

Universidade Federal da Grande Dourados

**Tratamentos medicinais baseados em animais: conhecimento
tradicional e prospecção farmacológica**

Acadêmica: Janielle da Silva Melo da Cunha

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Kely de Picoli Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Soares

Dourados/MS

2018

JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA

Tratamentos medicinais baseados em animais: conhecimento tradicional e prospecção farmacológica

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados como exigência do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia e Biodiversidade.

Dourados/MS

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

M528t Melo, Janielle Da Silva

Tratamentos medicinais baseados em animais: conhecimento tradicional e prospecção farmacológica / Janielle Da Silva Melo -- Dourados: UFGD, 2018.

212f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Kely de Picoli Souza

Co-orientador: Marcos Antônio Soares

Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Zooterapia. 2. Antioxidante. 3. Hiperglicemia. 4. Diabetes. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).


©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E
BIODIVERSIDADE

Termo de Aprovação

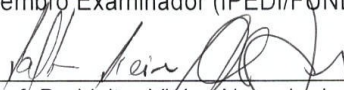
Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer **APROVADO**, para a tese intitulada: "**Tratamentos medicinais baseados em animais: conhecimento tradicional e prospecção farmacológica**", de autoria de **Janielle da Silva Melo da Cunha**, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados.




Prof^ª. Dr^ª. Kely de Picoli Souza
Presidente da banca examinadora



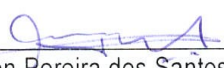
Prof^ª. Dr^ª. Denise Silva
Membro Examinador (IPEDI/FUNDAÇÃO BRADESCO)



Prof. Dr. Valter Viéira Alves Júnior
Membro Examinador (UFGD)



Prof^ª. Dr^ª. Denise Brentan da Silva
Membro Examinador (UFMS)



Dr. Wilson Pereira dos Santos
Membro Examinador (HEMOSUL)

Dourados/MS, 27 de julho de 2018.

RESUMO

DA CUNHA, Janielle da Silva Melo. Universidade Federal da Grande Dourados, junho de 2018. **“Tratamentos medicinais baseados em animais: conhecimento tradicional e prospecção farmacológica”**. Orientadora: Prof.^a Dr.^a Kely de Picoli Souza. Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Antônio Soares.

A utilização medicinal de animais ou produtos derivados deles é uma prática milenar difundida em diversas culturas, dentre elas a indígena. Contudo, os dados sobre a zooterapia ainda são escassos, embora as moléculas bioativas de origem animal sejam fontes promissoras para o desenvolvimento de novos produtos e para o tratamento de diversas doenças. Assim, o objetivo desta pesquisa foi realizar um levantamento de animais utilizados para fins medicinais nas etnias indígenas Guarani e Kaiowá do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, e, investigar o potencial farmacológico de duas espécies indicadas para o tratamento de diabetes. Neste sentido, foram realizadas entrevistas com universitários indígenas das etnias Guarani e Kaiowá e, a partir das informações coletadas foi elaborado um livro intitulado “Animais medicinais na cultura Guarani e Kaiowá” para devolução à comunidade indígena e não-indígena. Para os experimentos *in vitro* e *in vivo* foram selecionadas as espécies *Apis mellifera* e *Cuniculus paca*. Como indicado pelos indígenas foram preparados o chá da abelha *Apis mellifera* (AmT) e o extrato etanólico da bile de *Cuniculus paca* (CpE) e avaliados quanto a suas atividades antioxidante e anti-hiperglicemiante. O AmT e o CpE demonstraram atividade antioxidante, *in vitro* e *in vivo*, capturando radicais livres, protegendo eritrócitos humanos da ação hemolítica de agente indutor oxidante, reduzindo a produção de malondialdeído tanto em eritrócitos humanos induzidos ao estresse oxidativo como em tecidos e órgãos de camundongos hiperglicêmicos. Adicionalmente o AmT e o CpE também apresentaram ação anti-hiperglicemiante *in vivo*, sendo capazes de normalizar a glicemia pós-prandial em camundongos normoglicêmicos submetidos à sobrecarga oral de glicose e, reduzir os níveis de glicose de camundongos hiperglicêmicos induzidos por dieta. Em conjunto, nossos dados registram a existência de conhecimento zoterápico indígena Guarani e Kaiowá e indicam a ação farmacológica antioxidante e anti-hiperglicemiante do chá da abelha *Apis mellifera* e do extrato etanólico da bile de *Cuniculus paca*. O registro em livro do conhecimento levantado, nas línguas portuguesa, guarani e inglesa, busca compartilhar conhecimentos entre diferentes culturas, consolidar a ideia da importância da manutenção cultural e abrir possibilidades de novos estudos.

Palavras chave: Zooterapia. Antioxidante. Hiperglicemia. Diabetes.

ABSTRACT

DA CUNHA, Janielle da Silva Melo. Federal University of Grande Dourados, June 2018. **"Animal-based medicinal treatments: traditional knowledge and pharmacological prospecting"**. Advisor: Prof.^a Dr.^a Kely de Picoli de Souza. Co-adviser: Marcos Antônio Soares.

The medicinal use of animals or products derived from them is a millenarian practice spread in diverse cultures, among them the indigenous one. However, data on zoo-therapy are still scarce, although animal bioactive molecules are promising sources for the development of new products and the treatment of various diseases. Thus, the objective of this research was to perform a survey of animals used for medicinal purposes in the Guarani and Kaiowá indigenous ethnicities of the state of Mato Grosso do Sul, Brazil, and to investigate the pharmacological potential of two species indicated for the treatment of diabetes. In this sense, interviews with indigenous university students of the Guarani and Kaiowá ethnicities were carried out and, based on the information collected, a book entitled "Medicinal animals in the Guarani and Kaiowá culture" was prepared for devolution to the communities indigenous and non-indigenous. For the in vitro and in vivo experiments the species *Apis mellifera* and *Cuniculus paca* were selected. As indicated by the Indians were prepared *Apis mellifera* bee tea (AmT) and the ethanolic extract of bile of *Cuniculus paca* (CpE) and evaluated for its antioxidant and antihyperglycaemic activities. AmT and CpE demonstrated antioxidant activity in vitro and in vivo, capturing free radicals, protecting human erythrocytes from the hemolytic action of oxidant inducing agent, reducing the production of malondialdehyde in both human erythrocytes induced by oxidative stress and in tissues and organs of mice hyperglycemia. In addition, AmT and CpE also showed antihyperglycemic action in vivo, being able to normalize postprandial glycemia in normoglycemic mice submitted to oral glucose overload and to reduce the glucose levels of hyperglycemic mice induced by diet. Together, our data record the existence of indigenous zoological knowledge of Guarani and Kaiowá and indicate the antioxidant and antihyperglycemic pharmacological action of the honey bee *Apis mellifera* and the ethanolic extract of the bile of *Cuniculus paca*. The register in knowledge book, in the Portuguese, Guarani and English languages, seeks to share knowledge among different cultures, consolidate the idea of the importance of cultural maintenance and open up possibilities for new studies.

Keywords: Zooterapia. Antioxidants. Hyperglycemia. Diabetes.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai Elio (*in memoriam*), que mesmo não tendo completado o ensino fundamental, sonhava com uma filha doutora, não medindo esforços para que eu continuasse meus estudos, e compreendendo todas as minhas ausências em datas tão importantes. Não estás em forma carnal neste mundo, mas tenho certeza que teu espírito festeja esta conquista!

AGRADECIMENTOS

O trabalho que se apresenta não teria sido possível sem a presença e o apoio de muitos que fizeram parte deste percurso. Por isso, aqui deixo o meu agradecimento a todos eles.

Primeiramente, agradecer a minha base: meu pai, minha mãe e meus irmãos, pelo carinho, ensinamentos de caráter e humildade e pela paciência quando precisei me ausentar do convívio familiar.

Agradeço ao meu companheiro e amigo de todas as horas Aldrin, que sempre me apoiou, encorajou e com muita paciência e amor soube entender todo meu estresse doutoral.

Agradeço a minha maior riqueza, minha filha Júlia, e a minha filha do coração, Jamily, por entenderem todas as minhas ausências nas tarefas, nas apresentações e reuniões escolares e nos almoços, quando eu estava realizando experimentos.

Agradecimento especial à minha orientadora, professora Kely, pela confiança depositada em mim, sempre me apoiando e orientando na execução deste projeto.

Agradeço ao professor Édson, por todos os ensinamentos, dedicação e cuidado com nosso grupo de pesquisa, possibilitando nosso crescimento e nossas conquistas.

Agradeço a todos os colegas e amigos do GEBBAM, que conheci durante os quatro anos de doutoramento, pela parceria nos trabalhos desenvolvidos, e a todos os meus amigos da vida.

Agradeço também a todos os membros da banca examinadora, pelos apontamentos e sugestões que enriqueceram este trabalho.

Agradeço a todos os acadêmicos indígenas da Faculdade Intercultural Indígena “Teko Arandu” por aceitarem e fornecerem informações fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Sumário

1. Introdução	8
2. Revisão bibliográfica	11
2.1. A zooterapia no Brasil.....	11
2.2. As comunidades indígenas Guarani e Kaiowá do MS	14
2.3 Estresse oxidativo e diabetes <i>mellitus</i>	18
3. Justificativa	27
4. Objetivos.....	28
4.1. Geral	28
4.2. Específicos.....	28
5. Referências.....	29
Anexos.....	37

Livro: Animais Medicinais na cultura Guarani e Kaiowá

Artigo 1: Atividade antioxidante, anti-hiperglicemiante, e atividade anti-diabética do Chá de abelhas *Apis mellifera*

Artigo 2: Toxicidade Aguda e atividade antioxidante e anti-hiperglicêmica da bile de *Cuniculus paca*

Apêndices

Artigo 1: Antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity of *Apis mellifera* bee tea

Autorizações

1. Introdução

Os recursos naturais envolvendo plantas e animais têm sido utilizados para tratamento de doenças por diferentes culturas desde a antiguidade (Alves e Alves, 2011; Souto et al.,2011; Cragg e Newman et al.,2013). Na sociedade moderna, o conhecimento medicinal tradicional constitui um elemento importante, pois muitos dos medicamentos disponíveis foram desenvolvidos a partir de compostos bioativos naturais tradicionalmente usados por várias culturas, inclusive indígenas (Cragg e Newman, 2013; Vijaykumar et al., 2015; Borah e Prasad, 2017).

Embora plantas e seus derivados sejam os elementos mais difundidos na medicina tradicional, os recursos animais também são relevantes para a saúde (Alves e Rosa, 2005; Costa-Neto, 2005; Borah e Prasad, 2017). A zooterapia pode ser definida como a cura de doenças humanas pelo uso de diferentes animais e seus derivados (Costa-Neto, 1999). O Brasil até o ano de 2010 registrou 326 animais indicados para o tratamento de diversas doenças (Costa-Neto, 2010; Borah e Prasad, 2017).

O estado de Mato Grosso do Sul (MS) tem a segunda maior população indígena do Brasil, incluindo as etnias Guarani e Kaiowá (IBGE, 2012). Sabe-se que o conhecimento sobre o uso de diferentes animais na medicina tradicional é geralmente transmitido oralmente de geração em geração (Borah e Prasad, 2017) e este conhecimento é por vezes perdido, já que muitas comunidades se apresentam em transformação socioeconômica e cultural (Alonso-Castro et al., 2011). Até o momento, evidencia-se na literatura apenas um registro sobre o

conhecimento zoterápico dessas etnias, o qual é produto desta pesquisa e encontra-se registrado nesta tese (Melo da Cunha et al., 2018).

Além da importância de registrar o conhecimento indígena zoterápico, ressaltamos a relevância de investigações clínico-farmacológicas como instrumentos para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas (Rodrigues e Carline, 2003), contribuindo para o tratamento de diversas doenças que afligem as sociedades, como a diabetes (Guariguata et al., 2014).

Diabetes *mellitus* é um distúrbio crônico e progressivo que resulta da incapacidade do organismo em produzir insulina suficiente ou utilizá-la eficientemente (OMS, 2016), e tem como principal característica a hiperglicemia, ou, níveis elevados de glicose no sangue (Back e Kaufman, 2012). Devido à sua natureza complexa e multifatorial, o diabetes afeta outros órgãos além do pâncreas, podendo levar à neuropatia, nefropatia e retinopatia, problemas comuns que surgem à medida que a doença progride (Natarajan et al., 2012; Hashimoto e Tanaka, 2016; Berry et al., 2018).

O número de diabéticos no mundo tem crescido vertiginosamente e atingido níveis de epidemia mundial (Cho et al, 2017), inclusive nas comunidades indígenas Guarani e Kaiowá (Freitas et al., 2016), evidenciando a relevância do desenvolvimento de novas terapias voltadas à prevenção e o tratamento da diabetes. Neste sentido, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de registrar animais utilizados para fins medicinais por indígenas das etnias Guarani e Kaiowá do MS, bem como investigar o potencial farmacológico de duas espécies de animais indicados para o tratamento do diabetes.

O trabalho apresentado a seguir está estruturado por breve revisão bibliográfica: A zooterapia no Brasil; Comunidades indígenas Guarani e Kaiowá

do MS; Estresse oxidativo e *diabetes mellitus*; seguida dos anexos que representam as produções desta pesquisa: livro com registro de conhecimento zoterápico Guarani e Kaiowá do MS, redigido em três línguas; e dois artigos científicos com as investigações farmacológicas de duas espécies animais (*Apis mellifera* e *Cuniculus paca*) indicadas por essas etnias para o tratamento de diabetes.

2. Revisão bibliográfica

2.1. A zooterapia no Brasil

Os animais constituem uma parte de nossa cultura e são utilizados de várias maneiras para atender a necessidades humanas (De Jonge e Ruud, 2005). Uma das formas de interação entre humanos e fauna, registrada nos documentos históricos, se refere ao uso medicinal de animais ou seus derivados para o tratamento de doenças (Lev 2000, 2003; Borah e Prasad, 2017). Neste sentido, a zooterapia é conhecida como o uso de animais para fins medicinais (Marques, 1994), que em outras palavras pode ser definida como a cura de doenças humanas pelo uso de medicamentos preparados a partir de diferentes animais e/ou subprodutos derivados de animais (Costa-Neto, 1999; Alves e Dias, 2010).

Documentos históricos indicam que o uso de animais medicinais no Brasil vem desde a época da colonização do país, como observado na obra de Piso, “História Natural do Brasil Ilustrada”, em que foi relatado 29 animais medicinais (Almeida 2005). Destacamos também outras importantes obras, desenvolvidas entre os séculos XVI e XIX que mencionam usos de animais medicinais, como de ilustres figuras da medicina Moquin-Tandon (1861) e Stephenson (1832) que empregaram o termo *medical zoology* (Almeida, 2010). No século XVII, os médicos portugueses Simão Pinheiro Morão (1618–1685) e João Ferreyra da Rosa (1659–1725) produziram tratados médicos com receituários de 22 e 19 espécies zooterapêuticas, respectivamente (Almeida, 2010).

Assim, ao longo dos séculos, animais ou partes destes têm sido amplamente usados na medicina tradicional brasileira e têm desempenhado um

significativo papel em práticas de tratamento e cura de doenças (Almeida 2005; Alves e Rosa 2006; Alves et al., 2007; Vijaykumar et al., 2015; Borah e Prasad, 2017).

Entretanto, somente a partir dos anos 80, estudos vêm demonstrando o conhecimento zoterápico de comunidades tradicionais em diferentes regiões do Brasil (Alves e Rosa, 2006). Esses estudos ainda são escassos quando comparados às pesquisas voltadas à etnobotânica (Quave et al., 2010; Alves e Souto, 2010; Costa-Neto e Alves, 2010). Mesmo assim, a riqueza da fauna e do etnoconhecimento brasileiro já permitiram o registro de 326 animais indicados para o tratamento de diversas doenças (Costa-Neto, 2010).

Os animais medicinais constituem uma parte integral da medicina tradicional brasileira e, em algumas cidades, os animais medicinais são comercializados por erveiros em mercados e feiras livres espalhados por todo o país (Alves e Dias, 2010).

A zooterapia não se restringe a utilização tradicional, mas estende-se à utilização pela indústria farmacêutica, que produz drogas com compostos bioativos derivados de animais (Alves e Rosa, 2005), por exemplo, fármacos baseados em peçonha de cobra jararaca para o controle de pressão arterial, xaropes a base de mel e própolis com função expectorante e cremes a base de apitoxinas voltados ao rejuvenescimento.

Evidencia-se, entretanto, a necessidade de estudos que comprovem a utilidade terapêutica dos recursos zoterápicos já descritos para uso medicinal, como por exemplo, o mamífero *Cuniculus paca* cuja bile é indicada para tratamento de diversas doenças, dentre elas a diabetes (Apaza et al., 2003; Pinto et al., 2003; Rodrigues, 2006; Barros et al., 2012) e que assim como para a

maioria das espécies zoterápicas não existe pesquisas sobre seu potencial clínico-farmacológico (Pieroni et al., 2002).

Portanto, a escassez de trabalhos sobre zooterapia no Brasil, como ocorre em todo o mundo, tem contribuído para que os recursos zoterápicos venham sendo subestimados no país (Alves e Alves, 2011; Souto et al., 2011). Outro fator importante a se considerar nos estudos zoterápicos é que algumas espécies animais comercializadas para uso medicinal estão registradas em livros e listas de espécies raras ou ameaçadas (Alves, 2009), uma discussão que pode ser vista de duas maneiras com um viés entre elas: a conservação da biodiversidade e a perda do conhecimento tradicional.

Neste ínterim, salienta-se que o Brasil é reconhecido por sua biodiversidade, possuindo uma riqueza biológica que se torna ainda mais importante quando associada à sua sociodiversidade, que envolve vários povos e comunidades, com visões, saberes e práticas culturais próprias (Brasil, 2009). Espera-se que os conhecimentos que as sociedades tradicionais possuem sobre o comportamento, hábitos alimentares, reprodução e propriedades terapêuticas de animais possam ser aproveitados tecnicamente para acumular informação zoológica e propagar ensaios de manejo e uso sustentável das espécies (Diegues, 2000).

O conhecimento zoterápico tradicional é o resultado de gerações de saberes acumulados, experimentação e troca de informação (Lima et al., 2014), geralmente transmitido oralmente de geração em geração (Borah e Prasad, 2017), e este conhecimento é por vezes perdido, já que muitas comunidades estão em transformações socioeconômicas e culturais (Alonso-Castro et al., 2011).

2.2. As comunidades indígenas Guarani e Kaiowá do MS

Os recursos zoterápicos tradicionalmente usados por várias culturas indígenas são o resultado da agregação da biodiversidade faunística brasileira associada à sua sociodiversidade, que envolve vários povos e comunidades no Brasil, com rituais, cultura e cosmovisões próprias (Brasil, 2009; Cragg e Newman, 2013; Borah e Prasad, 2017).

O tamanho da população indígena no Brasil, em 2010, correspondente a aproximadamente a 0,47% da população do país, foi estimado em cerca de 896.917 pessoas (Figura 1), sendo que 324.834 habitam em cidades e 572.083 em áreas rurais (IBGE, 2010).



Figura 1. Distribuição total da população indígena no Brasil.
Fonte: IBGE, 2010.

O Estado de Mato Grosso do Sul possui uma população indígena estimada em cerca de 77 mil pessoas (IBGE, 2010), sendo a segunda maior população indígena do país (Tabela 1), composta pelas etnias: Terena, Kadiwéu, Guató, Ofaié, Kiquinau, Camba, Atikum, Kaiowá e Guarani. Sendo as etnias Guaranis e Kaiowás a maior delas em números de habitantes (Nascimento e Aguilera-Urquiza et al., 2010).

Tabela 1. Distribuição da população indígena no Estado do Mato Grosso do Sul. Fonte: IBGE, 2010.

Municípios com as maiores populações indígenas do País, por situação do domicílio Mato Grosso do Sul - 2010									
	Total			Urbano			Rural		
	Código	Município	POP	Código	Município	POP	Código	Município	POP
1	5000609	Amambai	7.225	5002704	Campo Grande	5.657	5000609	Amambai	7.158
2	5003702	Dourados	6.830	5001102	Aquidauana	1.405	5003702	Dourados	6.142
3	5005608	Miranda	6.475	5000708	Anastácio	1.249	5005608	Miranda	6.140
4	5002704	Campo Grande	5.898	5007901	Sidrolândia	1.203	5004502	Itaporã	5.059
5	5001102	Aquidauana	5.714	5003702	Dourados	688	5006358	Paranhos	4.378
6	5004502	Itaporã	5.095	5000906	Antônio João	576	5001102	Aquidauana	4.309
7	5006358	Paranhos	4.404	5005608	Miranda	335	5002407	Caarapó	4.277
8	5002407	Caarapó	4.370	5005806	Nioaque	230	5004809	Japorã	3.816
9	5004809	Japorã	3.822	5002209	Bonito	207	5007950	Tacuru	3.611
10	5007950	Tacuru	3.637	5002159	Bodoquena	198	5003157	Coronel Sapucaia	2.572

POP = população

Os Guarani que vivem no Brasil dividem-se em três grupos: os Mbya (distribuídos em regiões Sul e Sudeste, principalmente São Paulo e Santa Catarina), Nandéva (distribuídos em Mato Grosso do Sul, também no Rio Grande do Sul, em Santa Catarina, Paraná e em São Paulo) e Kaiowá (distribuídos no

estado de Mato Grosso do Sul) que possuem particularidades tanto no dialeto, quanto na cultura material e práticas rituais (Chamorro e Combès, 2015).

As populações indígenas Guarani e Kaiowá no MS são marcadas por um processo histórico de contato inter-étnico agressivo e violento, no qual os povos indígenas foram constantemente desafiados a moldar e remoldar sua organização social, a construir e reconstruir sua forma de vida, desenvolvendo complexas estratégias, alternando momentos de confrontos diretos, permeados por enorme gama de violência, com negociações, trocas e alianças (Cavalcante, 2013).

Historicamente, os Kaiowá e Guarani ocupavam um amplo território, na região sul do atual estado de Mato Grosso do Sul, situado entre o rio Apa (Bela Vista), Serra de Maracaju, rio Brilhante, rio Ivinhema, rio Paraná, rio Iguatemi e fronteira com o Paraguai (Vieira e Nascimento, 2016). Os Guaranis e Kaiowá encontram-se hoje em oito reservas, totalizando 22 Terras Indígenas, dentre as quais se destacam as Terras Indígenas de Dourados, Amambaí e Caarapó que unidas possuem a maior densidade demográfica por hectares (Nascimento e Aguilera-Urquiza et al., 2010).

Em termos legais, a demarcação das oito reservas foi possível a partir da lei nº 725 de 1915, que permitia a legalização da posse de terras na área sob concessão da Companhia Matte Laranjeira, por outro lado, deixou as terras livres para serem requeridas por particulares, disputas que se estendem aos dias atuais (Cavalcante, 2013; Chamorro e Combès, 2015).

