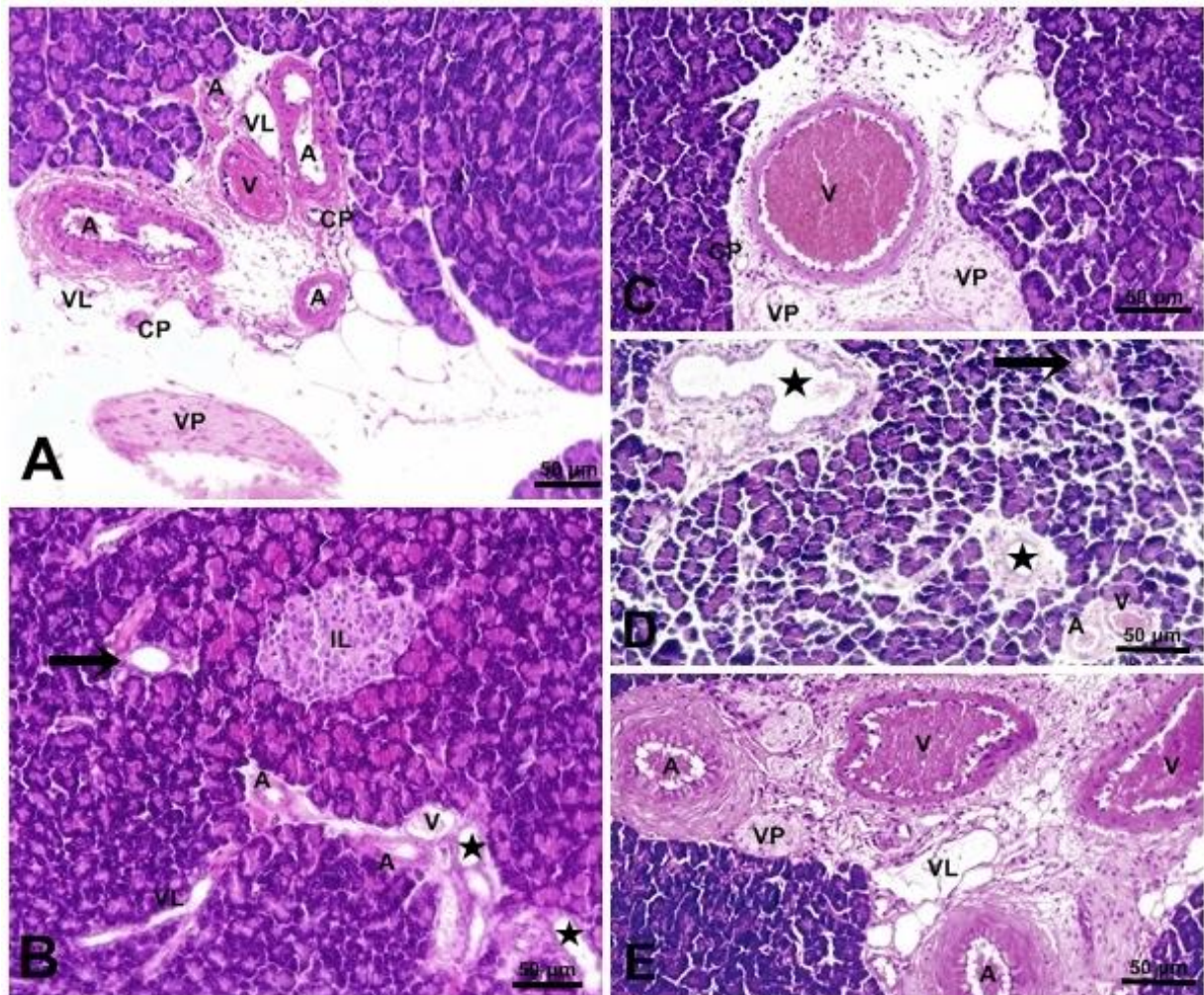