Nas décadas seguintes, essas reservas se constituíram em espaço de confinamento das comunidades que perderam suas terras tradicionais (Pereira, 2012). As terras reconhecidas ou em processo de reconhecimento, como de

ocupação tradicional por comunidades Kaiowá e Guarani em Mato Grosso do Sul, encontram-se fortemente impactadas pela ocupação agropastoril. Isto dificulta a apropriação sustentável de recursos essenciais à reprodução física e cultural dos indígenas (Brand, 1993; 1997; Pereira, 2012).

No início da ocupação agropastoril foi frequente a dispersão de famílias indígenas de várias comunidades por fazendas em fase de instalação, concluída a fundação das propriedades, a mão-de-obra indígena se tornou dispensável, e a maior parte das famílias que viviam nas fazendas tinham apenas dois destinos possíveis: se recolher nas reservas demarcadas ou passar a morar na periferia dos núcleos urbanos que surgiram na região (Brand, 1997; Pereira, 2012).

As dificuldades em produzir meios de subsistência na reserva, com espaço para cultivo de roças e áreas de caça e pesca insuficientes para toda a população, impôs o trabalho dos homens adultos e jovens durante meses nas fazendas e usinas de álcool (Pereira, 2012).

Assim, entre as alterações marcantes nas comunidades indígenas Guarani e Kaiowá do MS, verificamos o grande adensamento populacional, com a deterioração de sua organização socioeconômica, as mudanças de hábitos alimentares e a degradação do ecossistema, que se manifesta no total desaparecimento das matas nativas e dos animais silvestres e no conseqüente comprometimento das atividades de subsistência desses indígenas (Oliveira et al., 2011).

Muitos dos problemas presentes nas aldeias Guarani e Kaiowá são reflexos desse processo histórico desfavorável, onde surgem novas e preocupantes dificuldades, como o alcoolismo, alto índice de desnutrição,

prostituição, tuberculose, suicídio e diabetes (Nascimento e Aguilera-Urquiza et al., 2010).

Para o povo Guarani e Kaiowá, seu território tradicional é conhecido como Tekoha que significa espaço, lugar (ha), possível para o modo de ser e de viver (teko), dessa forma, o tekoha não está unicamente ligado ao território, estabelece relação também com a estrutura social e política do povo Guarani e Kaiowá (Nascimento e Aguilera-Urquiza et al., 2010). Assim, todo esse contexto de transformação territorial e social que acompanha as mudanças culturais afetam diretamente o conhecimento tradicional secular sobre o uso de animais nas comunidades indígenas (Diegues et al., 2000).

2.3 Estresse oxidativo e diabetes mellitus

O oxigênio, além de ser essencial para a sobrevivência de organismos aeróbios, atua comoceptor final de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial para a produção de energia na forma de adenosina trifosfato (Bhattacharyya et al., 2014). A cadeia respiratória mitocondrial é constituída de complexos enzimáticos I – NADH–ubiquinona oxidorreductase, II– succinato desidrogenase, III – ubiquinol-citocromo C oxidorreductase e IV – citocromo C oxidase, que atuam em conjunto com a coenzima Q e a proteína citocromo C para reduzir o O₂ tetravalentemente para a formação de H₂O (Bhattacharyya et al., 2014).

Nesse processo são formadas espécies reativas como as de oxigênio (EROs), que também podem ser geradas na presença de fatores extrínsecos como fumaça de cigarro, ionizantes e radiações ultravioletas, pesticidas e ozônio (Pisoschi e Pop, 2015). Essas EROs são classificadas em radicalares, como o

ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e radical hidroxila (OH^\bullet) e não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Lushchak, 2014), por exemplo.

Em quantidades adequadas, as EROs atuam como sinalizadores, por exemplo, do sistema imunológico, e estão envolvidas tanto na regulação de vias metabólicas do organismo (Lushchak, 2014), como na regulação da proliferação celular, expressão gênica e apoptose (Pisoschi e Pop, 2015). No entanto, em excesso, as EROs são capazes de reagir com biomoléculas, e causar danos ao organismo (Hocsak et al., 2017). O desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade do organismo de neutralizar o excesso dessas substâncias através do sistema de proteção antioxidante culmina no estresse oxidativo (Lampson et al., 2017).

O estresse oxidativo, por sua vez, determina modificações na estrutura e função de proteínas, ácidos nucleicos e lipídios (Pisoschi e Pop, 2015), com consequente perda de suas funções biológicas (Pisoschi e Pop, 2015; Hocsak et al., 2017).

As EROs podem causar fragmentação da cadeia peptídica, alterar a carga elétrica, promover a ligação cruzada de proteínas e a oxidação de aminoácidos específicos e, assim, levar a um aumento da susceptibilidade à proteólise, causando mudanças conformacionais, desdobramento e degradação das proteínas, com consequente perda da função biológica (Chiscia et al., 2017). No caso de enzima, quando oxidada, pode tornar-se inativa. Os danos causados ao DNA são considerados os mais graves. As EROs são capazes de oxidar proteínas, que subsequentemente interagem com cadeias laterais de aminoácidos, causando danos aos ácidos nucleicos, na medida em que pode provocar reticulação DNA-proteína, quebra de cadeia e alteração na purina e

estrutura de bases de pirimidina, tendo como resultados mutações no DNA, o que, por sua vez, pode originar a oncogênese (Pisoschi e Pop, 2015).

Os lipídios também podem ser oxidados por EROs, sendo os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) constituintes da membrana celular, ácido araquidônico (ω -6) e ácido docosa-hexaenóico (ω -3), os mais susceptíveis à oxidação (Pisoschi e Pop, 2015). Durante esse processo, a oxidação de ω -3 e ω -6 forma o malondialdeído (MDA) (Albert et al., 2013), que é um reconhecido marcador de peroxidação lipídica (Pisoschi e Pop, 2015). Uma vez formado, o MDA pode ser enzimaticamente metabolizado, ou pode reagir com proteínas celulares e teciduais, juntamente com o DNA para formar complexos que resultam em danos biomoleculares (Hocsak et al., 2017).

Neste contexto, o estresse oxidativo está relacionado ao envelhecimento precoce (Waldner et al., 2018) e em diversas doenças como, as inflamatórias (Monn et al., 2018), renais (Cuevas et al., 2013), cardiovasculares (Csányi e Miller et al., 2014), neurodegenerativas (Pisoschi e Pop, 2015), câncer (Rocha et al., 2018) e diabetes mellitus (Berry et al., 2018).

Investigações sobre o potencial antioxidante de produtos naturais tornou-se alvo de estudos (Campos et al., 2016; Rocha et al., 2018; Melo da Cunha et al., 2018). Caracteriza-se, portanto, como antioxidante qualquer composto que, quando presente, é capaz de atrasar ou evitar a oxidação causada por um substrato oxidável, (Kasote et al., 2015). Os antioxidantes podem ser de duas origens: endógena, que compreende enzimas e componentes não enzimáticos, ou exógena, quando adquiridos através da dieta (Pisoschi e Pop, 2015).

Os antioxidantes endógenos enzimáticos são a primeira linha de defesa antioxidante dos organismos, na qual diferentes enzimas e produtos não

enzimáticos desempenham papéis-chave na manutenção do balanço redox (Baynes, 2010; Kasote et al., 2015).

Nesta perspectiva, observa-se que a superóxido dismutase (SOD) é a principal enzima a atuar no sistema antioxidante endógeno (Baynes, 2010; Pisoschi e Pop, 2015). Três tipos dessa enzima são encontrados nos tecidos de mamíferos. A SOD1 utiliza como cofator o cobre (Cu) e zinco (Zn) e encontra-se no citosol, a SOD2 utiliza o manganês (Mn) e encontra-se na matriz mitocondrial e a SOD3 utiliza Cu e Zn, sendo extracelular. A SOD atua dismutando o $O_2^{\bullet-}$ e o transformando em H_2O_2 . A catalase (CAT) é expressa em elevadas concentrações no fígado e eritrócitos, e reduz o H_2O_2 a H_2O (Pisoschi e Pop, 2015). Já a glutathione peroxidase (GPx) utiliza o selênio como cofator (Galant et al., 2011) e catalisa a redução tanto de H_2O_2 , quanto de OH^{\bullet} a H_2O (Pisoschi e Pop, 2015).

Já como fatores antioxidantes não enzimáticos tem-se a glutathione (GSH) que é sintetizada a partir da combinação de glutamina, glicina e cisteína (Kasote et al., 2015). Outro exemplo é a ubiquinona, que atua como transportador de elétrons e de íons de H^+ nas mitocôndrias (Baynes, 2010) tornando-se essencial para respiração celular, além de inibir a peroxidação lipídica (Pisoschi e Pop, 2015).

Os antioxidantes exógenos podem ser ainda sintéticos ou naturais. Os sintéticos são idênticos aos naturais, no entanto sintetizados industrialmente. São compostos puros, bem caracterizados e relativamente acessíveis financeiramente. Já os naturais são produzidos por microrganismos, fungos, animais e por plantas (Carocho e Ferreira, 2013).

Ainda os antioxidantes sintéticos, como o hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA) e terc-butil hidroquinona (TBHQ) são utilizados nas indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas para retardar ou prevenir a deterioração oxidativa, no entanto, estes antioxidantes estão relacionados a riscos para a saúde (Li et al., 2016).

Assim, compostos naturais com propriedades antioxidantes e anti-hiperglicêmicas podem ser uma alternativa terapêutica para o tratamento de diabetes, pois podem reduzir o estresse oxidativo e as complicações diabéticas (Baynes, 1991; El-Sayed, 2011; Umeno et al., 2016; Melo da Cunha et al., 2018).

Verifica-se neste sentido, que a prevalência mundial de diabetes foi estimada em 451 milhões de pessoas em 2017, sendo previsto um crescimento para 693 milhões de pessoas até 2045 (Cho et al., 2018). Diabetes *mellitus* é um distúrbio crônico e progressivo que resulta da incapacidade do organismo em produzir insulina suficiente ou utilizá-la eficientemente (OMS, 2016) onde a principal característica da doença é a hiperglicemia (Voltar e Kaufman, 2012).

Segundo a Associação Americana de Diabetes (ADA, 2010), a classificação de DM baseia-se na etiologia, sendo dois os principais tipos de diabetes:

- Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DM tipo 1): presente em 5 a 10% dos casos, resultante da destruição das células beta pancreáticas com consequente deficiência de insulina. O início dos sinais e sintomas é repentino, e muito frequentemente ocorrem ainda na infância ou adolescência. Muitos pacientes apresentam sintomas severos como hiperglicemia intensa e cetoacidose. Na maioria dos casos, a destruição das células beta é mediada por autoimunidade, porém, há ainda as formas idiopáticas de DM tipo 1, onde não são observadas

evidências de processo autoimune. A destruição autoimune das células beta pancreáticas está relacionada à predisposição genética e fatores ambientais ainda não definidos (ADA, 2010).

- Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM tipo 2): presente em 90 a 95% dos casos, engloba indivíduos que apresentam resistência à insulina e, habitualmente, deficiência de insulina. Normalmente, os pacientes com DM tipo 2 não dependem de insulina exógena para sobreviver, mas podem precisar de tratamento com insulina para o controle metabólico adequado. A etiologia específica para o DM tipo 2 ainda não está bem esclarecida, mas sabe-se que não ocorre processo autoimune. Muitos pacientes com esse tipo de DM são obesos ou possuem excesso de gordura distribuída na região abdominal, fatores que podem causar resistência à insulina (ADA, 2010).

A glicose é um carboidrato do tipo monossacarídeo, usado como fonte de energia primária pela maior parte dos organismos, além de fazer parte de importantes vias metabólicas. No metabolismo dos seres humanos, a glicose é utilizada como fonte de energia através do processo de respiração celular. Nesse processo, moléculas de glicose são degradadas em uma reação química que resulta em gás carbônico (CO₂) e água (H₂O) com liberação de energia, que será armazenada por moléculas de ATP (adenosina trifosfato) para ser posteriormente utilizada (Baynes, 2010).

A regulação da glicose no corpo é feita pelo pâncreas, através da ação conjunta dos hormônios insulina e glucagon. A insulina é produzida pelas células-beta do pâncreas e é responsável pela diminuição dos níveis de glicose no sangue. Esse hormônio atua facilitando a absorção da glicose pelas células dos músculos esqueléticos, do fígado e do tecido adiposo. Nesses tecidos, a

insulina ainda promove a união de moléculas de glicose para a formação de glicogênio, constituindo uma reserva energética. Já o glucagon é produzido pelas células-alfa do pâncreas e realiza o processo inverso da insulina, aumentando os níveis de glicose no sangue. Isso ocorre pela estimulação da quebra do glicogênio em moléculas de glicose (Voltar e Kaufman, 2012; Berry et al., 2018)

No diabetes tipo 2 a maioria dos indivíduos apresentam redução da sensibilidade dos tecidos-alvo ao efeito da insulina, descrita como resistência a este tipo de hormônio. Assim, a insulina não consegue interagir com suas células-alvo, dificultando a captação celular de glicose e deflagrando várias respostas intracelulares, incluindo ativação ou inibição de enzimas sensíveis a este hormônio nas mitocôndrias, síntese proteica e síntese de DNA. Os efeitos dos níveis de glicose plasmática persistentemente elevados nas diferentes partes do corpo variam de acordo com os tipos de células (Back, 2012)

Assim, a falta de controle da glicemia está associada ao desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares comumente presentes no quadro diabético (Baynes, 2010). O estresse oxidativo, a glicação de proteínas e a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs), são mecanismos importantes nessas complicações presentes no diabetes.

Na formação dos AGEs, os níveis elevados de glicose começam a formar adutos covalentes com proteínas plasmáticas através de um processo não enzimático conhecido como glicação (Kiho et al., 2004). A glicação de proteínas ocorre comumente em reações não enzimáticas, denominadas reação de Maillard, ocorrendo entre grupos amino livres de proteínas e grupos carbonila de

açúcares redutores como glicose, frutose, pentoses, galactose, manose e xilulose (Monnier et al., 1996; Singh et al., 2014).

As proteínas glicadas (Produtos de Amadori) tornam-se substratos para a formação de AGEs e, também, geram composto com grupos carbonil altamente tóxicos como o metilglioxal e glioxal. Na formação de AGEs, espécies reativas de oxigênio, podem ser geradas e aumentar o estresse oxidativo, levando a danos estruturais e funcionais de macromoléculas (Kiho et al., 2004). Essa complexa cascata de eventos que leva ao mau funcionamento celular em resposta a altos níveis de glicose e estresse oxidativo não é totalmente compreendida (Baynes, 2010).

Os povos indígenas em todo o mundo são desproporcionalmente afetados pela diabetes e suas complicações (Crowshoe et al., 2018). A incidência global de diabetes em populações indígenas está ligada a um complexo de fatores como a industrialização e o colonialismo que de alguma maneira alteraram as formas de subsistências dos povos indígenas, causando sérios impactos nos seus hábitos alimentares e modo de vida, acarretando em problemas de saúde como a diabetes (Diegues, 1996; Azanha, 2002; Cunningham e Chapter, 2009; Freitas et al., 2016).

Entre os indígenas no Brasil, a diabetes era desconhecida até a década de 1970 (Coimbra et al., 2013). O primeiro estudo que investigou a ocorrência de diabetes ocorreu em 1975 com indígenas do Norte do Pará, não sendo encontrado nenhum caso (Tavares et al., 1999). Em 1977, os indígenas do Norte do Amapá foram avaliados, e 1% dos indivíduos apresentou diabetes (Vieira-Filho, 1977).

Na aldeia Jaguapiru, localizada no Município de Dourados, (MS), um estudo realizado entre 2007 e 2008 detectou que 6,8% das mulheres Guarani e Kaiowá estavam com diabetes (Oliveira et al., 2011). Outra avaliação realizada na mesma aldeia, entre 2009 e 2011, observou que a prevalência de diabetes, no mesmo sexo, elevou-se para 7,8% (Oliveira et al., 2014).

Recentemente, estudos realizados em algumas aldeias de etnia Guarani e Kaiowá indicaram que a prevalência de diabetes superou a média indígena nacional de 2,6% (Freitas et al., 2016). Outro fator importante é a questão cultural, uma vez que a glicemia foi maior entre indivíduos que possuíam um contato mais intenso com a população não indígena. Assim, a complexidade socioambiental traz uma nova perspectiva da identidade dos povos indígenas, enfrentando a imposição do pensar externo sobre seu próprio ser nas etnociências, no conhecimento e nos processos de bioprospecção (Leff, 2001; 2010).

3. Justificativa

Embora o estado de Mato Grosso do Sul possua uma rica biodiversidade faunística, e a segunda maior população indígena do Brasil, o registro do conhecimento tradicional zoterápico Guarani e Kaiowá e, pesquisas sobre o potencial clínico-farmacológico sobre animais medicinais não são descritos na literatura. Torna-se, portanto, de grande relevância investigações que contribuam para a manutenção cultural zoterápica e a caracterização do seu potencial farmacológico, contribuindo assim para a conservação da biodiversidade e abrindo perspectivas para futuros estudos de desenvolvimento de novos fármacos.

4. Objetivos

4.1. Geral

Realizar o registro de alguns animais que são utilizados para fins medicinais por indígenas Guarani e Kaiowá do estado do MS e, investigar o potencial farmacológico de duas espécies indicadas para o tratamento de diabetes: a abelha *Apis mellifera* e o mamífero *Cuniculus paca*.

4.2. Específicos

- Investigar e registrar animais usados na medicina tradicional pelos indígenas Guarani e Kaiowá do estado de Mato Grosso do Sul;
- Determinar a composição química do chá da abelha *Apis mellifera* (AmT).
- Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* e *in vivo* do AmT e do extrato biliar do *Cuniculus paca* (CpE).
- Investigar a ação anti-hiperglicemiante do AmT e do CpE em camundongos normoglicêmicos e hiperglicêmicos induzidos por dieta.
- Investigar a toxicidade aguda do CpE.

5. Referências

- ADA - American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2010;33 (Suppl 1):S62-S69. doi: 10.2337/dc10-S062.
- Albert BB, Cameron-Smith D, Hofman PL, Cutfield WS. Oxidation of Marine Omega-3 Supplements and Human Health. *BioMed Research International*. 2013;2013:464921. doi: 10.1155/2013/464921.
- Almeida AV. 2005. Prescrições zoterápicas indígenas brasileiras nas obras de Guilherme Piso (1611–1679). In: A.G.C. Alves, R.F.P. Lucena & U.P. Albuquerque (eds.), *Atualidades em Etnobiologia e Etnoecologia*. Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia, NUPEEA, Recife, p. 47–60.
- Almeida AV. 2010. A zooterapia adotada pelos médicos Simão Pinheiro Morão (c. 1618–1685) e João Ferreyra da Rosa (c.1659–1725) em Pernambuco no final do século XVII. In: E.M. Costa-Neto & R.R.N. Alves (eds), *Zooterapia: os animais na medicina popular brasileira*. NUPEEA, Recife, p. 55–74.
- Almeida CFCBR, Albuquerque UP. Uso de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): Um estudo de caso. *Interciência*, v. 27, 2002.
- Alonso-Castro AJ, Carranza-Alvarez C, Maldonado-Miranda JJ, Jacobo-Salcedo MDR, Quezada-Rivera, Lorenzo-Marquez H, Figueroa-Zuniga LA, Fernandez-Galicia C, Rios-Reyes NA, de Leon-Rubio MA, Rodriguez-Gallegos V, Medellin-Milan P. Zootherapeutic in Aquismon, San Luis Potosi, Mexico. *J Ethnopharmacol*. 2011;138:233–237. doi: 10.1016/j.jep.2011.09.020.
- Alves RR, Dias TLP. Uso de invertebrados na medicina popular no Brasil e suas implicações para a conservação. *Tropical Conservation Science*, 2010. Vol. 3(2): 159-174p.
- Alves RRN, Alves HN. The faunal drugstore : Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2011;7(1):9. doi: 10.1186/1746-4269-7-9.
- Alves RRN, Alves HN. The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2011, 7:9.
- Alves RRN, Rosa IL. From cnidarians to mammals: The use of animals as remedies in fishing communities in NE Brazil. 2006. *Journal of Ethnopharmacology*. V; 107:2(259-276) Doi:10.1016/j.jep.2006.03.007.

- Alves RRN, Rosa IL. Why study the use of animal products in traditional medicines? *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 1, p.1-5, 2005.
- Alves RRN, Souto WMS. 2010c. Desafios e dificuldades associadas às pesquisas etnozoológicas no Brasil. In: R.R.N. Alves, W.M.S. Souto & J.S. Mourão (eds), *A Etnozoologia no Brasil: importância, status atual e perspectivas*. NUPEEA, Recife, p. 57–66.
- Alves RRN. Fauna used in popular medicine in Northeast Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2009. v. 5, p. 1.
- Apaza, L. Godoy, R. Wilkie, D. Byron, E. Huanca, T. Leonard, WR. Vadez, V. 2003. Markets and the use of wild animals for traditional medicine: A case study among the Tsimane' Amerindians of the Bolivian rainforest. *Journal of Ethnobiology*, 23, 47-64.
- Azanha, G. Etnodesenvolvimento, mercado e mecanismos de fomento: possibilidades de desenvolvimento sustentado para sociedades indígenas no Brasil. In: LIMA, Antonio Carlos de S.; BARROSO-HOFFMANN, Maria. (Orgs.). *Etnodesenvolvimento e políticas públicas: bases para uma nova política indigenista*. Rio de Janeiro: Contracapa Livraria /LACED, 2002, p.29-37.
- Back SH, Kaufman RJ. Endoplasmic Reticulum Stress and Type 2 Diabetes. *Annual review of biochemistry*. 2012;81:767-793. doi:10.1146/annurev-biochem-072909-095555.
- Barbosa KBF. Costa, N M B. Alfenas, R C G. De Paula, S O. Minim, V P R. & Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, 23(4), 629-643.
- Barros FB. Varela SAM. Pereira HM. Vicente L. 2012. Medicinal use of fauna by a traditional community in the Brazilian Amazonia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 8:37 doi: 10.1186/1746-4269-8-37.
- Baynes JW, Dominiczak MH. *Bioquímica Médica*. Elsevier Brasil, 2010 - 653 páginas, 3ª Ed.
- Baynes, JW. Role of Oxidative Stress in Development of Complications in Diabetes. *Diabetes* 1991 (40): 405-412. doi: 10.2337/diab.40.4.405.
- Berry C, Lal M, Binukumar BK. Crosstalk Between the Unfolded Protein Response, MicroRNAs, and Insulin Signaling Pathways: In Search of Biomarkers for the Diagnosis and Treatment of Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9: 210. Published online 2018 May 2. doi: 10.3389/fendo.2018.00210.
- Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal

Diseases. Physiological Reviews. 2014;94(2):329-354.
doi:10.1152/physrev.00040.2012.

Borah MP, Prasad SB. Ethnozoological study of animals based medicine used by traditional healers and indigenous inhabitants in the adjoining areas of Gibbon Wildlife Sanctuary, Assam, India. *J Ethnobiol Ethnomed.* 2017;13(1):1-13. doi:10.1186/s13002-017-0167-6.

Brand AJ. O confinamento e seu impacto sobre os Pai-Kaiowá. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em História da Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre. 1993.

_____. O impacto da perda da terra sobre a tradição kaiowá/guarani: os difíceis caminhos da palavra. Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em História da Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre. 1997.

Brasil Ministério da Saúde. Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília, 136 p., 2009.

Campos JF, de Castro DT, Damião MJ, Vieira Torquato HF, Paredes-Gamero EJ, Carollo CA, Estevinho LM. et al.,. The Chemical Profile of Senna velutina Leaves and Their Antioxidant and Cytotoxic Effects. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:8405957. Epub 2016 Oct 10.

Carocho M, Ferreira IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol.* 2013;51:15–25.

Cavalcante TLV. (2013). Colonialismo, território e territorialidade: a luta pela terra dos Guarani e Kaiowá em Mato Grosso do Sul. Tese (Doutorado em História) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Letras, Assis/SP.

Chamorro G, Combès I (orgs). Povos indígenas em Mato Grosso do Sul: história, cultura e transformações sociais. Dourados, MS: Ed. UFGD,2015.

Chiscia E, Giorgia M, Zanfrinia E, Testaseccaa A, Brambillaa E, Cintia A, Farina L. Simultaneous overexpression of human E5NT and ENTPD1 protects porcine endothelial cells against H2O2-induced oxidative stress and cytotoxicity in vitro. *Free Radical Biology and Medicine* 108 (2017) 320–333.

Cho NH, Shaw JE. Karuranga, S. Huang, Y. da Rocha Fernandes, JD. Ohlrogge, AW. Malanda, B. 2018. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice.*.. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.

- Coimbra CE, Santos RV, Welch JR, et al. The First National Survey of Indigenous People's Health and Nutrition in Brazil: rationale, methodology, and overview of results. *BMC Public Health*. 2013;13:52. doi:10.1186/1471-2458-13-52.
- Costa-Neto EM, Alves RRN. 2010a. Estado da arte da zooterapia popular no Brasil. In: E.M. Costa-Neto & R.R.N. Alves (eds), *Zooterapia: os animais na medicina popular brasileira*. NUPEEA, Recife, p. 13–54.
- Costa-Neto EM, Alves RRN. *Zooterapia: Os Animais na Medicina Popular Brasileira*. 1. Recife, PE, Brazil: NUPEEA; 2010.
- Costa-Neto EM. Animal-based medicines: biological prospection and the sustainable use of zootherapeutic resources. *Annals Acad Bras Cienc*. 2005;77:33–43. doi: 10.1590/S0001-37652005000100004.
- Costa-Neto EM. Healing with animals in Feira de Santana city. Bahia Brazil *J. Ethnopharmacol*. 1999;65:225–230. doi: 10.1016/S0378-8741(98)00158-5
- Crag GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drugs leads. *Biochemica et Biophysica Acta*. 2013;180:3670–3695. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.02.008
- Crowshoe L, Dannenbaum D, Green M, Henderson R, Hayward MN, Toth E. Can Type 2 Diabetes and Indigenous Peoples. *J Diabetes*. 2018 Apr;42 Suppl 1:S296-S306. doi: 10.1016/j.jcjd.2017.10.022.
- Csányi G, Miller FJ. Oxidative Stress in Cardiovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014;15(4):6002-6008. doi:10.3390/ijms15046002.
- Cuevas, S.; Villar, V.A.; Jose, P.A.; Armando, I. Renal dopamine receptors, oxidative stress, and hypertension. *Int. J. Mol. Sci*. 2013, 14, 17553–17572.
- Cunningham M. Chapter V: Health. In *United Nations, Permanent Forum on Indigenous Issues, State of the world's Indigenous peoples*. New York: United Nations, 2009:156–87.
- De Jonge FH, R VDB. 2005. *The Human-Animal Relationship: forever and a day*. Book: Royal Van Gorcum, Assen.
- Diegues Ca. *Etnoconservação: novos rumos para a proteção da natureza nos trópicos*. 2ª edição - São Paulo: NUPAUB-USP: Hucitec: Annablume, 2000.
- Diegues, AC. Arruda, RSV. Silva, VCF. Figols, FAB. Andrade, D. *Os Saberes Tradicionais E A Biodiversidade No Brasil*. 2000. Ministério do Meio

Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Cocio-Coordenadoria da Biodiversidade. Nupaub-Núcleo de Pesquisas Sobre Populações Humanas e Áreas Úmidas Brasileiras—Universidade de São Paulo.

El-Sayed MI. Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *J Ethnopharmacol* 2011; 137: 643-651.

Freitas GA, Souza, MCC, Lima RC. Prevalência de diabetes mellitus e fatores associados em mulheres indígenas do Município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública* [online]. 2016, vol.32, n.8 . Acesso em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2016000805010&lng=en&nrm=iso.ISSN 1678-4464.

Galant A, Preussm ML, Cameron JC, Jez JM. Plant glutathione biosynthesis: diversity in biochemical regulation and reaction products. *Front. Plant Sci.* 2011;2:45.

Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, BeagleJ y, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*, Volume 103, Issue 2 , 137 – 149.

Hashimoto N, Tanaka T. Role of miRNAs in the pathogenesis and susceptibility of diabetes mellitus. *J Hum Genet* (2017) 62 (2): 141–50.10.1038 / jhg.2016.150.

Hocsaka E, Szaboa V, Kalmana N, Antusa C, Cseha A, Sumegia K, Erosa K, et al.,. PARP inhibition protects mitochondria and reduces ROS production via PARP-1-ATF4-MKP-1-MAPK retrograde pathway. *Free Radical Biology and Medicine* 108 (2017) 770–784.

IBGE - Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística). Os indígenas no Censo Demográfico 2010. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. Disponível em: https://ww2.ibge.gov.br/indigenas/indigena_censo2010.pdf Acesso em 28/05/2018.

Kasote DM, Katyare SS, Hegde MV, Bae H. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences.* 2015;11(8):982-991. doi:10.7150/ijbs.12096.

Kiho T. Usui S. Hirano K. Aizawa k. Inakuma T. 2004. Tomato Paste Fraction Inhibiting the Formation of Advanced Glycation End-products. *Journal Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* v.68. 1.200-205 doi:10.1271/bbb.68.200.

- Lampson MF, SarahCahill-S Geng L, Dub J, Brooksc G, MeiLic J. Aging-associated metabolic disorder induces Nox2 activation and oxidative damage of endothelial function. *Free Radical Biology and Medicine*, Volume 108 July 2017, Pages 940-951. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.05.008>.
- Leff E. Pensar a complexidade ambiental. In: LEFF, E. (coord.). *A complexidade ambiental*. 2ª Ed. São Paulo: Editora Cortez. 2010.
- Leff E. *Saber ambiental: sustentabilidade, racionalidade, complexidade e poder*. Trad. L.M.E. Orth. Petrópolis: Vozes, 2001.
- Lev E. 2000. The medicinal uses of animals and their products in the medieval Levant. *Harefua* 139: 483–487.
- Lev E. 2003. Healing with animals (zootherapy) from practical medieval medicine to present-day traditional medicine in the Levant. *Journal of Ethnopharmacology* 85: 107–118.
- Li H, Zhou X, Gao P, Li Q, Li H, Huang R, Wu M. Inhibition of lipid oxidation in foods and feeds and hydroxyl radical-treated fish erythrocytes: A comparative study of *Ginkgo biloba* leaves extracts and synthetic antioxidants. *Anim Nutr*. 2016 Sep;2(3):234-241. doi: 10.1016/j.aninu.2016.04.007.
- Lima JRB, Florêncio RR, Santos CAB. Contribuições Da Etnozoologia Para A Conservação Da Fauna Silvestre *Revista Ouricuri*, Paulo Afonso, Bahia, v.4, n.3, p.048-067. nov/dez., 2014. <http://www.revistaouricuri.uneb.br> | ISSN 2317-0131.
- Lushchak VI. Classification of oxidative stress based on its intensity. *EXCLI Journal*. 2014;13:922-937.
- Marques JGW. *Pescando pescadores: etnoecologia abrangente no baixo São Francisco alagoano São Paulo, BR: NUPAUB-USP; 1994.*
- Melo da Cunha, JS. Alfredo, TM. Dos Santos, JM. Alves Junior, VV. Rabelo, LA. Lima, ES. et al. 2018. Antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity of *Apis mellifera* bee tea. *PLoS ONE*, 13(6), e0197071. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071>.
- Monnier VM. Nagaraj RH. Portero-Otin M. Glomb M. Elgawish AH. Sell DR. Friedlander MA. 1996. Structure of advanced Maillard reaction products and their pathological role. *Nephrol Dial Transplant*. Suppl 5:20-6.
- Nascimento AC. Aguilera Urquiza AH. Currículo, diferenças e identidades: tendências da escola indígena Guarani e Kaiowá. *Currículo sem Fronteiras*, v. 10, p. 113-132, 2010.

- Natarajan R, Putta S, Kato M. MicroRNAs and Diabetic Complications. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2012;5(4):413-422. doi:10.1007/s12265-012-9368-5.
- Oliveira GF, Oliveira TR, Ikejiri AT, Andraus MP, Galvão TF, Silva MT, et al. Prevalence of hypertension and associated factors in an indigenous community of Central Brazil: a population-based study. *PLoS One* 2014; 9:86278.
- Oliveira GF, Oliveira TRR, Rodrigues FF, Corrêa LF, Ikejiri AT, Casulari LA. Prevalência de diabetes melito e tolerância à glicose diminuída nos indígenas da Aldeia Jaguapiru, Brasil. *Rev Panam Salud Publica*. 2011;29(5):315–21.
- OMS - World Health Organization. 2016. Diabetes Mellitus – epidemiology. 2. Diabetes Mellitus – prevention and control. 3. Diabetes, Gestational. 4. Chronic Disease. 5. Public Health. I. ISBN 978 92 4 156525 7
- Pereira LM. Expropriação dos territórios Kaiowá e Guarani: Implicações nos processos de reprodução social e sentidos atribuídos às ações para reaver territórios – tekoharã. *Revista de Antropologia da UFSCar*, v.4, n.2, jul.-dez. p.124-133, 2012.
- Pieroni A, Giusti ME, Grazzini A. Animal remedies in the folk medicinal practices of the Lucca and Pistoia Provinces, Central Italy; in Fleurentin J, Pelt JM, Mazars G (eds): *Des sources du savoir aux médicaments du futur / From the Sources of Knowledge to the Medicines of the Future*. Proceedings of the 4th European Colloquium of Ethnopharmacology. Paris, IRD Editions, pp 371–375, 2002.
- Pinto, AAC. Maduro, CB. 2003. Produtos e subprodutos da medicina popular comercializados na cidade de Boa Vista, Roraima. *Acta Amaz*. [online]. vol.33, n.2, pp.281-290. ISSN 0044-5967. doi: 10.1590/1809-4392200332290.
- Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;97:55–74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
- Quave CL, Lohani U, Verde A, Fajardo J, Rivera D, Obón C, Valdes A, Pieroni, A. 2010. A comparative assessment of zootherapeutic remedies from selected areas in Albania, Italy, Spain and Nepal. *Journal of Ethnobiology* 30: 92–125.
- Rocha PDS, Campos JF, Nunes-Souza V, Vieira MDC, Boleti APA, Rabelo LA, Dos Santos EL, et al.,. Antioxidant and Protective Effects of *Schinus terebinthifolius Raddi* Against Doxorubicin-Induced Toxicity. *Appl Biochem Biotechnol*. 2018 Mar;184(3):869-884. doi: 10.1007/s12010-017-2589-y.

- Rodrigues E, Carline, ELA. 2003. Levantamento etnofarmacológico realizado entre um grupo de quilombolas do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica*, 1(2): 80-87.
- Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. 2014. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*. doi:10.4196/kjpp.2014.18.1.1.
- Souto MWS, Vieira WLS, Montenegro PFG, Alves HN, Alves RRN. Breve revisão sobre uso de fauna medicinal no Brasil: aspectos históricos, farmacológicos e conservacionistas. *Sitientibus Série Ciências Biológicas*. 2011;11(2):201-210.
- Tavares EF, Vieira Filho JPB, Andriolo A, Franco LJ. Anormalidades de tolerância à glicose e fatores de risco cardiovascular em uma tribo indígena aculturada da região amazônica brasileira. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 1999;43(Supl 1):235–9.
- Umeno A, Horie M, Murotomi K, Nakajima Y, Yoshida Y. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules*. 2016 May 30;21(6). doi: 10.3390/molecules21060708.
- Vieira CMN, Nascimento MC. A Formação de Professores Indígenas em Escolas Guarani e Kaiowá de Mato Grosso do Sul: Uma Experiência a Partir da Ação Saberes Indígenas na Escola. *InterMeio: revista do Programa de Pós-Graduação em Educação, Campo Grande, MS, v.21/22, n.42/44 p.89-104, 2015/2016*.
- Vieira Filho JPB. O diabetes mellitus e as glicemias de jejum dos índios Caripuna e Palikur. *Rev Assoc Med Bras*. 1977;23(5):175–8.
- Vieira-Filho, J.P.B., 1977. O diabetes mellitus e as glicemias de jejum dos índios Caripuna e Palikur. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 23:175-178
- Vijaykumar S, Yabesh JEM, Prabhu S, Ayyanar M, Damodaran R. Ethnozoological study of animals used by traditional healers in the silent vally of Kerala. *India J Ethnopharmacol*. 2015;162:296–305. doi: 10.1016/j.jep.2014.12.055.
- Voltar SH, Kaufman RJ. Estresse do retículo endoplasmático e diabetes tipo 2. *Annu Rev Biochem*(2012) 81 (1): 767–93.10.1146 / annurev-biochem-072909-095555.
- Waldner A, Dassati S, Redl B, Smania N, Gandolfi M. Apolipoprotein D Concentration in Human Plasma during Aging and in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Study. *Parkinson's Disease*. 2018;2018:3751516. doi:10.1155/2018/3751516.

Anexos

Janielle S. M. da Cunha e Kely de Picoli Souza
Organizadores



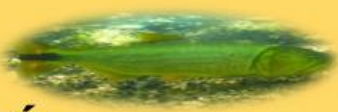
**Animais medicinais na
cultura Guarani e Kaiowá**



**Guarani ha Kaiowá
pohãnokuaa tee**



**Medicinal animals in
culture Guarani and Kaiowá**



ISBN:

EDITORA:

Animais Medicinais na cultura Guarani e Kaiowá
Guaraní ha Kaiowá pohãnokuaa tee
Medicinal animals in culture Guarani and Kaiowá

Organização:

Janielle da Silva Melo da Cunha (UNIFAP)
Kely de Picoli Souza (UFGD)

Autores:

Janielle da Silva Melo da Cunha (UNIFAP)
Aldrin Cleyde da Cunha (UFGD)
Kely de Picoli Souza (UFGD)
Édson Lucas dos Santos (UFGD)

Corpo Editorial:

Editor Chefe:

Denise Silva (IPEDI)

Conselho Editorial:

Eliane Leal Vasquez (UNIFAP)
Denise Silva (IPEDI)
Edvonete Souza de Alencar (UFGD)

Revisão de língua portuguesa

Andérbio Márcio Silva Martins (UFGD)

Revisão de língua Guarani:

Hemerson Vargas Catão (UFGD)

Imagens e Diagramação:

Daniel Ferreira Leite (UFGD)

FICHA CATALOGRÁFICA:

Patrocinadores:



Prefácio

O homem sempre buscou na natureza os recursos básicos à sua sobrevivência. Isso incluía a utilização de plantas, animais e minerais na produção de remédios visando à cura de suas enfermidades. Durante muito tempo, uma atenção maior foi voltada à divulgação da flora medicinal, relegando-se os estudos sobre animais medicinais a um segundo plano. Entretanto, recentes trabalhos de antropólogos, etnobiólogos e etnofarmacólogos demonstram que, na ecologia da interação homem/animal, destaca-se a utilização medicinal de recursos animais (zooterapia) em diferentes sociedades humanas.

Ñepyrũmby

Ikatu oiko haguã ko yvy ári, yvypóra ojeporeka ka'avotyre upéicha ikatu oikove, ojeporeka mymbáre ha itá atyre ikatu haguã ombogue opaichagua mba'asýre. Okaragua ojehesareko umi pohã ka'atyre ha ndomañai umi mymba kuéra ojepurúva poharã. Ko'ãga peve ñepyrũ ñembyaty umi kuaapy, opaichagua ambue reko ko yvy ári oipuru umi kuaapy mymba rehegua. (Zooterapia).

Mba'asýpe yvypóra yma oipuru umi mymba oiko ko yvy ari, ymaiterei umi kuaapy opaichagua henda ojeikuaa.

Umi pohã mymbagui ojejapóva, oi umi rapicha ndoroviari ikatu roimo'ã umi kuaapy ymaguare oguerekotee

Preface

Humans have always turned to nature in the search for basic resources for survival. This includes the use of plants, animals and minerals as remedies. Historically, attention has been focused on medicinal plants, whereas medicinal animals have been largely ignored. However, recent anthropological, ethnobiological and ethnopharmacological studies have demonstrated that human/animal interactions include the medicinal use of animal resources (zotherapy) in several societies.

Zotherapy is the treatment of human illnesses with animal resources or animal-derived resources. It is an historically old and geographically disseminated

Zooterapia ou o tratamento de doenças humanas pelo uso de recursos obtidos de animais ou que deles são derivados, caracteriza-se como um fenômeno historicamente antigo e geograficamente disseminado. Remédios elaborados a partir de partes dos corpos de animais, de produtos de seu metabolismo, como secreções corporais e excrementos, ou de materiais construídos por eles, como ninhos e casulos, vêm sendo utilizados desde a Antiguidade.

Embora a utilização de recursos animais como medicamento pareça absurda, não se deve descartar sua pertinência. A multiplicidade de usos de zoterápicos e o relato testemunhal de seus usuários quanto à sua eficácia permitem supor que substâncias bioativas estejam de fato presentes. Valeria a pena investigar

Heta ojeiruvu umi pohã mymbaguy tekoteve rohesamondo ha joporekave umi kuaapyre ikatu haguã roipuru poharã.

Yvypóra heta oipuru ambue árape umi mymba kuéra há ko'ãga ndetopavei umíva, sa'i sa'i ojetopa gueteri ka'avotyre.

Jurumi, nhandu, mborevi, gua'a hovy, gua'a pytã ha tatu canastra, umía ko yvypóra ojeporeka heta hese kuéra ikatu ojejapo chugui kuéra pohã, ha ko'ãga peve ndojetapovei umí mymba kuerápe opaicha ka'avotyre tekoteve ronhangareko porãve hese kuéra.

Oi guiteri umi rapicha ndoquerekoiteri mo'õguipa otopata ipoharã ha'ekuera ojeporeka mymbáre ha ka'avore.

Upeicharõ tekotevë romohesakã umi kuaapy pohã rehegua Guaraní ha Kaiowá

phenomenon. Remedies prepared from animal body parts, their metabolic products (e.g., secretions, excrement), or built by them (e.g., nests, cocoons) have been used since ancient times.

Although the use of animal resources as medicine may sound bizarre, its pertinence should not be overlooked. The numerous uses of zootherapeutics and accounts attesting to their efficacy support the hypothesis that there are valuable biologically active substances to be explored.

Albeit fascinating, zotherapy is also cause for concern. Some animals, which were common in Brazilian ecosystems, are now rare or extinct. The giant anteater, the greater rhea, the tinamou, the tapir, the maned wolf, several macaw species and the

bioquímica e farmacologicamente tal possibilidade.

Apesar de fascinante, o fenômeno da zooterapia é também preocupante. Alguns animais, antes comuns nos ecossistemas brasileiros, hoje são raros e em algumas áreas já se extinguiram completamente. O tamanduá-bandeira, a ema, o macuco, a anta, o lobo-guará, algumas espécies de araras e o tatu-canastra, por exemplo, são vítimas da ação predatória humana, que se utiliza das matérias-primas obtidas destes animais de maneiras diversas, inclusive medicinalmente. A exploração desses animais é um dado ecológico que deve ser seriamente estudado.

Deve-se considerar, contudo, que o valor dos recursos medicinais derivados de animais é significativo; eles, juntamente

mba'e ko Mato Grosso do Sulpe, ko rembiapo ojehai mbohapy nhe'ë rupi, romohesakãta umi yvyrekuaa kuaapy ha pohã rehegua kaiowá ha guarani mba'e.

Eraldo Medeiros Costa Neto

giant armadillo are examples of species predated by humans for resources, including medicine. The exploitation of these animals and its ecological impact must be further studied.

One must consider, however, that animal-derived remedies have significant value; medicinal animals and plants are typically the only available resource for people with limited access to modern medicine and adequate healthcare.

Considering the traditional knowledge of the indigenous Guarani and Kaiowa people and the limited knowledge of zotherapy in the state of Mato Grosso do Sul, the book *Animais medicinais na cultura Guarani e Kaiowa* [Medicinal Animals in the Guarani and Kaiowa Cultures], in this trilingual version,

com as plantas, geralmente são quase os únicos recursos disponíveis para a maioria da população humana que tem acesso limitado aos remédios da medicina oficial e a cuidados médicos apropriados.

Desse modo, considerando o conhecimento médico tradicional dos índios Guarani e Kaiowá, bem como o escasso registro da zooterapia no Estado de Mato Grosso do Sul, a obra *Animais medicinais na cultura Guarani e Kaiowá*, em sua versão trilingue, vem sanar esta lacuna ao apresentar seus aspectos culturais e ecológicos, especialmente valorizando e divulgando a cultura médica Guarani e Kaiowá.

Eraldo Medeiros Costa Neto

addresses this gap by presenting the cultural and ecological aspects of the Guarani and Kaiowa medical culture.

Eraldo Medeiros Costa Neto

Dedicatória

Aikuaave'ë

Dedication

Dedicamos este livro, a todos os indígenas Guarani e Kaiowá do estado de Mato Grosso do Sul.

Que Tupã proteja a todos!

Roikuaave'ë maymáva Guarani há Kaiowá oiko ko yvy áripe.

Tupã ronhangareko roimeiháicha.

This book is dedicated to the Guarani and Kaiowa people from the state of Mato Grosso do Sul.

May Tupã protect you!