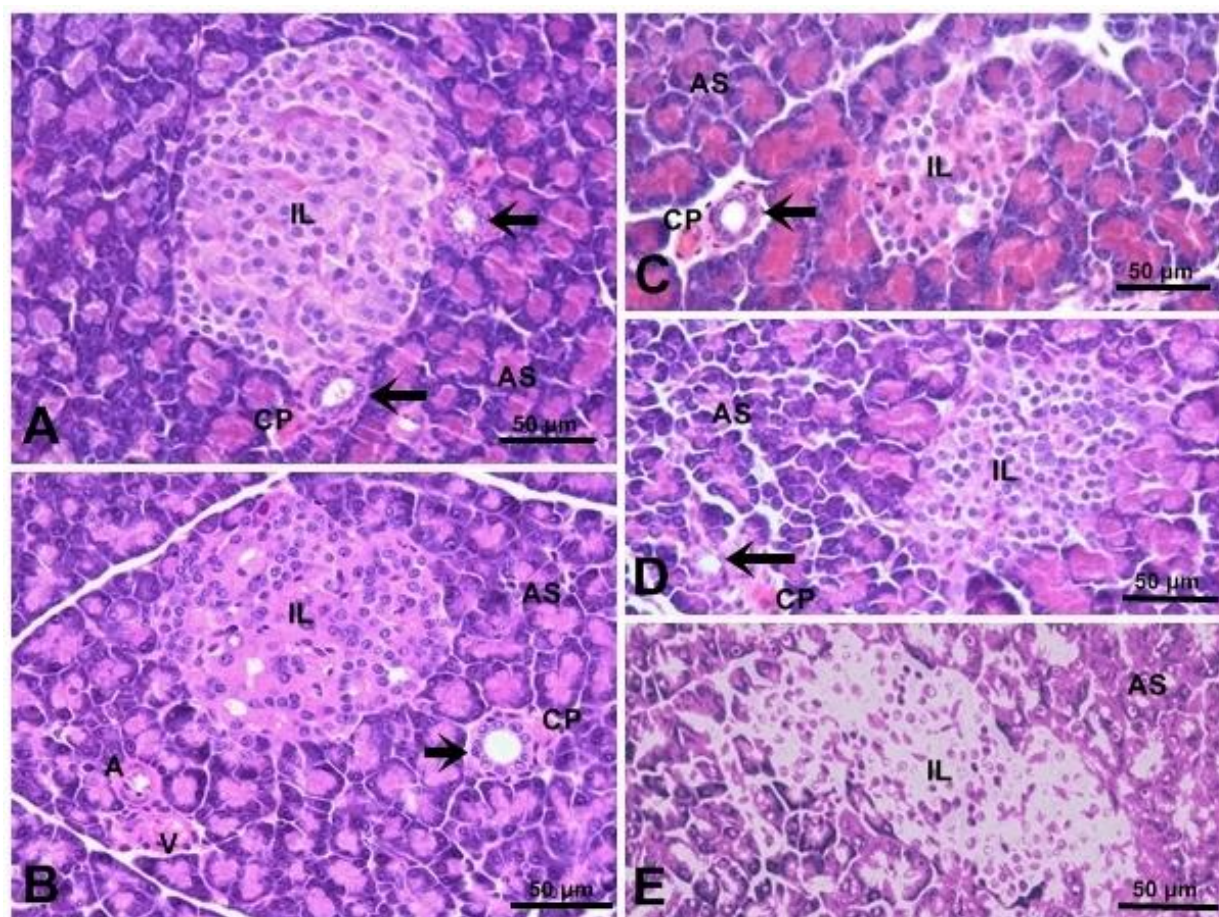