Sumário

Introdução	13
Ñepyrü.....	13
Introduction.....	13
Abelha-de-ferrão	19
Eira.....	19
Honey bee.....	19
Abelha Jataí.....	24
Jate’i.....	24
Jataí Bee.....	24
Anu preto	26
Ano	26
Smooth-billed ani	26
Arraia.....	28
Javeví.....	28
Largespot freshwater stingray	28
Bagre	30
Jurundi’a	30
Catfish.....	30

Bode	32
Kavara	32
Domestic Goat	32
Capivara	34
Kapi'iyva	34
Capybara	34
Cascavel	36
Mbói chini	36
Tropical Rattlesnake	36
Coró de coqueiro	38
Mbuku	38
South American Palm Weevil	38
Dourado	40
Piraju	40
Dorado	40
Ema	42
Nhandu	42
Greater rhea	42
Galinha preta	44
Ryguasu Hü	44

Black chicken	44
Jacaré-do-Pantanal	46
Jacare	46
Yacare caiman	46
Jiboia	48
Mbói ro’y	48
Common boa	48
Lobó	50
Tare’y	50
Wolf fish	50
Lobo Guará	52
Jaguarundy	52
Maned wolf	52
Macaco prego	54
Ka’i	54
Tufted capuchin	54
Onça pintada	56
Jaguarete	56
Jaguar	56
Ovelha	58

Ovecha.....	58
Sheep	58
Paca	60
Akutipái	60
Lowland paca.....	60
Porco-espinho	62
Kure kui'í.....	62
Brazilian porcupine.....	62
Quati.....	64
Kuati.....	64
South American coati.....	64
Sucuri	66
Mbói pe sa'yju	66
Yellow anaconda.....	66
Tatu-galinha	68
Tatu	68
Nine-banded armadillo	68
Teiú.....	70
Teju	70
Tegus lizard	70

Urubu-de-cabeça-preta	72
Yryvu hü	72
Black Vulture	72
Urutau	74
Urutau	74
Common Potoo	74
Considerações finais	76
Información	76
Final considerations	76
Referências	79
Información	79
References	79
Sobre os Autores	81
Apohára	81
About the Authors	81

Introdução

O uso de animais para tratamento de doenças e outros problemas de saúde é conhecido como zooterapia [1]. Esta é uma prática milenar em diversas culturas, como nas comunidades indígenas, e é reconhecida pela Organização Mundial da Saúde [2]. A etnofarmacologia busca investigar cientificamente as atividades biológicas dos recursos naturais utilizados como medicamentos a partir da visão de uma determinada cultura [3]. Levantamentos etnofarmacológicos que registram o conhecimento das comunidades tradicionais são importantes instrumentos para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas [4].

Ñepyrü

Okaragua kuaapy omboheráva umi pohã ojejapova mymbagui, Zooterapia [1], ko'ã kuaapy ymaguive yvypóra oipuruiti ha Organización Mundial da Saúde [2] ohechakuaa umíva.

Pohã kuaapy ojeppureka umi opaichagua vyrekuaa sapy'arei umi reko oipurúva [3]. Umi kuaapytee romboaty ikatu haguã uguata porãve opaichagua rekohá rupive ikatutaramo rojeppureka ramo rotopa pohã ipyahúva [4].

Kuaapy pohã mymbagui ojejapova heta ymaguive roguereko ko yvy áripe romohesaka oréve iporãha. Eira opaicha henda ojeipurúva heta mba'e iporãha mba'asy vaí pire kái ha jaí aveípe [5], iporã avei ani mba'asy vai opuã [6] techapyrã ambue ko'ape ojeipurúva

Introduction

The use of animals to treat illnesses and other health problems is known as zotherapy [1]. This is an old practice in many cultures and indigenous communities and is recognized by the World Health Organization [2]. Ethnopharmacological research seeks to investigate the biological roles of natural resources used as medicines from the perspective of a given culture [3]. Ethnopharmacological surveys that record the knowledge of traditional communities are important for the development of new alternative therapies [4].

Studies have demonstrated the therapeutic potential of animal resources used for medicinal purposes. For

Dentre os registros de animais com fins medicinais, alguns estudos têm demonstrado o potencial terapêutico desses recursos naturais. O mel de abelha, mundialmente consumido pela população para diversos fins, tem sido descrito como um produto com aplicação clínica no tratamento de feridas, úlceras e queimaduras [5], sendo também considerado um excelente agente antibacteriano [6]. Outro exemplo de aplicação mais regional é a banha extraída do sapo-cururu [7] e do lagarto teiú [8], que também tem ação antimicrobiana. Entretanto, para a maioria das espécies, não há pesquisas científicas sobre o seu potencial clínico-farmacológico, evidenciando a necessidade de estudos que esclareçam suas eventuais utilidades terapêuticas.

nhandy sapo-kururu rehegua [7] , ha teju paraguí [8] umíva iporãha ani mba'asy vaí oguapy nde pirére.

Heta mymbagui neirati ogureko ikuaapy pohã rehegua, tekotevë nhande jahesamondo umi kuaapýpe, sapy'arei retopata pohã ipyahúva ha mba'eichapa reipuruta.

Mborevi [9] hasy jatopa haguã [10] tekotevë umi mymba kuaapy ronhangareko kuaa hese kuérape ko Brasilpe [11].

Brasil ogureko heta ha ambue ka'avoty, ha upéa heta yvypóra ojesesamondo upéape heta ojeporeka umi kuaapy ipyhúva ka'avo ha mymba rehegua, pohã ipyahúva ko'ãga ojepuru imi mba'asy vaíetépe [12].

Umi pohãtee mymbagui ko Mato Grosso do Sulpe yvypóra rekotee umi

example, honey, which is consumed worldwide for several purposes, has described clinical applications for the treatment of wounds, ulcers and burns [5] and is also considered an excellent antibiotic [6]. A more regional example is the use of fat extracted from cane toads [7] and tegus lizards [8], which are reported to have antimicrobial properties. However, there is no scientific research on the clinical-pharmacological potential for most species, evidencing the need for further studies that clarify their possible therapeutic uses.

Some animals used in traditional medicine, such as the paca [9], have been listed as threatened [10], demonstrating the need to include zootherapy within the context of biodiversity conservation in Brazil [11].

Alguns dos animais utilizados na medicina tradicional, como a paca [9], constam na lista de espécies ameaçadas de extinção [10] demonstrando a necessidade de destacar a zooterapia como um ponto importante dentro do contexto da conservação da biodiversidade no Brasil [11].

A potencialidade dos biomas brasileiros, como fonte de substâncias bioativas, tem despertado grande interesse e desencadeado uma série de investimentos em pesquisas científicas e desenvolvimento de novos fármacos, como ocorre hoje para os medicamentos contra o câncer [12]. Embora o uso de animais medicinais represente um importante componente da medicina tradicional, no estado de Mato Grosso do Sul este conhecimento não é muito

arandu rekavo nomanhai mbegue hese kuérape, kuaapy rekavo oikuaave umi ka'avo rehegua.

Tekotevë romanha mbegue umi kuaapy irekohagui ha yvyrekuaagui, umi kuaapy ymaguive.

Ko ojehaípyre ojejapo va'keu nhemongetahápe guarani ha kaiowá Mato Grosso do Sulpe, Brasil, oime ko jeporeka pa'üme reháva "Utilização de recursos animais como fonte de novos fármacos". Roipota ko rembiapo opaichagua henda oguahë upéicha heta yvypóra ikatuta omonh'ë ko kuationa romohesakãta umi kuaapy kaiowá ha guarani rehegua ambue nhe'ëme.

Ko rembiapo ogueru ipa'üme umi mymba rerá guarani ha kaiowá ha ambue nhe'ë okara rehegua.

The potential of Brazilian biomes as a source of bioactive substances has aroused great interest in the research and development of new drugs, including anti-cancer drugs [12]. Although the use of medicinal animals is an important component of traditional medicine, it is not as well-understood as the use of medicinal plants in Mato Grosso do Sul. New studies on the medicinal fauna in Mato Grosso do Sul, including their cultural and ecological aspects, will expand the understanding of this millenarian form of therapy.

The discussion of zotherapy within the context of interculturality achieves cultural strengthening through the recording of traditional knowledge and will be a fundamental element for bioprospecting.

estudado quando comparado às plantas medicinais. Novos estudos sobre a fauna medicinal no Mato Grosso do Sul, levando em consideração seus aspectos culturais e ecológicos, ampliarão a compreensão desta forma de terapia milenar.

Discutir a zooterapia dentro do contexto da interculturalidade, expressa o objetivo de fortalecimento cultural, a partir do registro do conhecimento tradicional, e torna-se um elemento fundamental para a bioprospecção.

Este livro foi elaborado a partir de entrevistas com indígenas das etnias Guarani e Kaiowá do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, e fazem parte da pesquisa de doutorado intitulada “Utilização de recursos animais como fonte de novos fármacos”. O objetivo é

Kuaapy pohã rehegua romoï ko rembiapópe PubMed Central: PMC.

Opahápe umi kuaapy mymba ojeporúva pohãrã omohesakã mba'e umi ojeporeka kuaapy moõpa oguahë rembiapokue.

This book was created from interviews with indigenous Guarani and Kaiowa people from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil, and is part of the doctoral dissertation entitled “Utilização de recursos animais como fonte de novos fármacos” (“Use of animal resources as a source of new drugs”). Our goal is to present the knowledge of the Guarani and Kaiowa from Mato Grosso do Sul regarding the use of animals as sources of remedies to a greater audience and to contribute to the dissemination, preservation and cultural dynamization of indigenous traditional knowledge, given the social changes of the last decades. For this purpose, this book is presented in Portuguese, Guarani and English.

apresentar a um maior número de leitores possível, o registro do conhecimento Guarani e Kaiowá, do Mato Grosso do Sul, Brasil, sobre o uso de animais medicinais, contribuindo para a divulgação do conhecimento tradicional indígena, sua manutenção e dinamização cultural, frente as transformações sociais vivenciadas nas últimas décadas. Neste intuito, este livro é apresentado em língua portuguesa, guarani e inglesa.

Nele são apresentados os animais, com suas denominações Guarani e Kaiowá, seguidos de seu nome científico e popular. A indicação do uso medicinal dos animais está sumarizada nas tabelas que seguem as descrições, e é apresentada seguindo fielmente a transcrição das entrevistas.

In the following sections, we list the species with their Guarani and Kaiowa names followed by their scientific and common name in Portuguese. The indication of the medicinal use of the animals is summarized in the tables after the descriptions and is faithfully presented following the transcription of the interviews.

The tables include lists of pharmacological studies performed on the animal species located in the PubMed Central database (PMC) using queries in the format “scientific name of the species” and “traditional medicine”.

Finally, the main points found in the pharmacological studies are presented as the parts used and a summary of results.

Nas tabelas foram acrescentados estudos farmacológicos já realizados com os animais citados disponíveis na base de dados PubMed Central: PMC, utilizando-se como palavras-chave para seu levantamento “nome científico da espécie” e “medicina tradicional”.

Finalizando a proposta, para cada animal citado foram apresentados os principais pontos encontrados nos estudos farmacológicos levantados focando: a parte utilizada e a síntese dos principais resultados.



Abelha-de-ferrão

Nome popular: abelha-de-ferrão, abelha-alemã, abelha-da-europa, abelha-de-mel, abelha-doméstica, abelha-do-reino, abelha-escura, abelha-europa, abelha-preta e oropa.

Nome científico: *Apis mellifera*.

Informações gerais: é uma abelha social de origem europeia encontrada em várias partes do mundo.

Eira

Téra: Eiru, opa mba'e rekoha ikatu retopa, okaragua mba'e ko mymba monbyry ougui.

Téra Arandukuaa: *Apis mellifera*.

Marandu: kaáva ou okaragui opaichagua rendápe retopata.

Honey bee

Popular name: stinging bee, german bee, european bee, honey bee, domestic bee, bee, dark bee, european bee, black bee and oropa.

Scientific name: *Apis mellifera*

General information: it is a social bee, of European origin.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guaraní ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Diabetes	Ferrão ou todo corpo	Deixar o ferrão morder, ou colocar a abelha na agua quente e tomar chá	[13] ^(D) [14] ^(D) [15] ^(D) [16] ^(D)
Tuguy mba'asy	Rete / popia	Eira emoï arã ytakure ha hei'u	[13] ^(D) [14] ^(D) [15] ^(D) [16] ^(D)
Diabetes	Sting, every body	Let the stinger bite; put the bee in the hot water and drink tea.	[13] ^(D) [14] ^(D) [15] ^(D) [16] ^(D)
Infecção	Mel	Tomar o mel	
Mba'asy jeva	Eira	eira rei'u arã	
Infection	Honey	Take the honey	

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.

Pontos principais dos estudos farmacológicos levantados sobre “Apis mellifera e medicina tradicional”.

Mba'eichagua kuaapy pohãrehegua rogueru “Kava ha pohãtee”

Key points of pharmacological studies raised on "Apis mellifera and traditional medicine".

[13]^(D) Título: A melitina tem efeito condroprotetor pela inibição das expressões de MMP-1 e MMP-8 e pelo bloqueio da via de sinalização NF- κ B e AP-1 em condrócitos. Esse estudo investigou o efeito do veneno de abelha e de dois de seus componentes (melitina e apamina) e observou efeitos anti-artrite do veneno e da melitina.

[14]^(D) Título: Efeitos inibitórios do veneno de abelha na doença inflamatória induzida por *Propionibacterium acnes* em modelo animal. Esse estudo investigou os efeitos terapêuticos do veneno de abelha contra a doença inflamatória induzida por *Propionibacterium acnes* e observou que em modelo animal, o veneno de abelha exerce efeito inibidor sobre as doenças inflamatórias da pele.

[15]^(D) Título: Citotoxicidade do veneno da abelha (*Apis mellifera*) em linfócitos humanos normais e células HL-60. Esse estudo avaliou a citotoxicidade do veneno de abelha em linfócitos humanos normais e células HL-60, e verificou que o veneno de abelha pode exercer citotoxicidade nessas duas células com diferentes mecanismos de ação.

[16]^(D) Título: Inibição da atividade da COX-2 e produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa e IL-1beta) por partes sub-fracionadas solúveis em água do veneno da abelha (*Apis mellifera*). Esse estudo avaliou a atividade anti-inflamatória do veneno de abelha em modelo *in vitro*, e seus resultados indicaram atividades farmacológicas do veneno de abelha no processo anti-inflamatório incluindo a inibição da expressão de COX-2 e o bloqueio da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa e IL-1beta).

[13] (D) Tëra: Melitina kuaapy hepyetéva pohã pochy iporãha kávarhegua (melitina e apamina) mba'asy kanguerehegua iporã pe pohã pochy.

[14] (D) Tëra: káva pohã pochy iporã umi mba'asy pirerehegua. Umi kuaapy ojesareko ombopiro'y umi mba'asy vaí Propionibacterium , pohã pochy kávarhegua iporãha umi mba'asy pirerehegua.

[15](D) Tëra: pohã pochy káva (Apis mellifera) ruguy yvypóra resãire koty'ire HL-60. Kuaapy pohã pochýre yvypóra rugúyre resãire avei koty'i HL-60, ojehecha pohã pochýre ikatu ojapo vai umi mokõi koty'ire.

[16](D) Tëra: ojejoko rembiapo COX-2 upei ojejapo citocinas ikatu ombohaviru (TNF-alfa e IL-1beta) pohã pochy michi michire emoï y (Apis mellifera). Kuaapy ojesareko káva pohã pochy iporãha moha'angare in vitro, upéicha repyha káva pohã pochy iporãha umi mba'e ruruha pire avei ndohejai oiko COX-2 avei ndohejai toiko umi mba'e ruruha (TNF-alfa e IL-1beta).

[13] (D) "Melittin has chondroprotective effect by inhibiting MMP-1 and MMP-8 expression by blocking the NF-κB and AP-1 signaling pathways in chondrocytes." This study investigated the effect of bee venom and two of its components (melitin and apamine) and observed anti-arthritis effects of venom and melittin.

[14] (D) "Inhibitory effects of bee venom on Propionibacterium acnes-induced inflammatory disease in animal model." This study investigated the therapeutic effects of bee venom against the inflammatory disease induced by Propionibacterium acnes and observed that in animal model, the bee venom exerts an inhibitory effect on the inflammatory diseases of the skin.

[15] (D) "Bee venom (Apis mellifera) cytotoxicity in normal human lymphocytes and HL-60 cells". This study evaluated the cytotoxicity of bee venom in normal human lymphocytes and HL-60 cells, where bee venom can exert cytotoxicity in these two cells differently.

[16] (D) "Inhibition of COX-2 activity and production of proinflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1beta) by water-soluble sub-fractionated portions of bee venom (*Apis mellifera*)." The anti-inflammatory activity of n-hexane, ethyl acetate and aqueous partitions of bee venom was studied using the activity of cyclooxygenase (COX) and proinflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1beta) in vitro, where the results suggest that the pharmacological activities of bee venom in the anti-inflammatory process include inhibition of COX-2 expression and blocking the production of proinflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1beta).



Abelha Jataí

Nome popular: jataí, abelha indígena.

Nome científico: *Tetragonisca angustula*.

Informações gerais: a abelha jataí é nativa do Brasil e pertence à espécie dos meliponídeos.

Jate'i

Téra: Jate'i

Téra Arandukuaa: *Tetragonisca angustula*.

Marandu: jate'i Brasilpe mba'e ymaguare opaichagua tenda retopata.

Jataí Bee

Popular name: jataí, indigenous bee

Scientific name: *Tetragonisca angustula*

General information: the jataí bee, is native to Brazil and belongs to the Meliponidae species.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guaraní ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Pneumonia	Mel	Tomar junto com banha de tatu preto	-
Ñe'ãvevuiruru	Eíra	He'u arã tatu hũ nhandýre	-
Pneumonia	Honey	Take along with black armadillo batter	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Anu preto

Nome popular: anu-preto, anu-pequeno, anum e coró-coró.

Nome científico: *Crotophaga ani*.

Informações gerais: o nome anu-preto é de origem tupi “ani” ou “anim”, usado para designar um pássaro social.

Ano

Téra: Ano

Téra Arandukuaa: *Crotophaga ani*

Marandu: Opaichagua rapicha oikuaa anope

Smooth-billed ani

Popular name: anu-preto, anu-pequeno, anum, coró-coró.

Scientific name: *Crotophaga ani*

General information: the name “anu-preto” (“black anu”) originates from the tupi “ani” or “anim”, which designates a social bird.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Bronquite, asma	Carne	Cozinhar com temperos e comer	-
Pyti'a kororõ	Ro'o	Embojy jukýre ha he'u	-
Bronchitis, asthma	Beef	Cooking with spices and eating	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Arraia

Nome popular: arraia, raia e arraia pintada.

Nome científico: *Potamotrygon falkneri*.

Informações gerais: a arraia é um peixe cartilaginoso nativo das bacias do rio Paraná e rio Paraguai.

Javevíi

Téra: Javavíi.

Téra Arandukuaa: *Potamotrygon falkneri*.

Marandu: javevíi pira oikova ysyry guasúpe Parana ha Paraguay.

Largespot freshwater stingray

Popular name: stingray, stingray and stingray.

Scientific name: *Potamotrygon falkneri*.

General information: Arraia is a cartilaginous fish native to the basins of the Paraná River and Paraguay River.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowa Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Dor de dente	Ferrão	Passar no dente várias vezes ao dia até a dor melhorar	-
Taï rasýpe	Popía	Heta embohasa arã nde raïme ikatu ombopiro'y hasýpe	-
Toothache	Sting	Pass the tooth several times a day until the pain improves.	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Bagre

Nome popular: bagre, jundiá.

Nome científico: *Clarias gariepinus*.

Informações gerais: a maioria desses peixes tem hábitos de vida noturna e pode ser encontrado na maior parte da América do Sul.

Jurundi'a

Téra: mandi'i, jurundi'a

Téra Arandukuaa: *Clarias gariepinus*.

Marandu: pyhareve jurundi'a osë há retopata América do Sulpe.

Catfish

Popular name: catfish, jundiá

Scientific name: *Clarias gariepinus*

General Information: Most of these fish have nightlife habits and can be found in most of South America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuruta Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Dor nos olhos	Banha/gordura	Fritar e passar ao redor dos olhos	-
Tesa rasy	Nhandy	Embochyryry ha embohasa nde resápe	-
Pain in the eyes	Bath/fat	Fry and pass around the eyes	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Bode

Nome popular: bode.

Nome científico: *Capra aegagrus hircus*.

Informações gerais: considerado o menor animal ruminante domesticado sendo facilmente adaptado a diferentes habitats.

Kavara

Téra: Kavara.

Téra Arandukuaa: *Capra aegagrus hircus*.

Marandu: opahenda retopata ko mymba.

Domestic Goat

Popular name: goat

Scientific name: *Capra aegagrus hircus*

General information: considered the smallest domesticated ruminant animal being easily adapted to different habitats.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mab'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Dor nas pernas	Banha/gordura	Massagear o local com a banha	-
Tetyma rasy	Nhandy	Jepichy hasyhápe	-
Leg pain	Bath/fat	Massage the place with the fat	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Capivara

Nome popular: capivara.

Nome científico: *Hydrochoerus hydrochaeris*.

Informações gerais: mamífero considerado o menor animal ruminante e o maior roedor do mundo, extremamente adaptável, está distribuído por toda a América do Sul.

Kapi'iyva

Téra: Karpincho, Kapi'iyva.

Téra Arandukuaa: *Hydrochoerus hydrochaeris*.

Marandu: opahenda retopata ko mymba América do Sulpe.

Capybara

Popular name: Capybara

Scientific name: *Hydrochoerus hydrochaeris*

General information: considered the smallest ruminant animal is a mammal, considered the largest rodent in the world, extremely adaptable, and is distributed throughout South America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Bronquite, tosse, gripe, dor de garganta, desejo sexual	Banha/gordura	Tomar a banha	-
Pyti'a kororõ, ahy'o rasy, ahy'o kororõ	Nhandy	Nhandy he'u arã	-
Bronchitis, cough, flu, sore throat, sexual desire	Bath/fat	Take the bath	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Cascavel

Nome popular: cascavel.

Nome científico: *Crotalus durissus*.

Informações gerais: As cascavéis são cobras peçonhentas que possuem um chocalho característico na cauda e estão presentes em todo o continente americano.

Mbói chini

Téra: Mbói chini

Téra Arandukuaa: *Crotalus durissus*.

Marandu: Ipohã pochý mbarete oguereko

Mbói Chini avei osunu ryapu imba'eteéva.

Tropical Rattlesnake

Popular name: rattlesnake

Scientific name: *Crotalus durissus*

General Information: Rattlesnakes are venomous snakes that have a characteristic rattle on the tail, and are present throughout the American continent.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'epa reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Dores musculares	Banha/gordura	Fritar e fazer massagem no local	-
Ro'ó rasýpe	Nhandy	Nhandy embochyryry ha eipychy	-
Muscle aches.	Bath/fat	Fry and massage on the spot	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Coró de coqueiro

Nome popular: coró de coqueiro gongo, coró e morotó.

Nome científico: *Rhynchophores palmarum*.

Informações gerais: é uma larva que se desenvolve no interior do fruto de várias palmáceas, como o babaçu, o coqueiro, a carnaúba, entre outras, com ampla distribuição brasileira.

Mbuku

Téra: Mbuku

Téra Arandukuaa: *Rhynchophores palmarum*.

Marandu: Etopa mbukúre umi mbokaja matare ipype. Opaichagua mbokaja Brasil oguereko.

South American Palm Weevil

Popular name: coconut grove or palm caterpillar

Scientific name: *Rhynchophores palmarum*.

General information: they are butterflies that have a twilight habit and during the day they hide in host plants. They live throughout South America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Diabetes	Banha/gordura	Tomar a banha frita	-
Tuguy mba'asy	Nhandy	He'u nhandy chyryry	-
Diabetes	Bath/fat	Take the fried bath	-
Feridas cancerosas	Banha/gordura	Fritar e fazer massagem no local	-
Mba'asy pire vaí	Nhandy	Chyryry ha eipychy	-
Cancerous wounds	Bath/fat	Fry and massage on the spot	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Dourado

Nome popular: dourado, piraju e pirajuba.

Nome científico: *Salminus maxillosus*.

Informações gerais: peixe de água doce distribuído nos rios brasileiros com ocorrência nas Bacias do Paraná e do Prata.

Piraju

Téra: Piraju

Téra Arandukuaa: *Salminus maxillosus*.

Marandu: ysyry oiko ko pira, retopata ysyryre hérava Paraná há Pratape.

Dorado

Popular name: ouro, Piraju and Pirajuba

Scientific name: *Salminus maxillosus*

General information: freshwater fish distributed in Brazilian rivers occurring in the Paraná and Prata Basins.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapy tee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Alcoolismo	Banha/gordura	Tomar a banha	-
Ka"ureko	Nhandy	Nahndy he'u arã	-
Alcoholism	Bath/fat	Take the bath	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Ema

Nome popular: ema, nandu, nhandu, guaripé e xuri.

Nome científico: *Rhea americana*.

Informações gerais: considerada a maior ave brasileira e seu habitat se restringe à América do Sul.

Nhandu

Téra: Ñandu, nhandu

Téra Arandukuaapy: *Rhea americana*.

Marandu: guyra ituichavea ko retãme Brasilpe, Amarica do Sulpe.

Greater rhea

Popular name: ema, nandu, nhandu, guaripé and xuri

Scientific name: *Rhea americana* General information: It is considered the largest Brazilian bird and its habitat is restricted to South America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'epa reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Paralisia infantil, para criança andar rápido	Banha/gordura	Passar como pomada nos joelhos e pernas	-
Pua'e mitã oguata haguã	Nhandy	Eipychy tetymare ha penarãre	-
Childhood paralysis; for children to walk fast	Bath/fat	To pass as ointment on the knees and legs	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Galinha preta

Nome popular: galo preto, galinha preta.

Nome científico: *Gallus domesticus*.

Informações gerais: ave domesticada com ampla distribuição na América do Sul e em outros continentes.

Ryguasu Hü

Téra: ryguasu hü.

Téra Arandukuaa: *Gallus domesticus*

Marandu: Guyra oikova opavavë retãme.

Black chicken

Popular name: black cock, black chicken

Scientific name: *Gallus domesticus*

General information: It is a domesticated bird with wide distribution in South America and in other continents.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Cicatrizante, dor de ouvido	Banha/gordura	Fritar e passar 2 vezes ao dia até os sintomas sumirem	-
Apysa rasy, ñemboty arã	Nhandy	Chyryry ha he'u	-
Healing, earache	Bath/fat	Fry and pass 2 times a day until symptoms subside	-
Pneumonia, dor de garganta, febre	Banha/gordura	Tomar a banha frita	-
Ahy'o ray, pyti'avevui	Nhandy	Nhandy chyryry he'u arã	-
Pneumonia, sore throat, fever	Bath/fat	Take the fried bath	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Jacaré-do-Pantanal

Nome popular: jacaré-do-pantanal, jacaré-do-paraguai.

Nome científico: *Caiman yacare*.

Informações gerais: habita a parte central da América do Sul, incluindo o norte da Argentina, sul da Bolívia e Centro-Oeste do Brasil, especialmente no Pantanal e rios do Paraguai.

Jacare

Téra: Jacare.

Téra Arandukuaa: *Caiman yacare*.

Marandu: Jacare oiko ambue tetãme ko yvyáripe.

Yacare caiman

Popular name: alligator, alligator, alligator

Scientific name: *Caiman yacare*

General information: It inhabits the central part of South America, including northern Argentina, southern Bolivia and Central West of Brazil, especially in the Pantanal and Paraguay rivers.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Bronquite, catapora	Banha/gordura	Tomar a banha frita	-
Pyti'a chiã	Nhandy	Nhandy chyryry he'u arã	-
Bronchitis, chickenpox	Bath/fat	Take the fried bath	-
Hemorroida, diarreia	Couro	Assar o couro e fazer chá e tomar uma dose	-
Chivi, tye, tuguaiipo'i	pire	Pire mbichy ha ejapo ytakure he'u arã	-
Hemorrhoids, diarrhea	Leather	Bake the leather and make tea and take a dose	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Jiboia

Nome popular: jiboia, jiboia-constritora.

Nome científico: *Boa constrictor*.

Informações gerais: a segunda maior serpente existente no Brasil, podendo ser encontrada em diversos locais como Mata Atlântica, restingas, mangues, Cerrado, Caatinga e Floresta Amazônica.

Mbói ro'y

Téra: Mbói ro'y

Téra Arandukuaa: *Boa constrictor*.

Marandu: mbói ituichava oiko Brasilpe

Common boa

Popular name: jiboia, jiboia-consitora

Scientific name: *Boa constrictor*

General information: the second largest snake in Brazil, and can be found in several places, such as in the Atlantic Forest, restingas, mangroves, in the Cerrado, Caatinga and Amazon Rainforest.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Dor de cabeça, dor na coluna, dor nos ossos	Couro	Secar o couro e amarrar no local da dor	-
Akã rasy, kangue rasy	Pire	Emokã ipire ha emosã hasyhápe	-
Headache, back pain, bone pain	Leather	Dry the leather and tie at the pain site	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Lobó

Nome popular: lobó, traíra e tararira.

Nome científico: *Hoplias malabaricus*.

Informações gerais: peixe de água doce distribuído em todo território nacional.

Habita águas paradas de lagos, represas, brejos, remansos e rios, tendo preferência por barrancos com vegetação.

Tare'y

Téra: tare'y.

Téra Arandukuaa: *Hoplias malabaricus*.

Marandu: opaicha ysyryre ha y rupáre etopa ko pirá.

Wolf fish

Popular name: lobó, traíra and tararira

Scientific name: *Hoplias malabaricus*

General information: freshwater fish distributed throughout the national territory. It inhabits still waters of lakes, dams, swamps, backwaters and rivers, having preference for ravines with vegetation.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Parto	5 cm do rabo	Tomar o chá	-
Membyrã	Ruguai 5cm	He'u ytakure	-
childbirth	5 with the tail	Have tea	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Lobo Guará

Nome popular: lobo guará.

Nome científico: *Chrysocyon brachyurus*.

Informações gerais: mamífero que está ameaçado de extinção. Ocorre em savanas e áreas abertas no centro do Brasil, Paraguai, Argentina e Bolívia, sendo um animal típico do Cerrado.

Jaguarundy

Téra: Jaguarundy.

Téra Arandukuaa: *Chrysocyon brachyurus*.

Marandu: Jaguarundy ndetopaveima nüre ko mymba oiko ambue tetâme.

Maned wolf

Nome popular: lobo guará

Nome científico: *Chrysocyon brachyurus*

Informações gerais: é um mamífero que está ameaçado de extinção. Ocorre em savanas e áreas abertas no centro do Brasil, Paraguai, Argentina e Bolívia, sendo um típico animal do Cerrado.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Fortificante infantil	Osso do pé	Tomar o chá	-
Mitã omombarete haguã	Py kangué	He'u ytakure	-
Fortifying child	Foot bone	Have tea	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Macaco prego

Nome popular: macaco prego, micos-de-topete.

Nome científico: *Sapajus apela*.

Informações gerais: primata com ocorrência na América do Sul, desde regiões amazônicas até o sul do Paraguai e norte da Argentina.

Ka'i

Téra: ka'i

Téra Arandukuaa: *Sapajus apela*.

Marandu: Ka'i retopa ko America do Sulpe, opaichgua retãme.

Tufted capuchin

Popular name: monkey nail, monkey-tufted

Scientific name: *Sapajus appeals*

General information: It is a primate with occurrence in South America, from Amazonian regions, to southern Paraguay and northern Argentina.

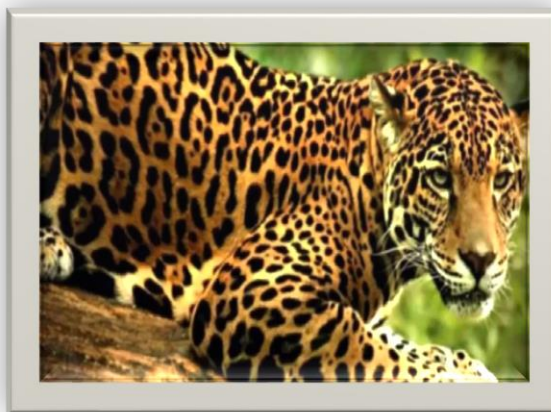
Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Fechar a cabeça do recém-nascido	Crânio	Lavar a cabeça com a água fervida do crânio	-
Ombotu haguã mita akã	Akãngue	Embopupu ka'i akãngue ha ejohei mitã akã	-
Close the head of the newborn	Skull	Wash the head with the boiled water of the skull	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Onça pintada

Nome popular: onça-pintada, jaguar, onça-preta.

Nome científico: *Panthera onca*.

Informações gerais: mamífero carnívoro considerado o terceiro maior felino do mundo sendo encontrado nas Américas.

Jaguarete

Téra: Jaguarete, Jaguarete hü

Téra Arandukuaa: *Panthera onca*.

Marandu: Jaguarete etopata opachaigua retãme America do Sulpe.

Jaguar

Popular name: jaguar, black jaguar

Scientific name: *Panthera onca*

General Information: It is a species of carnivorous mammal being considered the third largest feline in the world being found in the Americas.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Febre e dores musculares	Banha/gordura	Passar como pomada	-
Rete rasy ha akãundu	Nhandy	Epopychy	-
Fever and muscle aches	Bath/fat	To pass as ointment	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Ovelha

Nome popular: ovelha.

Nome científico: *Ovis aries*.

Informações gerais: mamífero ruminante bovídeo, que habita quase todos os lugares do mundo, podendo ser selvagem ou domesticado.

Ovecha

Téra: Ovecha

Téra Arandukuaa: *Ovis aries*.

Marandu: Oecha ho'u kapi'i opachaigua retãme etopata ko yvyári.

Sheep

Popular name: sheep,

Scientific name: *Ovis aries*

General information: it is a bovine ruminant mammal, that inhabits almost all the places of the world, being able to be wild or domesticated.

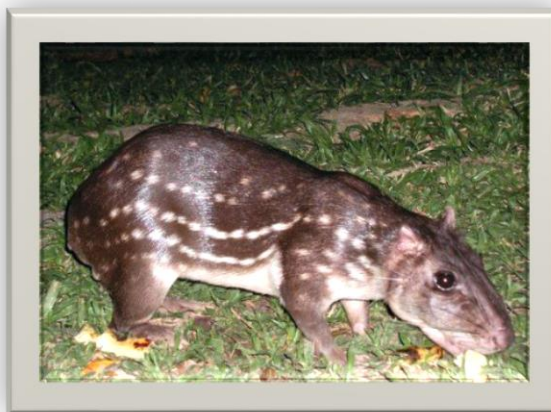
Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Fratura de ossos e torção	Banha/gordura	Passar e fazer massagem	-
Kangue jaka	Nhandy	Embohasa ha epopychy	-
Fracture of bones and torsion	Bath/fat	Pass and do massage	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Paca

Nome popular: paca.

Nome científico: *Cuniculus paca* ou *Agouti paca*.

Informações gerais: roedor encontrado na América do Sul, desde a Bacia do Rio Orinoco até o Paraguai, habitando matas tropicais, preferencialmente perto de lagos, rios ou riachos.

Akutipái

Téra: Akutipái.

Téra Arandukuaa: *Cuniculus paca* ou *Agouti paca*.

Marandu: ko mymba retopa opacihagua retãme ko America do Sulpe.

Lowland paca

Popular name: Lowland paca.

Scientific name: *Cuniculus paca* or *Agouti paca*

General information: It is a species of rodent found in South America, from the Orinoco River Basin to Paraguay, inhabiting tropical forests, preferably near lakes, rivers or streams.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Bronquite	Banha/gordura	Tomar a banha frita	-
Pyti'a chiã	Nhandy	He'u inhandy	-
Bronchitis	Bath/fat	Take the fried bath	-
Diabetes, dor nos rins, dor no coração	Amargoso/fel	Colocar o fel na cachaça e tomar todo dia	-
Tuguy mba'asy, ñe'a rasy,	Py'arõ	Py'arõ emoĩ ytatare ha he'u	-
Diabetes, kidney pain, heart pain	Bitter/gall	Put the gall in the cachaça and drink every day	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Porco-espinho

Nome popular: porco-espinho.

Nome científico: *Coendou prehensilis*.

Informações gerais: roedor ameaçado de extinção, habita a Europa, África, Ásia e toda a América.

Kure kui'i

Téra: Kure Kui'i

Téra Arandukuaa: *Coendou prehensilis*

Marandu: ko mymba nderetopavei aimete opa.

Brazilian porcupine

Popular name: porcupine

Scientific name: *Coendou prehensilis*

General Information: It is a rodent that is threatened with extinction, it lives in Europe, Africa, Asia and throughout America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'ay Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Alcoolismo	Banha/gordura	Ingerir seu óleo com salada	-
	Nhandy	He'u nhandy tembi'úre	-
Ka'ureko			
Alcoholism	Bath/fat	Ingest your oil with salad	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Quati

Nome popular: quati, tamanduá palito.

Nome científico: *Nasua nasua*.

Informações gerais: mamífero que habita predominantemente as selvas sul-americanas e parte meridional da América.

Kuati

Téra: Kuati, chi'y.

Téra Arandukuaa: *Nasua nasua*.

Marandu: opaicha retãme retopata ko mymba.

South American coati

Popular name: porcupine, anteater

Scientific name: *Nasua nasua*

General information: It is a mammal that inhabits predominantly the South American jungles and the southern part of America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipurú Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Coalho virado	Banha/gordura	Fritar a banha e dar para criança tomar	-
Kambyryrujére	Nhandy	Eme'ë mitãme ho'u haguã	-
Overtured rennet	Bath/fat	Fry the bath and give to child to take	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Sucuri

Nome popular: sucuri-amarela, anaconda, arigbóia, boiaçu, boiçu, boiguaçu, boiuna, sucuriju, sucuriú e viborão.

Nome científico: *Eunectes notaeus*.

Informações gerais: cobra que vive nas florestas e matas tropicais da América do Sul.

Mbói pe sa'yju

Téra: mbói pesa'yju.

Téra Arandukuaa: *Eunectes notaeus*.

Marandu: ka'aguy tuicháva oiko mbói pe sa'yju ko America do Sulpe.

Yellow anaconda

Popular name: yellow-sucker, anaconda, arigbóia, boiaçu, boiçu, boiguaçu, boiuna, sucuriju, sucuriú and viborão.

Scientific name: *Eunectes notaeus*

General Information: snake that lives in the forests and tropical forests of South America.

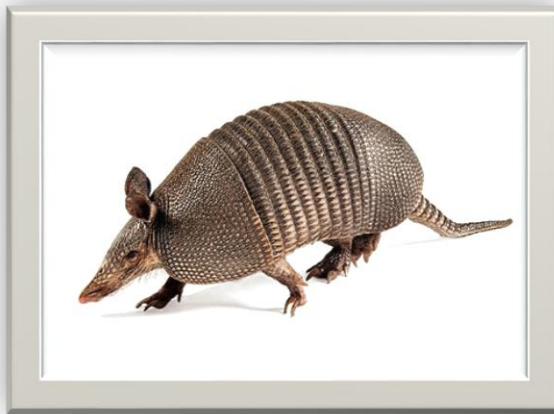
Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Manchas na pele e machucaduras	Banha/gordura	Passar 1 vez ao dia como pomada até os machucados sumirem	-
Pire marã ha hungare	Nhandy	Embohasa ha popychy opahape hunga	-
Skin patches and bruises	Bath/fat	Pass once a day as an ointment until the bruises disappear	-
Febre, dor de cabeça, fortificante infantil	Banha/gordura	Tomar a banha frita	-
Akãnundu, akã rasy, mitã omombarete porã	Nhandy	Nhandy ho'u arã	-
Ever, headache, infant fortifier	Bath/fat	Take the fried bath	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Tatu-galinha

Nome popular: tatu-galinha, tatu-verdadeiro, tatu-de-folha, tatu-veado e tatuetê.

Nome científico: *Dasypus novemcinctus* L.

Informações gerais: encontrado dos Estados Unidos, norte da Argentina e Brasil, habita diversos tipos de habitat incluindo cerrados, mata atlântica, pastagens e áreas agrícolas.

Tatu

Téra: Tatu

Téra Arandukuaa: *Dasypus novemcinctus*

Marandu: ko mymba retopa ko

Americápe, opaichagua kaavoty oime.

Nine-banded armadillo

Popular name: armadillo, true armadillo, armadillo, armadillo and armadillo

Scientific name: *Dasypus novemcinctus* L.

General information: found from the United States to the North of Argentina and Brazil, inhabits several habitat types including Cerrados, Atlantic Forest and pastures and agricultural areas.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Gripe e tosse	Rabo	Colocar o rabo do tatu no nariz	-
Mba'asy po'i	Ruguai	Tatu ruguai emoï itire	-
Flu and cough	Tail	Put the arm of the armadillo in the nose	-
Feridas, inchaço	Banha/gordura	Fritar a banha, depois de fria passar na ferida	-
Kuare, aí, ruru	Nhandy	Nhandy embohasa kuarépe	-
Wounds, swelling	Bath/fat	To fry the lard, after cold to pass in the wound	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Teiú

Nome popular: teiú, lagartiu, teju, tegu, jacuraru, jacuaru, jacuruaru, jacuaru e caruaru.

Nome científico: *Tupinambis* sp.

Informações gerais: réptil que está entre os maiores lagartos do mundo, nativo da América do Sul.

Teju

Téra: Teju.

Téra Arandukuaa: *Tupinambis* sp.

Marandu: ko mymba otyryryva
ko'apegua voi há ituicha irapicha pa'üme.

Tegus lizard

Popular name: teiú, lagartiu, teju, tegu, jacuraru, jacuaru, jacuruaru, jacuaru and caruaru

Scientific name: *Tupinambis* sp.

General information: It is a reptile, which comprises the largest lizards in the world and covers seven species, all native to South America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos Mbo'epy pohã S/D with other studies
Bronquite	Banha/gordura	Tomar a banha frita	-
Pyti'a chiã	Nhandy	He'u nhandy chyryry	-
Bronchitis	Bath/fat	Take the fried bath	-
Tumores e feridas na pele	Banha/gordura	Fritar a banha, depois de fria passar na ferida	-
Aí, kuare ha mbore pire	Nhandy	Echyryry nhandy hapei epopychy kuarere	-
Tumors and sores on the skin	Bath/fat	To fry the lard, after cold to pass in the wound	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Urubu-de-cabeça-preta

Nome popular: urubu-de-cabeça-preta.

Nome científico: *Coragyps atratus*.

Informações gerais: é uma ave de rapina, encontrada na região central dos Estados Unidos e em toda a América do Sul.

Yryvu hü

Téra: Yryvu hü

Téra Arandukuaa: *Coragyps atratus*.

Marandu: guyra ituichava retopa Estados Unidospe pa'üme ha America do Sulpe

Black Vulture

Popular name: Black-headed buzzard

Scientific name: *Coragyps atratus*.

General Information: It is a bird of prey, found in the central region of the United States, and throughout South America.

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuruta Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos M/D Mbo'epy pohã S/D with other studies
Problemas de visão	Banha/gordura	Passar a banha ao redor do olho	-
Tesa mba'asy	Nhandy	Embohasa nhandy tesa jerére	-
Vision problems	Bath/fat	Pass the lard around the eye	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.



Urutau

Nome popular: mãe-da-lua, emenda-toco, ave fantasma.

Nome científico: *Nyctibius griseus*.

Informações gerais: presente em todo o Brasil, a ave, por seu canto, figura entre várias lendas. A lenda mais conhecida é sobre Nheambiú, filha do poderoso cacique guarani.

Urutau

Téra: Urutau, guaimingue.

Téra Arandukuaa: *Nyctibius griseus*.

Marandu: Brasilpe retopata opavavë reda rupi.

Common Potoo

Popular name: mother-of-the-moon, senda-toco, ghost bird

Scientific name: *Nyctibius griseus*

General information: present throughout Brazil, the bird, by its song, figure among several legends. The best-known legend is about Nheambiú, daughter of the powerful Guarani cacique

Conhecimento Tradicional Guarani e Kaiowá
Guarani ha Kaiowá Kuaapytee
Traditional Knowledge Guarani and Kaiowá

Indicação/doença Mba'asy Indication/disease	Parte utilizada Mba'e reipuru Part of the animal used	Modo de utilização Mba'eicha reipuruta Directions for use	S/D com estudos farmacológicos M/D Mbo'epy pohã S/D with other studies
Problemas de visão	Banha/gordura	Passar a banha ao redor do olho	-
Tesa mba'asy	Nhandy	Embohasa nhandy tesa jerére	-
Vision problems	Bath/fat	Pass the lard around the eye	-

Legenda: S/D = Estudos que relatam descobertas semelhantes (S) ou diferentes (D) sobre os usos medicinais da espécie: considerando a indicação/doença e a parte utilizada.

Heipy: Kuaapy omohesakã umi kuaapy ipyahúva ambue pohã kuaapy ojeipurúva umi mymbaré mba'asy're vore ojepuru kuaa.

Legend: Studies reporting similar (s) or different (d) findings on the medicinal uses of a species. # means it was not found.

Considerações finais

Este livro trouxe o registro, pela primeira vez, de uma riqueza de conhecimentos medicinais tradicionais do povo indígena Guarani e Kaiowa do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, que pode agora ser utilizado para a própria manutenção cultural e compartilhado com todos os outros povos.