FIGURA 3 – Fotomicrografias dos pâncreas de ratos machos albinos Wistar dos grupos controle branco (A), controle branco diabético (B), tratado com extrato aquoso de *Azadirachta indica* (C), tratado com extrato hidroalcoólico de *Azadirachta indica* (D) e tratado com estreptozotocina 6 CH (E), indicando: ilhota de Langerhans (IL), ducto intercalar (→), ácinos serosos (AS), arteríola (A), vênula (V) e capilar (CP). Hematoxilina – eosina.



Não foram observadas nas ilhotas pancreáticas as alterações, causadas pelo diabetes, descritas por Cotran; Kumar; Robbins (2000). Apesar do efeito diabetogênico comprovado através da hiperglicemia, também não se observou qualquer alteração histológica na região central das ilhotas, onde se encontram as células β , as quais sofrem lesão tóxica pelo uso da estreptozotocina (FURLAN, 2001). Assim como os tratamentos fitoterápicos de ratos diabéticos realizados por Schossler *et al.* (2004) e Jelodar *et al.* (2005), a administração dos extratos de *Azadirachta indica* não resultou em alterações histológicas do pâncreas destes animais. O tratamento homeopático com estreptozotocina 6 CH também não demonstrou efeito sobre a morfologia das ilhotas pancreáticas dos ratos diabéticos estreptozotocínicos.

A análise histológica do pâncreas, à microscopia de luz, não permitiu a observação de diferenças morfológicas entre os grupos, o que pode ser justificado pelo período experimental

possivelmente curto para o aparecimento de alterações visíveis neste tipo de avaliação, o que justifica a realização de pesquisas mais aprofundadas.

CONCLUSÃO

A análise histológica do pâncreas pela microscopia de luz não permitiu detectar diferenças morfológicas entre os grupos experimentais, não sendo possível detectar os efeitos da indução do diabetes nem dos tratamentos realizados sobre este órgão. Todos os animais analisados apresentaram pâncreas com características histológicas normais para a espécie.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, por meio de bolsa de Iniciação Científica (Processo nº 05/60844-1).

REFERÊNCIAS

- ALAM, M. M.; SIDDIQUI, M. B.; HUSSAIN, W. Treatment of diabetes through herbal drugs in rural India. **Fitoterapia**, v. 61, n.3, p. 240-242, 1990.
- ATANGWHO, I. J. et al. Combined administration of extracts of *Vernonia amygdalina* (Del) and *Azadirachta indica* (A. Juss) mimic insulin in time-course body weight and glucose regulation in diabetic and non diabetic rats. **Nigerian Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 25, n. 1, p. 44-49, 2010.
- BANKS W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.
- BERNE, R. M.; LEVY, M. N. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. 1052 p.
- BISWAS, K. et al. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). **Current Science**, v. 82, n. 11, p. 1336-1345, 2002.
- CARVALHO, A. C. **Efeitos da administração da *Arnica montana* (tintura-mãe e preparações UHD) na atividade de diferentes agentes flogísticos em ratos**. São Paulo, 2000. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Paulista.
- CHANDRA, A.; MAHDJA, A. A.; SINGHA, R. K. Indian herbs result in hypoglycemic responses in streptozotocin-induced diabetic rats. **Nutrition Research**, v. 27, n. 3, p. 161-168, 2007.
- CHATTOPADHYAY, R. R. Comparative evaluation of some blood sugar lowering agents of plant origin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 3, p. 367-372, 1999.

CHOPRA, R. N. The Nim (*Melia azadirachta* L. Meliaceae), p.360-363. In: CHOPRA, R. N. (ed.) **Indigenous drugs of India**. 2. ed. New Delhi: Academia Publishers, 1958.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. **Robbins: Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1400 p.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 528 p.

EBONG, P. E. et al. The antidiabetic efficacy of combined extracts from two continental plants: *Azadirachta indica* (A. Juss) (Neem) and *Vernonia amygdalina* (Del.) (African Bitter Leaf). **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 239-244, 2008.

FURLAN, M. M. D. P. A estreptozotocina como agente diabetogênico. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 5, n. 2, p. 197-201, 2001.

GUPTA, S. et al. Protective role of extracts of neem seeds in diabetes caused by streptozotocin in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 2-3, p. 185-189, 2004.