É importante ressaltar que o conhecimento medicinal dos animais apresentados nesse livro, é parte de uma cultura e não pode ser extraído direta e isoladamente para ser aplicado por outros, sem a compreensão dos aspectos subjetivos intrínsecos do povo Guarani e Kaiowa. Embora seja muito provável a

Información

Ko kuation ojehaípire ogueru ha omohesakã umi kuaapytee Guarani Kaiowá mba'e, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Ko'ã kuaapytee tekotevë eipuru kuaa, ko kuaapy oime guarani kaiowá poguýpe, heta ára ohasa ikatu haguã oikuaa ko'ã kuaapy.

Yvypóra kuéra tekotevë omanha porã ko'ã kuaapy ikatu otopa opa mba'e umi mymbare, ka'avore upeicha oikuaaveta opa mba'e kuaapy oï ko yvyre.

Yma guive ambue re'yi ogueroko ikuaapy mba'ichapa oipuruta umi mymba poharã rapicha oiko kuaa opaichagua mymba. Ikatu roñangareko kuaa ka'avoty

Final considerations

This book records, for the first time, the rich traditional knowledge of the indigenous Guarani and Kaiowa people from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil, to be used for cultural preservation and shared with others.

It is important to highlight that the medicinal knowledge of the animals presented in this book is part of a culture and should not be extracted directly and out of context without the subjective knowledge of the Guarani and Kaiowa people. Although the existence of biologically active substances that affect the indicated targets is likely, the cultures include other ritualistic elements in the healing processes.

existência de substâncias ativas nas indicações de uso, a cultura insere outros elementos ritualísticos no processo de cura. Nesse livro estes animais são apresentados como fontes medicinais, mas eles têm diversos outros significados na cultura.

Estudos farmacológicos têm se somado ao conhecimento tradicional do povo indígena, acumulado ao longo de sua história, e acrescentado à humanidade possibilidades terapêuticas para doenças que afligem as sociedades. Igualmente, poderão também desvendar toxicidades que ainda são desconhecidas.

A possibilidade de uso milenar desses recursos animais vem também da sabedoria do povo indígena de viver de forma harmônica com os animais. Conservar a biodiversidade, bem como

ka'avore rapicha kuéra ojeresareko yvýre.
Toguata jaipuru kuaapy hérava
zooterápica roñangareko kuaa tekoháre
ikatu yvypóra oiko porãme!

In this book, animals are presented as medicinal sources, but they also carry many other cultural meanings.

Pharmacological studies have added to the traditional knowledge of indigenous people that have accumulated throughout history, contributing to alternative therapies for human illnesses. They may also reveal toxicities that are currently unknown.

The ability to use animal resources stems from the wisdom of indigenous people to live in harmony with animals. The conservation of biodiversity, as well as the natural elements upon which it depends, should be the collective choice of all people of the world. The continuity of the zootherapeutic practice depends on the integrity of the environment, which in turn depends on the integrity of humans.

todos os elementos naturais dos quais ela depende, deve ser a escolha coletiva de todos os povos do mundo. A continuidade da prática zooterápica depende da integridade do ambiente e isto depende da integridade dos homens!

Referências

Información

References

- [1] MARQUES, JGW. 1994. **A fauna medicinal dos índios Kuna de San Blas (Panamá) e a hipótese da universalidade zoterapica.** In: Anais da 46ª Reunião Anual da Reunião Anual da SBPC. Vitória, Brasil.
- [2] ALVES, RR. DIAS, TLP. 2010. **Uso de invertebrados na medicina popular no Brasil e suas implicações para a conservação.** Tropical Conservation Science. Vol. 3(2): 159-174p.
- [3] SCHULTES, RE. 1962. **The role of ethnobotanist in the search for new medicinal plants.** Lloydia, 25: 257-266.
- [4] RODRIGUES, E. CARLINE, ELA. 2003. **Levantamento etnofarmacológico realizado entre um grupo de quilombolas do Brasil.** Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica, 1(2): 80-87.
- [5] NAZRUL-ISLAM, SK. FERDOUS, AJ. HASSAN, CM. HASSAN, M. SULTANA, S. 1993. **Screening of honey for its antibacterial properties against pathogenic bacteria including resistant strains of Shigella.** Fitoterapia, 2: 176-178.
- [6] FAROUK, A. HASSAN, T. KASHIF, H. KHALID, SA. MUTAWALI, I. WADI, M. 1988. **Studies on Sudanese Bee Honey: Laboratory and Clinical Evaluation.** International Journal of Crude Drug Research, 26 (3): 161-168.
- [7] BRITO, SV. FERREIRA, FS. SIQUEIRA-JUNIOR, JP. COSTA, J. G. M.; ALMEIDA, W. O.; COUTINHO, H. D. M. 2012. **Phototoxic and modulatory effects of natural products from the skin of *Rhinella jimi* (Stevaux, 2002).** Revista Brasileira de Farmacognosia, 22: 82-87, 2012a.
- [8] FERREIRA, S. BRITO, VR. SARAIVA, AM. Araruna, KA. Menezes, RAJ. Costa G. MH. Coutinho DM. Almeida, WO. Alves, RRN. 2010. **Topical anti-inflammatory activity of body fat from the lizard *Tupinambis merianae*.** Journal of Ethnopharmacology. Volume 130, Issue 3 9, Pages 514-520. Doi: doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.041.

- [9] BARROS FB. VARELA AS. PEREIRA HM. VICENTE L. 2012. **Medicinal use of fauna by a traditional community in the Brazilian Amazonia.** Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. Sep 27;8:37. doi: 10.1186/1746-4269-8-37.
- [10] CHIARELLO, AG. AGUIAR, LMS, CERQUEIRA, R. DE MELO, FR. RODRIGUES, FHG. DA SILVA, VMF. **Mamíferos Ameaçados de Extinção no Brasil.** Mamíferos Volume 2. ICMBIO. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/biodiversidade/fauna-brasileira/livro-vermelho/volumeII/Mamiferos.pdf>. Acesso em 20 Mar. 2018.
- [11] FERREIRA, FS. BRITO, SV. RIBEIRO, SC. SARAIVA, AAF. ALMEIDA, WO. ALVES, RRN. 2009. **Animal based folk remedies sold in public markets in Crato and Juazeiro do Norte, Ceará, Brazil.** BMC Complementary and Alternative Medicine. doi.org/10.1186/1472-6882-9-17.
- [12] VIEGAS, JRC. BOLZANI, VS. BARREIRO, EJ. 2006. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna.** Quím. Nova, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 326-337. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000200025&lng=en&nrm=iso>. Access on 20 Mar. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>.
- [13] JEONG, YJ. SHIN, JM. BAE, YS. CHO, HJ. PARK, KK. CHOE, JY. HAN, SM. MOON, SK. KIM, WJ. CHO, I YH. KIM, CH. CHANG, HW. CHANG, YC. 2015. **Melittin has a chondroprotective effect by inhibiting MMP-1 and MMP-8 expressions via blocking NF- κ B and AP-1 signaling pathway in chondrocytes.** Int Immunopharmacol. Doi:10.1016/j.intimp.2015.02.021.
- [14] NA, HJ. LEE, WR. KIM, KH. KIM, JY. LEE, SJ. HAN, SM. LEE, KG. LEE, CK. PARK, KK. 2014. **Inhibitory effects of bee venom on *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory skin disease in an animal model.** Int J Mol Med. Doi: 10.3892/ijmm.2014.1933.
- [15] LEE, YJ. KANG, SJ. KIM, BM. KIM, YJ. WOO, HD. CHUNG HW. 2007. **Cytotoxicity of honeybee (*Apis mellifera*) venom in normal human lymphocytes and HL-60 cells.** Chemico-Biological Interactions. Doi.org/10.1016/j.cbi.2007.06.036.
- [16] NAM, KW. JE, KH. LEE, JH. HAN, HJ. LEE, HJ. KANG, SK. MAR, W. 2003. **Inhibition of COX-2 activity and proinflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1beta) production by water-soluble sub-fractionated parts from bee (*Apis mellifera*) venom.** Archives of Pharmacal Research. Doi: 10.1007/BF02976695.

Sobre os Autores

Apohára

About the Authors

Janielle da Silva Melo da Cunha

Professora da Universidade Federal do Amapá, do curso de Licenciatura Intercultural Indígena. Doutoranda em Biotecnologia e Biodiversidade pela UFGD. Mestre em ensino de ciências pela UFMS. Formada em ciências biológicas pela UFMS. Membro do corpo editorial e parecerista *ad-hoc* do *Journal Science and Knowledge in Focus*. Parecerista *ad-hoc* da Revista Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia *Ethnoscientia*. Integrante do Grupo de Estudos em Biotecnologia e Bioprospecção Aplicados ao Metabolismo, GEBBAM. Membro do Núcleo de Pesquisa História da Ciência e Ensino, NUPHCE. Tem experiência como professora de Biologia com ênfase em etnobiologia, ecologia, zoologia, etnofarmacologia, formação de professores e interculturalidade. Desenvolve projetos voltados a bioprospecção de recursos animais aplicados ao metabolismo.

Mbo'ehára Mbo'ehao guasúpe Amapápe, ombo'e mombyte reko ava ha okara rehegua, avei ojeporeka kuation Mbo'ehará Guasu Biotecnologia e Biodiversidade pela UFGD. Mestre em ensino de ciências pela UFMS. Formada em ciências biológicas pela UFMS. Membro do corpo editorial e parecerista *ad-hoc* do *Journal Science and Knowledge in Focus*. Parecerista *ad-hoc* da Revista Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia *Ethnoscientia*. Integrante do Grupo de Estudos em Biotecnologia e Bioprospecção Aplicados ao Metabolismo, GEBBAM. Membro do Núcleo de Pesquisa História da Ciência e Ensino, NUPHCE. Yma omba'apo kuaambo'ehára mba'e tekoverhegua, avei ombo'e mbo'ehará mombyte reko ava ha okara rehegua. Ojeporeka avei mba'e umi pohã mymba rehegua yvypora rete omba'apo ñeambue.

Professor at the Federal University of Amapá, of the Indigenous Intercultural Licentiate course. PhD student in Biotechnology and Biodiversity by UFGD. Master in science education by UFMS. Graduated in biological sciences from UFMS. Member of the editorial board and ad-hoc peer reviewer of the Journal Science and Knowledge in Focus. Ad-hoc advisor of the Brazilian Journal of Ethnobiology and Ethnoecology Ethnoscientia. Member of the Group of Studies in Biotechnology and Bioprospection Applied to Metabolism, GEBBAM. Member of the Research Nucleus History of Science and Teaching, NUPHCE. She has experience as a biology teacher with emphasis in ethnobiology, ecology, zoology, ethnopharmacology, teacher training and interculturality. Develops projects aimed at bioprospecting animal resources applied to metabolism.

Aldrin Cleyde da Cunha

Professor da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Doutor em Educação Matemática pela Universidade Bandeirantes de São Paulo (UNIBAN), Mestre em Educação para as Ciências e o Ensino de Matemática pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), Especialista em Prática Docente para o Ensino Superior e o Uso das Novas Tecnologias e Graduado em Matemática Licenciatura Plena pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Membro do corpo editorial e parecerista *ad-hoc* do *Journal Science and Knowledge in Focus*. Membro do corpo editorial e parecerista *ad-hoc* da revista de Educação Matemática Tangram. Líder do grupo de pesquisa TeiaMat. Atua principalmente nos seguintes temas: Educação Matemática, Etnomatemática, Educação Escolar Indígena, Formação de Professores e Representação Sociais.

Mbo'ehára mbo'e guasúpe Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Mbo'ehára guasu Educação Matemática pela Universidade Bandeirantes de São Paulo (UNIBAN), Mestre em Educação para as Ciências e o Ensino de Matemática pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), Especialista em Prática Docente para o Ensino Superior e o Uso das Novas Tecnologias e Graduado em Matemática Licenciatura Plena pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Membro do corpo editorial e parecerista ad-hoc do Journal Science and Knowledge

in Focus. Membro do corpo editorial e parecerista ad-hoc da revista de Educação Matemática Tangram. Líder do grupo de pesquisa TeiaMat. Omba'apo Papappykuaa Reko, Etnomatemática, Mbo'e mbo'ehararã avei jojapy moha'anga.

Professor at the Federal University of Grande Dourados (UFGD). PhD in Mathematics Education, Universidade Bandeirantes de São Paulo (UNIBAN), Master in Science Education and Mathematics Education at the State University of Maringá (UEM), Specialist in Teaching Practice for Higher Education and the Use of New Technologies and Graduate in Mathematics Full Degree from the Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS). Member of the editorial board and ad-hoc peer reviewer of the Journal Science and Knowledge in Focus. Member of the editorial board and ad-hoc reviewer of the journal Mathematics Education Tangram. He has experience in Mathematics, with emphasis in Mathematics Education and Teacher Training, working mainly in the following subjects: Mathematics Education, Ethnomathematics, Indigenous School Education, Teacher Training and Social Representation.

Edson Lucas dos Santos

Professor na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq na área de Farmácia. Doutor em Biologia Molecular pela Universidade Federal de São Paulo, com mestrado e Pós-Doutorado pela Universidade Federal de São Paulo e pelo Max-Delbrueck Center for Molecular Medicine, Berlin-Alemanha. Graduado em Farmácia e Bioquímica pela Unoeste. Atualmente, é coordenador do programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Rede de Biotecnologia e Biodiversidade (Doutorado) na UFGD. Membro Avaliador do Sistema Nacional de Avaliação da Educação Superior (SINAES). É membro permanente dos programas de Pós-Graduação *Stricto Sensu* Mestrado e Doutorado em Ciências da Saúde, Rede Pró Centro Oeste de Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade e Mestrado em

Biologia Geral e Bioprospecção. Tem experiência na área bioensaios, antioxidantes, citotoxicidade, ação antitumoral, câncer e prospecção de moléculas bioativas de origem natural e sintética.

Mbo'ehára mbo'e guasúpe Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq na área de Farmácia. Doutor em Biologia Molecular pela Universidade Federal de São Paulo, com mestrado e Pós-Doutorado pela Universidade Federal de São Paulo e pelo Max-Delbrueck Center for Molecular Medicine, Berlin-Alemanha. Graduado em Farmácia e Bioquímica pela Unoeste. Atualmente, é coordenador do programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Rede de Biotecnologia e Biodiversidade (Doutorado) na UFGD. Membro Avaliador do Sistema Nacional de Avaliação da Educação Superior (SINAES). É membro permanente dos programas de Pós-Graduação *Stricto Sensu* Mestrado e Doutorado em Ciências da Saúde, Rede Pró Centro Oeste de Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade e Mestrado em Biologia Geral e Bioprospecção. Tem experiência na área bioensaios, antioxidantes, citotoxicidade, ação antitumoral, câncer e prospecção de moléculas bioativas de origem natural e sintética.

Professor at the Federal University of Grande Dourados (UFGD). PhD in Molecular Biology from the Federal University of São Paulo, with a master's and postdoctoral degree from the Federal University of São Paulo and the Max-Delbrueck Center for Molecular Medicine, Berlin-Germany. He holds a degree in Pharmacy and Biochemistry from Unoeste. He is currently coordinator of the *Stricto Sensu* Postgraduate Program in Biotechnology and Biodiversity Network (Doctorate) at UFGD. Member Evaluator of the National System of Evaluation of Higher Education (SINAES). He is a permanent member of the *Stricto Sensu* Master's and PhD Programs in Health Sciences, Pro Centro Centro de Doctorate in Biotechnology and Biodiversity and a Master's Degree in General Biology and Bioprospection. He has experience in the field of bioassays, antioxidants, cytotoxicity, antitumor action, cancer and prospection of bioactive molecules of natural and synthetic origin.

Kely de Picoli Souza

Pró-reitora de Pós-graduação e Pesquisa e professora associada da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Mestre e Doutora em Fisiologia Humana pela USP, com Pós-doutorado em Biologia Molecular pela UNIFESP e Graduada em Ciências Biológicas pela UNESP. Atualmente, é orientadora e membro permanente dos programas de Pós-Graduação *Stricto Sensu*: Ciências da Saúde, Rede Pró Centro Oeste de Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade e Biologia Geral/Bioprospecção. Membro do Instituto de Bioprospecção Molecular e Bioensaios da UFGD (Bioprospec). Experiência em pesquisa e ensino nos temas: plantas medicinais, antioxidante, programação precoce, hormônios, expressão genica, obesidade, dislipidemia, hipertensão e diabetes.

Mbo'ehára guasuetéva Pró-reitora de Pós-graduação e Pesquisa avei mbo'ehara omba'apóva joja Mbo'ehára mbo'e guasúpe Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Mestre e Doutora em Fisiologia Humana pela USP, com Pós-doutorado em Biologia Molecular pela UNIFESP e Graduada em Ciências Biológicas pela UNESP. Atualmente, é orientadora e membro permanente dos programas de Pós-Graduação *Stricto Sensu*: Ciências da Saúde, Rede Pró Centro Oeste de Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade e Biologia Geral/Bioprospecção. Membro do Instituto de Bioprospecção Molecular e Bioensaios da UFGD (Bioprospec). Experiência em pesquisa e ensino nos temas: plantas medicinais, antioxidante, programação precoce, hormônios, expressão genica, obesidade, dislipidemia, hipertensão e diabetes.

Pro-rector of Postgraduate and Research and associate professor of the Federal University of Grande Dourados (UFGD). Master and PhD in Human Physiology from USP, with Post-doctorate in Molecular Biology from UNIFESP and Graduate in Biological Sciences from UNESP. Currently, she is an advisor and permanent member of the *Stricto Sensu* Postgraduate programs: Health Sciences, Pro Centro Centro de Doctorate in Biotechnology and Biodiversity and General Biology / Bioprospection. Member of the Institute of Bioprospecting Molecular and

Bioassays of the UFGD (Bioprospec). Experience in research and teaching in the subjects: medicinal plants, antioxidant, early programming, hormones, genetic expression, obesity, dyslipidemia, hypertension and diabetes.

Atividade antioxidante, anti-hiperglicemiante, e antidiabética do chá de *Apis mellifera*

Janielle da Silva Melo da Cunha^{1,2}, Tamaeh Monteiro Alfredo², Jéssica Maurino dos Santos², Valter Vieira Alves Junior³, Luiza Antas Rabelo⁴, Emerson Silva Lima⁵, Ana Paula de Araújo Boleti², Carlos Alexandre Carollo⁶, Edson Lucas dos Santos^{2,3}, Kely de Picoli Souza^{2,3*}

PLOS ONE | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071>

¹ Campus Binacional Oiapoque, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Amapá, Brasil

²Grupo de Pesquisa em Biotecnologia e Bioprospecção Aplicada ao Metabolismo, Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, Dourados, Brasil

³Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais; Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, Dourados, Brasil

⁴Laboratório de Reatividade Cardiovascular - LRC; Núcleo de Síndromes Metabólicas; Instituto de Ciências Biológicas e Saúde - ICBS, Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Alagoas, Brasil

⁵Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil

⁶ Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas; Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS, Mato Grosso do Sul, Brasil

*Autor correspondente

Email: kelypicoli@gmail.com (KPS)

Resumo

O diabetes é uma das maiores epidemias globais. Estima-se que até 2035 haverá 592 milhões de pessoas diabéticas no mundo. A biodiversidade brasileira e o conhecimento dos povos tradicionais têm contribuído para o tratamento de várias doenças, incluindo diabetes. O chá de abelhas *Apis mellifera* é utilizada por indígenas brasileiros para tratar a diabetes, e este conhecimento tradicional precisa ser registrado e investigado. O objetivo deste estudo foi registrar o uso e avaliar a atividade antioxidante, anti-hiperglicêmica e antidiabética do chá de abelhas de *Apis mellifera*, que é utilizado pelos indígenas Guarani e Kaiowá para o tratamento do diabetes. Entrevistas semi-estruturadas foram realizadas com indígenas Guarani e Kaiowá, do Estado de Mato Grosso do Sul, buscando identificar as espécies animais utilizadas para fins medicinais. Para os procedimentos experimentais, foi utilizado chá preparado com abelhas *Apis mellifera* maceradas. Ensaios *in vitro* foram realizados para avaliar a atividade antioxidante na eliminação direta de radicais livres, na proteção contra a hemólise oxidativa e na peroxidação lipídica foram avaliadas em eritrócitos humanos e o potencial de inibir a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs). *In vivo*, camundongos Swiss machos normoglicêmicos tratados com chá de *Apis mellifera* (AmT) foram submetidos ao teste oral de tolerância à glicose e comparados com grupos controle e tratados com metformina. Os camundongos diabéticos induzidos por dieta foram tratados durante 21 dias com AmT e avaliados quanto aos níveis de glicemia e malondialdeído no sangue, fígado, sistema nervoso e olhos. Durante as entrevistas, os indígenas descreveram o uso do chá de abelha *Apis mellifera* para o tratamento do diabetes. Em ensaios *in vitro*, o AmT mostrou atividade antioxidante direta e reduziu a hemólise oxidativa e a produção de malondialdeído em eritrócitos humanos. O AmT inibiu a formação de AGEs pelas vias de albumina-frutose e produtos metilglioxal. *In vivo*, após sobrecarga oral de glicose, camundongos normoglicêmicos tratados com AmT reduziram a hiperglicemia em todos os tempos avaliados até 180 min. A AmT também reduziu os níveis de hiperglicemia e malondialdeído no sangue, fígado, sistema nervoso e olhos de camundongos diabéticos para níveis semelhantes aos dos camundongos tratados com metformina e controles normoglicêmicos. Em síntese, o chá de abelha *Apis mellifera* apresentou atividade antioxidante, anti-hiperglicêmica e antidiabética, reforçando a indicação do conhecimento indígena Guarani e Kaiowá.

Palavras-chave: Povos indígenas; estresse oxidativo; peroxidação lipídica; diabetes; zooterapia.

Introdução

No Brasil, espécies de animais são usadas na medicina tradicional por várias comunidades como por exemplo as comunidades indígenas [1], e grande parte desse conhecimento ainda não foi cientificamente descrito ou comprovado [2]. O conhecimento zoterapêutico das etnias Guarani e Kaiowá, localizadas na região centro-oeste do Brasil, ainda não foi muito investigado.

Assim, registramos o conhecimento zoterápico das etnias Guarani e Kaiowá que descreveram o uso do chá de abelhas *Apis mellifera* para o tratamento de diabetes. Pesquisas sobre zoterapia são muito importantes para a manutenção cultural e investigações dos seus efeitos farmacológicos [1,2,3].

Substâncias apícolas têm sido usadas desde a antiguidade para diversos fins terapêuticos [4]. Exemplos incluem o uso de mel no tratamento de feridas e queimaduras [5,6], a própolis como agente antioxidante e antitumoral [7,8] e o veneno de abelha para a redução de complicações decorrentes do diabetes, que é um efeito mediado por diminuição da hemoglobina glicada [9]. Além disso, alguns componentes isolados do veneno de abelha, como a melitina, têm efeitos anti-inflamatórios e anti-carcinogênicos [10,11], e o triptofano suprime a elevação da glicose e preserva a secreção de insulina das células β [12], sendo considerado um novo marcador associado ao risco reduzido de diabetes [13].

Neste contexto, vários produtos derivados de abelhas têm sido utilizados na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo e diabetes [14,15,16]. Os antioxidantes são capazes de melhorar diretamente o sistema de defesa endógena [17] e modular os sistemas enzimáticos [18, 19] envolvidos na redução de espécies reativas, especialmente as espécies reativas

de oxigênio (EROs). Essas atividades acabam por impedir o dano celular resultante da peroxidação lipídica da membrana celular [20], a oxidação dos receptores hormonais [21] e alterações no material genético [22], que podem levar a danos sistêmicos irreversíveis, como nefropatia [23], retinopatia [24] e neuropatia periférica [25]. Essas complicações, além de sua relevância individual, são agravadas no contexto do diabetes [26, 27].

Estima-se que a prevalência global da diabetes aumente de 382 para 592 milhões de pessoas entre 2013 e 2035 [28] devido a fatores como envelhecimento, sedentarismo, hábitos alimentares e obesidade. A obesidade está associada ao aumento da produção de EROs [29, 30], e é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de diabetes tipo 2, que é caracterizada por resistência à insulina e homeostase glicêmica desequilibrada [31,32,33].

Assim, compostos com propriedades antioxidantes podem ser uma alternativa terapêutica, pois podem reduzir o estresse oxidativo, a hiperglicemia e as complicações do diabetes [26,34,35].

Nessa perspectiva, este é o primeiro estudo que descreve e avalia a atividade antioxidante, anti-hiperglicêmica e antidiabética do chá de abelha *Apis mellifera* utilizado pelos indígenas Guarani e Kaiowá para o tratamento do diabetes.

Materiais e Métodos

Conhecimento zooterápico

Entrevistas semi-estruturadas (S1 Texto) foram realizadas para registrar informações sobre as espécies e recursos animais utilizados na medicina tradicional dos povos indígenas das etnias Guarani e Kaiowá que vivem no

estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram entrevistados vinte (20) estudantes da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD, Dourados, Brasil) pertencentes às etnias Guarani e Kaiowá (autorizadas pelo Comitê de Ética para pesquisa envolvendo seres humanos da UFGD sob o nº 1.858.827).

As etnias Guarani e Kaiowá estão distribuídas em 21 dos 79 municípios do Mato Grosso do Sul; juntos, eles representam uma população estimada de 42.000 e representam a segunda maior população indígena do Brasil.

Preparação do Chá

As abelhas da espécie *Apis mellifera* foram capturadas de suas colmeias no apiário da Faculdade de Ciências Biológicas da Universidade Federal da Grande Dourados e imediatamente congeladas para evitar alterações metabólicas. O chá foi preparado de acordo com as informações obtidas nas entrevistas: dez abelhas foram maceradas e colocadas em 10 mL de água quente (aproximadamente 100 °C), o que corresponde a aproximadamente 0,1 g de abelhas por mL de água, por 10 min. Após este período de infusão, o chá de *Apis mellifera* (AmT) foi filtrado (filtro de papel Whatman, grau 40) e mantido a 10°C no refrigerador até o uso, que não foi mais do que 48 h após a preparação.

HPLC

O AmT foi analisado por CLAE (Shimadzu), com duas bombas LC-20AD, auto-injetor SIL-20A, detector de arranjo de diodos SPD-M20A (DAD), controlador CBM-20A e forno CTO-20A. O cromatógrafo foi acoplado a um espectrômetro de massa microTOFIII (Bruker Daltonics) com fonte de ionização por eletrospray e analisador de tempo de voo quadrupolar (Q-TOF). A coluna cromatográfica utilizada foi Kinetex C-18 (150 x 2,1 mm, Phenomenex), acoplada

a uma pré-coluna com o mesmo material. A fase móvel foi composta por acetonitrila (B) e água desionizada (A), ambas contendo 1% de ácido fórmico (v / v) sob vazão de 0,3 ml / min e temperatura do forno de 50 °C. O método do gradiente aplicado foi: 0 ± 2 min: 3% B (isocrático), 2 ± 25 min. 3 a 25% de B, 25 - 40 min. 25 a 80% B e 40 ± 43 min. para 80% B (isocrático). Seguido de lavagem e condicionamento da coluna. A fórmula molecular de cada composto foi determinada com base no erro de até 5 ppm e mSigma abaixo de 30.

Atividade de captura de radicais livres ABTS

A atividade antioxidante foi determinada *in vitro*, pela eliminação de radicais livres de 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) (ABTS), como descrito anteriormente por Larrauri et al., [17]. Para este propósito, o AmT foi utilizado nas concentrações de 5, 50, 100, 500 e 1.000 µg/mL. Um total de 20 µL de cada concentração de AmT foi misturado com 1980 µL de ABTS. Os padrões de ácido ascórbico e butil-hidroxitolueno (BHT) foram preparados nas mesmas concentrações utilizadas para o AmT, e três experimentos independentes foram realizados em duplicata. Após 6 min, a absorvância foi registrada a 734 nm com um espectrofotômetro UV/VIS (PG instruments, Ltd.). A porcentagem de inibição do radical ABTS foi calculada de acordo com a equação 1:

$$\text{Atividade de inibição (\%)} = (1 - \text{Abs amostra}/\text{Abs controle}) \times 100 \quad (1)$$

Atividade de captura de radicais livres DPPH

A atividade de captura de radicais livres foi determinada pelo ensaio de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), como descrito anteriormente por Gupta e

Gupta [36], com algumas modificações. A atividade de captura de radicais dos extratos foi avaliada por meio de uma série de diluições, que envolveu a mistura de 1,8 mL de solução de DPPH (0,11 mM DPPH em etanol a 80%) com 0,2 mL de AmT ($5 \pm 1000 \mu\text{g} / \text{mL}$). Após 30 min, os radicais DPPH restantes foram quantificados por absorção a 517 nm. A absorbância de cada concentração do AmT foi subtraída da absorbância das amostras com solução de DPPH. O ácido ascórbico e o butil-hidroxitolueno (BHT) foram utilizados como antioxidantes de referência. Os testes foram realizados em duplicata em três experimentos independentes. A solução de DPPH sem a amostra testada foi usada como controle. A percentagem de inibição foi calculada a partir do controle com a seguinte equação 2:

$$\text{Atividade de inibição (\%)} = (1 - \text{Abs amostra} / \text{Abs controle}) \times 100 \quad (2)$$

Hemólise oxidativa induzida por AAPH

O procedimento experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da UFGD (autorização n.º 1.627.746). A capacidade do AmT em proteger contra a hemólise oxidativa foi avaliada através da hemólise induzida pelo agente oxidante dicloridrato de 2,2'-azobis (2-metilpropionamida) (AAPH) [37]. Quinze mililitros de sangue periférico humano de um único indivíduo adulto saudável foram coletados. O sangue foi centrifugado a 2.000 rpm e o plasma e a camada de leucócitos foram descartados. Os eritrócitos foram lavados três vezes em NaCl a 0,9% e após a lavagem, foi preparada uma suspensão de eritrócitos a 10% em NaCl a 0,9%. Posteriormente, o material foi incubado a 37°C por 30 min em tubos de ensaio na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico ou AmT (50, 100,

500, 1000 µg/ml). Subsequentemente, 0,9% de NaCl ou 50 mM de AAPH foram adicionados para avaliar a capacidade hemolítica e a inibição da hemólise oxidativa, respectivamente. As amostras foram mantidas a 37°C por 240 min com agitação periódica. Três experimentos independentes foram realizados em duplicata. A porcentagem de hemólise foi determinada medindo a absorvância a 540 nm e usando a Eq 3:

$$\text{Hemólise (\%)} = (\text{Abs amostra} / \text{Abs hemólise total}) \times 100 \quad (3)$$

Níveis de MDA em eritrócitos humanos

Os ensaios de peroxidação lipídica foram realizados com suspensões de eritrócitos a 10%. Os eritrócitos foram incubados a 37 °C por 30 min na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico ou AmT (50, 100, 500, 1000 µg / ml). Posteriormente, AAPH 50 mM foi adicionado à solução de eritrócitos e incubado a 37°C por 4 h com agitação periódica. Após este período de tempo, as amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm e alíquotas de 500 µL do sobrenadante foram transferidas para tubos contendo 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 10 nmol. Como padrão, 500 µL de solução de malondialdeído (MDA) 20 µM foram adicionados a 1 mL de TBA. As amostras foram incubadas a 96°C durante 45 min. Em seguida, 4 mL de álcool n-butílico foram adicionados e centrifugados a 2.000 rpm. A absorvância dos sobrenadantes foi medida a 532 nm. Dois experimentos independentes foram realizados em triplicata. A concentração de MDA nas amostras é expressa em nmol / mL e foi obtida da Eq 4:

$$\text{MDA} = \text{Abs amostra} \times (20 \times 220.32 / \text{Abs controle}) \quad (4)$$

Teste oral de tolerância à glicose em camundongos normoglicêmicos

Todos os procedimentos experimentais em animais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da UFGD (autorização nº 25.2016) e realizados de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O teste oral de tolerância à glicose (OGTT) foi realizado após 12 horas de jejum em 15 camundongos Swiss machos normoglicêmicos, pesando entre 55 e 60 g. Os camundongos receberam água, metformina (100 mg / kg de peso corporal) ou AmT (200 mg / kg de peso corporal), respectivamente, formando os seguintes grupos: (1) Controle, (2) Metformina e (3) AmT. Após 30 min de tratamento, os camundongos receberam sobrecarga de glicose por gavagem (2 g / kg de peso corporal). Nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 180 min após a administração de glicose, a glicemia dos camundongos foi medida usando sangue venoso caudal [38] usando o medidor de glicose Accu-chek Active (Roche) e tiras específicas.

Avaliação da glicemia e dos níveis de MDA tecidual em camundongos diabéticos

Camundongos machos Swiss normoglicêmicos com 60 dias de idade foram mantidos sob temperatura controlada (22 ± 2 °C) num ciclo escuro de 12 horas luz e 12 horas escuro com livre acesso a comida e água.

Os camundongos foram alimentados por 120 dias com uma dieta controle (ração padrão Labina para roedores) ou uma dieta de alto teor calórico para a indução de hiperglicemia [32]. Após este período, os níveis de glicose no sangue

foram medidos usando o dispositivo Accu-chek Active (Roche1) e tiras de teste de glicose específicas. Camundongos hiperglicêmicos (glicemia ≥ 200 mg/dL) alimentados com dieta hipercalórica foram divididos aleatoriamente (n=5 por grupo) e tratados por 21 dias com água (Grupo D-Controle), 100 mg/kg de peso corporal (Grupo D-Metformina), ou 200 mg/kg de peso corporal de AmT (Grupo D-AmT). Camundongos normoglicêmicos com dieta controle e água formaram o Grupo ND-Controle (n = 5).

No final do tratamento, o nível de glicose no sangue dos camundongos foi medido novamente. Os camundongos foram então anestesiados e eutanasiados. O sangue arterial foi coletado por punção cardíaca, e o fígado, o sistema nervoso e os olhos foram coletados para a medição do MDA por um método adaptado de [39]. Amostras de sangue arterial e tecidos foram homogeneizados com KCl 1,15% (cloreto de potássio) e centrifugados a 3.000 rpm por 10 min. Em seguida, 500 μ L do sobrenadante da amostra ou 500 μ L do padrão MDA 20 μ M foram adicionados a 1 mL de ácido tricloroacético a 10% (TCA) e 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 10 nmol e incubados a 96 °C por 45 min.

Depois de resfriar durante 15 min em banho de gelo, adicionaram-se 3 mL de álcool n-butíco e a mistura foi agitada em vórtex e centrifugada a 3000 rpm durante 5 min. Subsequentemente, a absorbância de 2 mL do sobrenadante foi medida a 532 nm em espectrofotômetro UV / VIS. A concentração de MDA nas amostras é expressa em nmol/mL e foi obtida da Eq (5):

$$MDA = Abs amostra \times (20 \times 220.32 / Abs controle) \quad (5)$$

Parâmetros biométricos de camundongos diabéticos. O peso corporal (g), consumo de água (mL) e ração (g) foram avaliados três vezes por semana durante os 21 dias de tratamento. Além disso, diferentes depósitos de tecido adiposo branco (epididimal, subcutâneo, mesentérico e retroperitoneal) foram removidos e pesados após a eutanásia.

Ensaio de inibição de glicação

O potencial de inibir a glicação foi realizado considerando a via da frutose e metilglioxal como descrito por Kiho et al., [40]. Albumina de soro bovino 8 mg/mL, frutose 0,1 mM e metilglioxal 30 mM foram preparados em tampão fosfato 0,2 M, pH 7,4, contendo azida de sódio 3 mM, como agente antimicrobiano. A 30 µL de AmT ($1 \pm 1000 \mu\text{g} / \text{ml}$) foi misturado com 135 µL de albumina sérica bovina e 135 µL de frutose ou 135 µL de metilglioxal. A reação de mistura foi incubada a 37°C por 48 horas ou 72 horas (sob condições estéreis no escuro), para inibição da glicação frutose ou via glioxal, respectivamente. Após este período, cada amostra foi examinada para o desenvolvimento de fluorescência usando um leitor de microplacas DTX 800, Beckman (λ_{ex} 330 nm e λ_{em} 420 nm) contra um branco. A quercetina ($1 \pm 1000 \mu\text{g} / \text{mL}$) foi usada como padrão. O controle consistiu em misturar 30 µL de etanol a 80% com 135 µL de albumina de soro bovino e 135 µL de frutose ou 135 µL de metilglioxal. Três experimentos independentes foram realizados em triplicata. A porcentagem de inibição da glicação foi obtida pela Eq (6) e os valores da IC_{50} foram obtidos por regressões não lineares da curva concentração-resposta.

$$\text{Inibição da glicação (\%)} = [1 - (\text{Fluorescência} / \text{Fluorescência})] \times 100 \quad (6)$$

Análises estatísticas

Os resultados são expressos como as médias \pm erro padrão da média. A análise de variância (ANOVA) seguida da análise pós-teste de *Student-Newman-Keuls* foi usada para comparações múltiplas de resultados, e o teste *t de Student* foi usado para comparar os resultados de ambos os grupos usando o software Prism 5 GraphPad. O nível de significância foi $P < 0,05$.

Resultados

Conhecimento zoterápico. Nas entrevistas realizadas com vinte indígenas Guarani e Kaiowá, com idade entre 20 e 40 anos, quanto às espécies animais utilizadas na medicina tradicional, 30% descreveram o uso do chá de abelha *Apis mellifera* para o tratamento do diabetes. Esse uso foi relatado por indivíduos com idade entre 30 e 40 anos.

HPLC. O AmT foi filtrado e analisado em HPLC-DAD-MS / MS nos modos de ionização positiva e negativa, observamos uma ionização significativa apenas no modo de ionização positiva (S1 Fig) que foi usado para caracterizar o derivado de triptofano, bem como 16 outros compostos que ainda precisam ser identificados (Tabela S1).

Atividade antioxidante

Captura de radicais livres ABTS e DPPH. O AmT apresentou excelente atividade antioxidante direta com valor de IC_{50} semelhante ao do BHT e maior do que o do ácido ascórbico (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade de captura de radicais livres ABTS e DPPH do chá de abelhas *Apis mellifera* (AmT) e dos controles antioxidantes ácido ascórbico (AA) e BHT.

Amostra	ABTS			DPPH		
	IC ₅₀	Inibição Máxima		IC ₅₀	Inibição Máxima	
	µg/mL	%	µg/mL	µg/mL	%	µg/mL
AA	3,39 ± 0,02	97,30 ± 0,14	10	4,55 ± 0,05	94,77 ± 0,11	50
BHT	13,12 ± 0,13	95,79 ± 0,26	50	21,21 ± 0,8	86,77 ± 0,18	500
AmT	15,63 ± 0,06	95,33 ± 0,68	100	33,74 ± 0,8	87,25 ± 0,44	500

IC₅₀, concentração necessária para capturar 50% de ABTS e 50% de radicais livres de DPPH da reação. Os valores são expressos como médias ± erro padrão da média.

AAPH-Induced Oxidative Hemolysis. A atividade antioxidante do AmT também foi confirmada pela eliminação de radicais livres gerados pela termólise do AAPH no ensaio em eritrócitos humanos. O AmT reduziu eficientemente a hemólise oxidativa dos eritrócitos de maneira dose-dependente, similar a todas as concentrações de ácido ascórbico (Fig. 1), exceto para 1.000 µg/mL, dose na qual o ácido ascórbico se comporta como uma substância pró-oxidante.

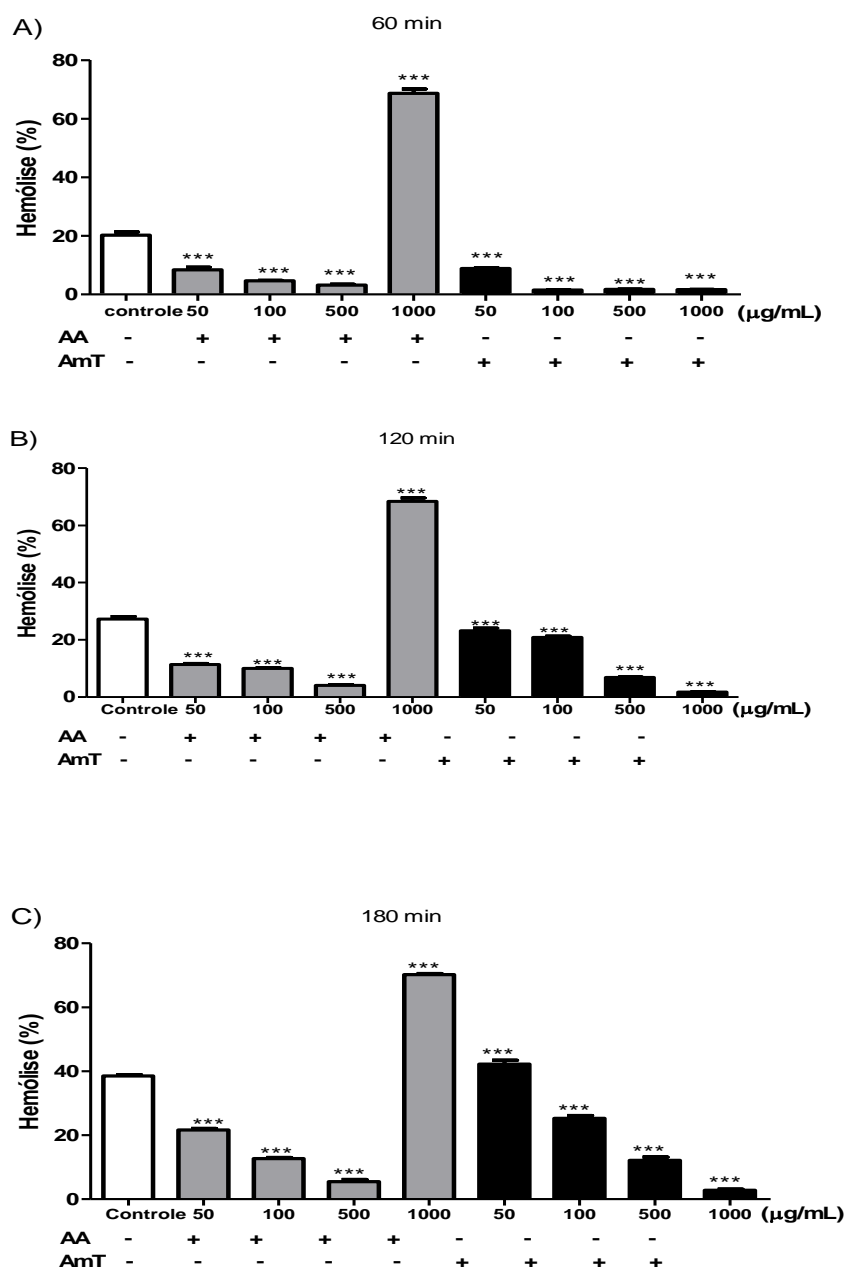


Fig. 1. Hemólise oxidativa induzida por AAPH. Eritrócitos humanos incubados com diferentes concentrações (50-1.000 µg / mL) de ácido ascórbico (AA) e chá de abelha *Apis mellifera* (AmT) (A) 60, (B) 120 e (C) 180 min após a adição de AAPH. Os valores são apresentados como as médias \pm erro padrão da média. * P <0,05; ** P <0,01; e *** P <0,001 versus amostra de controle.

Níveis de MDA em eritrócitos humanos. Uma vez confirmada a proteção contra a hemólise oxidativa, investigou-se sua correlação com a redução da peroxidação lipídica, avaliando o marcador malondialdeído (MDA) em eritrócitos induzidos com AAPH. A figura 2 indica que os eritrócitos incubados com concentrações superiores a 100 µg/mL de AmT demonstraram geração reduzida de MDA, semelhante às observações em eritrócitos incubados com ácido ascórbico, exceto na maior concentração avaliada de 1.000 µg/mL, na qual o ácido ascórbico demonstra atividade pró-oxidante.

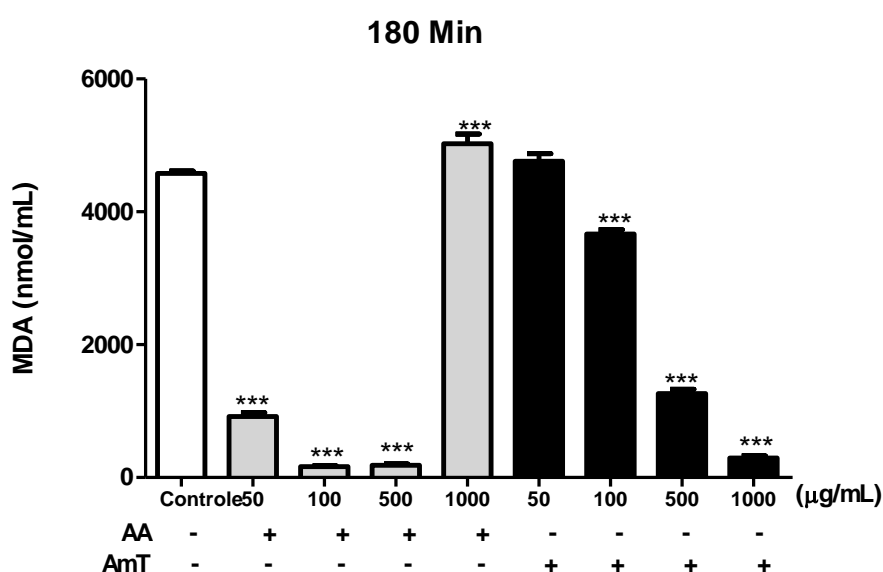


Fig. 2. Níveis de MDA em eritrócitos humanos. Concentração de malondialdeído (MDA) 180 min após a adição do agente oxidante (AAPH) em eritrócitos incubados com diferentes concentrações (50-1.000 mg / mL) de ácido ascórbico (AA) ou chá de abelha *Apis mellifera* (AmT). Os valores são apresentados como as médias \pm erro padrão da média. * P <0,05; ** P <0,01; e *** P <0,001 versus amostra controle.