HUSSAIN, H. E .M. A. Reversal of diabetic retinopathy in streptozotocin induced diabetic rats using traditional Indian anti-diabetic plant, *Azadirachta indica* (L.). **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 17, n. 2, p. 115-123, 2002.

JELODAR, G. A. et al. Effect of fenugreek, onion and garlic on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats. **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 59, p. 64-69, 2005.

JOHNSON, L. R. **Fundamentos de fisiologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 725 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524 p.

KHOSLA, P. et al. A study of hypoglycaemic effects of *Azadirachta indica* (Neem) in normal and alloxan diabetic rabbits. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 44, n. 1, p. 69-74, 2000.

KING, E. J.; GARNER, R. J. Colorimetric determination of glucose. **Journal of Clinical Pathology**, v. 1, n. 1, p. 30-33, 1947.

KOSSAK-ROMANACH, A. **Homeopatia em 1000 conceitos**. 3. ed. São Paulo: Elcid, 2003. 561 p.

KUMARI, D. J. Hypoglycaemic effect of *Moringa oleifera* and *Azadirachta indica* in type 2 diabetes mellitus. **The Bioscan**, v. 5, n. 2, p. 211-214, 2010.

MAHDI, A.A. et al. Effect of herbal hypoglycemic agents on oxidative stress and antioxidant status in diabetic rats. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 18, n. 2, p. 8-15, 2003.

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

- MOSTOFA, M. et al. Antidiabetic effects of *catharanthus roseus*, *Azadirachta indica*, *allium Sativum* and glimepiride in experimentally diabetic induced rat. **Bangladesh Journal of Veterinary Medicine**, v. 5, n. 1-2, p. 99-102, 2007.
- PARSHAD, O. et al. Effects of aqueous extract of Neem (*Azadirachta indica*, A. Juss) on streptozotocin induced diabetic rats. In: ANNUAL RESEARCH CONFERENCE, 8., 1999, Kingston. **Proceedings...** Mona: University of the West Indies, Faculty of Medical Sciences, 1999.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: Pimentel Gomes, 2000. 477p.
- RAGASA, C. Y. et al. Tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica*, A. Juss. **Phytochemistry**, v. 46, n. 3, p. 555-558, 1997.
- RANG, H. P. et al. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2004. 904 p.
- ROSA, M. F. et al. Determinação da ação hipoglicemiante da *Azadirachta indica*, A. Juss (Neem) aclimatada no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15. 2010. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/M1gAzgNMp7PWter_2013-6-25-15-27-15.pdf. Acesso em 13 out. 2014.
- ROSA, M. F. et al. Avaliação morfológica das ilhotas de Langerhans de ratos diabéticos tratados com extratos de *Azadirachta indica* (Neem) e estreptozotocina 6 CH. **ARS Veterinária**, v. 27, n. 3, p. 175-180, 2011.
- SANTOS, E. Action hypoglycémiant de l'alloxane 6CH sur les rats diabétiques alloxaniques. **Homeopathie**, v. 3, p. 38-39, 1990.
- SAXENA, R. C. Scope of Nim for developing countries. In: WORLD NIM CONFERENCE SOUVENIR, 1993, Bangalore. **Proceedings...** Bangalore: [S.N.], p. 30-36, 1993.
- SCHOSSLER, D. R. C. et al. Alterações histológicas e imunoistoquímicas em pâncreas de ratos normais e diabéticos tratados com *Syzygium cumini*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1821-1825, 2004.
- TOLOSA, E. M. C. et al. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. 331 p.
- VAN WIJK, R.; CLAUSEN, J.; ALBRECHT, H. The rat in Basic therapeutic research in homeopathy. **Homeopathy**, v. 98, p. 280-286, 2009.
- WAHEED, A.; MIANA, G. A.; AHMAD, S. I. Clinical investigation of hypoglycemic effect of seeds of *Azadirachta indica* in type-2 (NIDDM) diabetes mellitus. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 19, n. 4, p. 322-325, 2006.