Atividade anti-hiperglicemiante

Teste oral de tolerância à glicose em camundongos

normoglicêmicos. Após a sobrecarga oral de glicose, os camundongos

normoglicêmicos tratados com AmT apresentaram um pico de hiperglicemia reduzido após 30 min e valores de glicose no sangue mais baixos avaliados em até 180 min em comparação com os camundongos controles (Fig. 3A). Essa redução na hiperglicemia sérica também pode ser observada na área sob a curva, o que mostra que a AmT é mais eficiente em comparação com o tratamento de controle metformina (Fig. 3B).

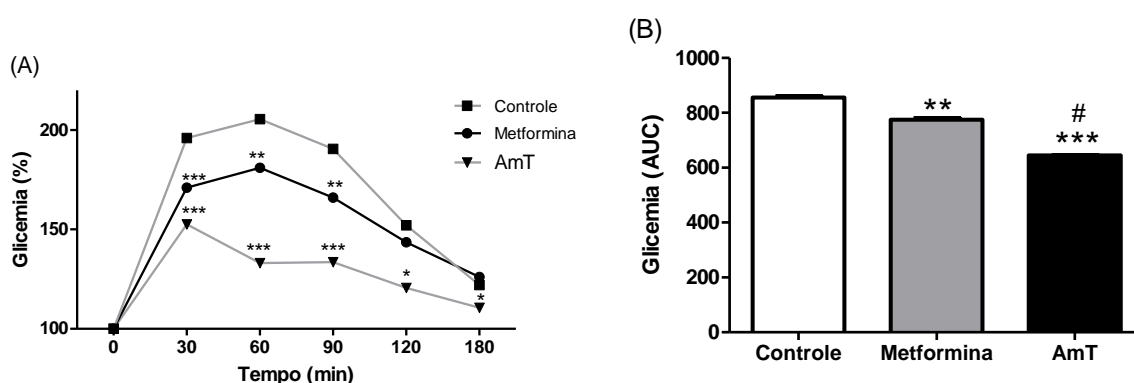


Fig. 3. Teste oral de tolerância à glicose em camundongos normoglicêmicos. (A) Variação e (B) área sob a curva de glicemia a 0, 30, 60 e 180 min para camundongos tratados com água, metformina e AmT após sobrecarga de glicose. * P <0,05; ** P <0,01; e *** P <0,001 versus grupo Controle. # P <0,001 versus grupo Metformina.

Atividade antidiabética

Glicemia de camundongos diabéticos. A avaliação da glicemia em camundongos diabéticos induzidos por dieta hipercalórica no primeiro (1) e último (21) dias de tratamento demonstrou a atividade antidiabética do AmT. A Figura 4 demonstra que a AmT reduziu a hiperglicemia de ratos diabéticos de forma semelhante ao tratamento com metformina e ao controle normoglicêmico.

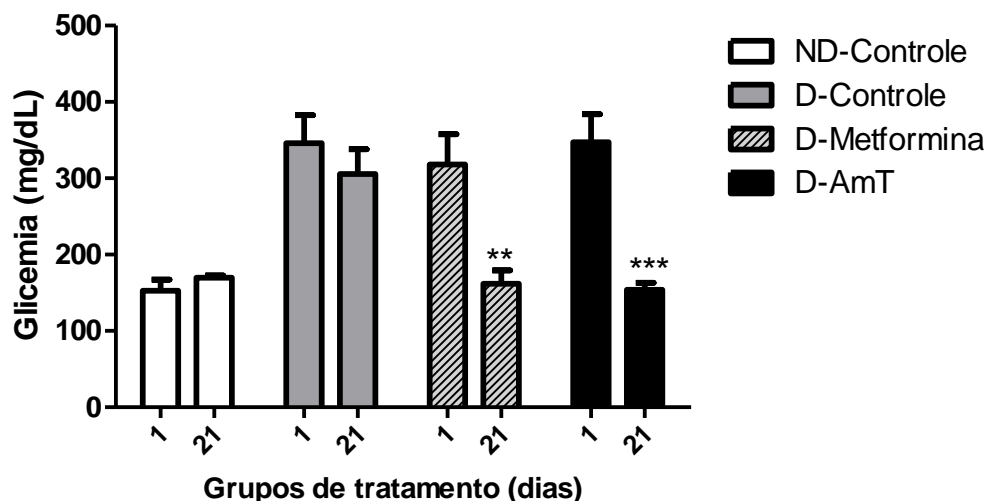


Fig. 4. Glicemia de camundongos diabéticos induzidos por dieta normoglicêmica e hipercalórica tratados por 21 dias. Glicemia em camundongos dos grupos ND-Control (normoglicêmico + água), D-Control (diabético + água), D-Metformina (diabético + metformina) e D-AmT (diabético + AmT) nos dias 1 e 21 do tratamento. Os valores foram comparados entre os dias 1 e 21 para cada grupo experimental. ** P <0,01 e *** P <0,001 versus dia 1 do respectivo grupo.

Parâmetros biométricos de camundongos diabéticos. Os parâmetros biométricos avaliados durante o tratamento são apresentados na Tabela 2. Os camundongos diabéticos apresentaram peso corporal reduzido em comparação aos animais normoglicêmicos, embora não tenha sido observada variação no consumo de ração entre os grupos. O consumo de água de camundongos diabéticos foi aproximadamente 3 vezes maior que o de camundongos normoglicêmicos. O tratamento com AmT reduziu a ingestão de água para níveis semelhantes aos dos grupos controle normoglicêmico e metformina. Além disso, uma redução do tecido adiposo branco subcutâneo foi observada em camundongos diabéticos tratados com água em comparação com camundongos diabéticos tratados com metformina ou AmT ou com

camundongos normoglicêmicos. Os outros depósitos avaliados foram semelhantes entre os grupos investigados.

Tabela 2. Parâmetros biométricos e consumo de ração e água de camundongos não diabéticos (ND) diabéticos tratados com água (D-Controle), metformina (D-Metformina) e chá de abelha *Apis mellifera* (D-AmT) por 21 dias.

Parâmetros	ND-Controle	D-Controle	D-Metformina	D-AmT
Δ massa corporal (%)	5,9 ± 0,2 ^a	-13,7 ± 0,4 ^b	-9,8 ± 0,3 ^c	-13,8 ± 0,3 ^b
Consumo de ração (g/dia/animal)	4,2 ± 0,5 ^a	3,3 ± 0,4 ^a	3,9 ± 0,7 ^a	3,9 ± 0,4 ^a
Ingesta de água (mL/dia/animal)	2,7 ± 0,3 ^a	8,3 ± 0,7 ^b	2,1 ± 0,4 ^a	1,8 ± 0,4 ^a
TAB Subcutaneo (g/100 g de massa corporal)	0,29 ± 0,07 ^a	0,08 ± 0,02 ^b	0,18 ± 0,05 ^a	0,23 ± 0,06 ^a
TAB Mesenterico (g/100 g de massa corporal)	0,68 ± 0,15 ^a	1,12 ± 0,27 ^a	0,96 ± 0,26 ^a	1,23 ± 0,31 ^a
TAB Epididimal (g/100 g de massa corporal)	2,99 ± 0,30 ^a	2,09 ± 0,41 ^a	1,63 ± 0,49 ^a	1,97 ± 0,26 ^a
TAB Retroperitoneal (g/100 de massa corporal)	0,75 ± 0,11 ^a	0,71 ± 0,08 ^a	0,78 ± 0,20 ^a	0,98 ± 0,22 ^a

Δ, variação da massa corporal entre o início e o final do tratamento de 21 dias expresso em%; TAB, tecido adiposo branco. Letras diferentes indicam P <0,05 entre os grupos.

Níveis de MDA no tecido de camundongos diabéticos. Comparado com camundongos normoglicêmicos, camundongos diabéticos tratados com água (D-Control) apresentaram níveis aumentados de MDA no sangue arterial (76%), fígado (64%), sistema nervoso (152%) e olhos (142%). (Fig. 5). Camundongos diabéticos tratados com AmT apresentaram níveis reduzidos de MDA no sangue (37%), fígado (37%), sistema nervoso (48%) e olhos (48%) em comparação ao grupo D-Controle e níveis similares aos dos grupos controle metformina e normoglicêmico (Fig. 5). Não foram observadas diferenças na massa relativa dos órgãos entre os grupos avaliados.

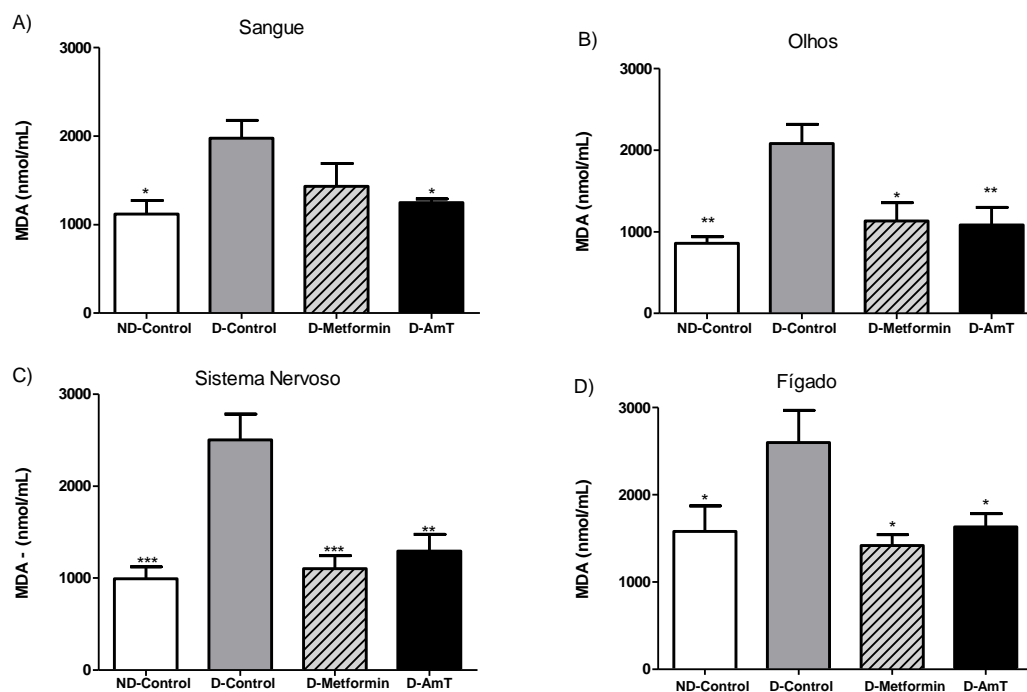


Fig. 5. Concentração de malondialdeído (MDA) no sangue arterial, fígado, sistema nervoso e olhos de camundongos normoglicêmicos e diabéticos. Os grupos incluem ND-Controle (normoglicêmico + água), D-Controle (diabético + água), D-Metformina (diabético + metformina) e D-AmT (diabético + AmT) após 21 dias de tratamento. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; e *** $P < 0,001$ versus grupo D-Controle.

Ensaio de inibição da glicação. O potencial em inibir a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) é apresentado na Tabela 3. O AmT foi capaz de inibir 53,23% de glicação pela via metilglioxal e 98,73% pela via da frutose.

Tabela 3. Ensaio de inibição da glicação

Amostra	Metilglioxal			Frutose		
	IC ₅₀	inibição		IC ₅₀	inibição	
	$\mu\text{g/mL}$	%	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	%	$\mu\text{g/mL}$
Quercetina	35.57 ± 0.85	80.13 ± 0.34	100	0.31 ± 0.02	99.23 ± 0.84	100
AmT	932.63 ± 0.13	53.23 ± 1.54	1000	111.67 ± 3.51	98.73 ± 2.82	1000

O potencial de inibição da glicação pelas vias metilglioxal e frutose para o controle Quercetina e AmT. Os valores IC₅₀ foram obtidos por regressões não lineares da curva concentração-resposta.

Discussão

O conhecimento tradicional indígena sobre zooterapia é o resultado de séculos de experiências acumuladas e práticas culturais. No entanto, com a globalização e a interculturalidade, esse conhecimento, que permanece pouco investigado, está sendo perdido com o tempo. São necessários registros e pesquisas científicas para que as experiências acumuladas ao longo dos séculos não sejam perdidas, privando assim as gerações futuras e outras comunidades desse conhecimento. As pesquisas sobre zooterapia no Brasil é um desenvolvimento recente [2,41,42], e nenhum estudo sobre o conhecimento das etnias Guarani e Kaiowá foi realizado. Assim, este estudo contribui para a manutenção dessas informações e para a revitalização cultural, registrando e avaliando o uso do chá de abelha *Apis mellifera* para o tratamento do diabetes.

Na caracterização de compostos químicos, o composto 1 apresentou UV compatível com triptofano e um m/z 188.0706 compatível com o esqueleto triptofano sem o grupo amônio, assim como 16 outros compostos que ainda precisam ser identificados. A capacidade de triptofano de reduzir a elevação da glicose no sangue e melhorar a secreção de insulina a partir de células β [12] pode ter contribuído para a normalização glicêmica em camundongos diabéticos tratados com AmT. A presença de triptofano no sangue tem sido considerada um marcador de menor risco de desenvolvimento de diabetes [13]. Para os outros compostos, observamos duas séries de compostos, compostos 3 e 4 com as

fórmulas $C_{15}H_{22}O_9$ e $C_{16}H_{24}O_{10}$, respectivamente, ambos sem absorção na região UV e sem fragmentos de MS/MS. A busca por compostos semelhantes na literatura não retornou resultados. A segunda série é formada pelos compostos de número 2, 5 e 17 que têm dois nitrogênios em sua composição com aumento do comprimento da cadeia carbônica (C_{10} a C_{20}), além de 1 ou 2 oxigênios, nenhum destes compostos também possuem absorção na região no UV espectro. Novamente, a busca de compostos compatíveis na literatura não retornou resultados positivos. Diversos autores demonstram a presença de ceras na composição corporal de abelhas e outros insetos, mas estes não apresentam nitrogênio em sua composição [43, 44]. Acreditamos que ambas as classes de compostos podem ser novas na literatura; infelizmente, uma caracterização positiva exigirá outro trabalho com esse foco.

O estresse oxidativo promove defeitos de secreção de insulina, diminui a sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos e causa outras complicações associadas ao diabetes, e o controle do estresse oxidativo é útil no tratamento do diabetes [45]. A atividade antioxidante é importante em sistemas biológicos expostos a excesso de espécies reativas. Por exemplo, as células musculares cultivadas na presença de um indutor de EROs mostram captação de glicose reduzida que é superada com o tratamento com substâncias antioxidantes [45, 46].

No presente estudo, o AmT mostrou potencial antioxidante, anti-hiperglicêmico e antidiabético. A atividade antioxidante do AmT foi demonstrada *in vitro* pela eliminação direta de espécies reativas ABTS e DPPH, a inibição da peroxidação lipídica induzida por AAPH e a redução da hemólise oxidativa e produção de malondialdeído em eritrócitos humanos. A peroxidação de ácidos

graxos poliinsaturados na membrana celular, que é induzida pelo excesso de radicais livres [47], causa dano e morte celular [48] e a liberação de malondialdeído (MDA), um derivado da peroxidação lipídica [49]. Nossos resultados sugerem uma sinergia entre compostos com propriedades antioxidantes obtidos de abelhas totais maceradas em comparação com antioxidantes sintéticos, ácido ascórbico e BHT. Recentemente, [50] observaram que o veneno de abelha *Apis mellifera iberiensis* tinha atividade antioxidante, mas não puderam atribuir essa atividade aos principais compostos, que foram identificados como melitina, fosfolipase A2 e apamina.

A atividade anti-hiperglicêmica da AmT foi indicada *in vivo* pelo controle da hiperglicemia pós-prandial em camundongos normoglicêmicos submetidos à sobrecarga de glicose, e essa atividade foi semelhante à da metformina. Embora o principal dano celular relacionado ao diabetes seja causado pela exposição prolongada à hiperglicemia, as estratégias para controlar os picos de hiperglicemia pós-prandial foram associadas à redução do dano vascular em pacientes diabéticos [51, 52]. Considerando o curto tempo entre a administração de AmT e o controle glicêmico melhorado, é possível inferir que mecanismos de ação rápida estão sendo ativados, como a translocação de GLUT4 no tecido muscular esquelético e tecido adiposo branco [53] ou a ativação de quinases, que é importante em processos relacionados à sensibilidade à insulina e à captação de glicose [54], mas esses mecanismos ainda precisam ser investigados. Além disso, [55] relataram que a administração de veneno de abelha (apitoxina) em ratos diabéticos induzidos por aloxano aumentou a secreção sérica de insulina e reduziu os níveis de glicose no sangue. No entanto, a melitina, o principal constituinte da apitoxina, melhora a sensibilidade à insulina

através da ativação da fosfolipase A2 em camundongos diabéticos induzidos por dieta [56]. Tanto a apitoxina quanto a melitina podem ter contribuído para o controle glicêmico observado neste estudo, embora a resistência à insulina seja o mecanismo predominante que desencadeia o diabetes induzido pela dieta [57, 58, 59], que foi o modelo usado neste estudo.

Além disso, em camundongos diabéticos tratados com AmT, a redução dos parâmetros glicêmicos a níveis semelhantes aos controles como metformina e normoglicêmicos e a redução da peroxidação lipídica foram observadas nos diferentes tecidos e órgãos avaliados.

O envolvimento do estresse oxidativo na etiologia e na progressão do diabetes criou oportunidades para o desenvolvimento de terapias antidiabéticas ligadas ao bloqueio das vias oxidativas com o uso de substâncias antioxidantes [40, 60]. No diabetes, a hiperglicemia intensifica o estresse oxidativo através de mecanismos que envolvem aumento da atividade da enzima aldose redutase, proteína-quinases [61] e formação de produtos finais de glicação avançada [62]. A glicação de proteínas ocorre comumente em reações não enzimáticas, chamadas de reação de Maillard, ocorrendo entre grupos amino livres de proteínas e grupos carbonila de açúcares redutores como glicose, frutose, pentoses, galactose, manose e xilulose, formando um composto instável, a base de Schiff, que sofre um rearranjo para um produto mais estável conhecido como produto de Amadori [63]. O produto de Amadori degrada a uma variedade de compostos dicarbonílicos reativos, como o metilglioxal e desoxiglicosona, por desidratação, oxidação e outras reações químicas [64]. Na formação de AGEs, espécies reativas de oxigênio podem ser geradas e aumentar o estresse

oxidativo levando a danos estruturais e funcionais de macromoléculas [40, 63, 64]. A capacidade do AmT inibir a formação de AGEs pelas vias da frutose foi nove vezes mais significativa do que a inibição da reação dos produtos metilglioxal, aumentando a possibilidade de que este seja um dos mecanismos de ação do AmT, contribuindo para a melhora da glicemia controle e complicações do diabetes. A metformina é eficaz no controle do diabetes porque tem atividades antioxidantes e anti-hiperglicêmicas mediadas por diferentes mecanismos [65,66].

Recomenda-se a avaliação periódica dos produtos de peroxidação lipídica no diabetes, pois sua detecção e tratamento precoce reduzem as complicações diabéticas, como disfunção endotelial, neuropatia e retinopatia, que são mediadas pelo excesso de espécies reativas atingindo diferentes tecidos [67,68]. O efeito protetor do AmT foi indicado pela redução da peroxidação lipídica nos órgãos e tecidos de camundongos diabéticos; estes camundongos apresentaram níveis de MDA semelhantes aos animais normoglicêmicos no final do tratamento. Este efeito foi também observado em camundongos diabéticos tratados com combinações de probióticos e vitamina C [69]. Além disso, parâmetros que demonstram melhora do diabetes, como a normalização do consumo de água e a manutenção da deposição de tecido adiposo branco subcutâneo [33, 70], foram observados neste estudo.

Conclusões

O chá de abelha *Apis mellifera*, utilizado para tratamento de diabetes pelos grupos indígena Guarani e Kaiowá, mostrou neste estudo potencial

antioxidante, sendo eficiente no controle da hiperglicemia pós-prandial de camundongos normoglicêmicos e glicemia normalizada em camundongos diabéticos. Esses dados são importantes porque contribuem para o registro do conhecimento zoterapêutico tradicional utilizado no tratamento do diabetes.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse em relação à publicação deste artigo.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul - FUNDECT, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e a Agência Federal de Apoio e Avaliação de Pós-Graduação. Educação - CAPES e FUNDECT / CAPES nº 27/2015 - PAPOS FASE III.

Referências

1. Costa-neto EM. Healing with animals in Feira de Santana City , Bahia , Brazil. 1999;65(March 1998):225–30. doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00158-5.
2. Alves RRN, Alves HN. The faunal drugstore : Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. J Ethnobiol Ethnomed [Internet]. BioMed Central Ltd; 2011;7(1):9. Available from: <http://www.ethnobiomed.com/content/7/1/9doi:10.1186/1746-4269-7-9>.

3. Lev E. Traditional healing with animals (zootherapy): Medieval to present-day Levantine practice. *J Ethnopharmacol.* 2003;85(1):107–18.. doi:10.1016/S0378-8741(02)00377-X.
4. Maurício J, Bankova V. Propolis : Is there a potential for the development of new drugs ? 2011;133:253–60. doi:10.1016/j.jep.2010.10.032.
5. Nazrul-Islam SK, Ferdous AJ, Hassan CM, Hassan M, Sultana S. Screening of honey for its antibacterial properties against pathogenic bacteria including resistant strains of *Shigella*. *Fitoterapia-Milano.*1993;64(2): 176-178.
6. Takzaree N, Hassanzadeh G, Rouini MR. Evaluation of the Effects of Local Application of Thyme Honey in Open Cutaneous Wound Healing. *Iranian Journal of Public Health.* 2017;46(4):545–51. .
7. Campos JF, Pereira U, Damião MJ, Benedito J, Balestieri P, Andrea C, et al. Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015. doi: 10.1155/2015/296186.
8. Bonamigo T, Campos JF, Alfredo TM, Benedito J, Balestieri P, Andrea C, et al. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;1038153. doi: 10.1155/2017/1038153.
9. Behroozi J, Divsalar A, Saboury AA. Honey bee venom decreases the complications of diabetes by preventing hemoglobin glycation. *J Mol Liq [Internet]. Elsevier B.V.;* 2014;199:371–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2014.09.034>
10. Park JH, Park B, Park KK.. Suppression of Hepatic Epithelial-to-Mesenchymal Transition by Melittin via Blocking of TGF β /Smad and MAPK-JNK Signaling Pathways. *Toxins.* 2017;9(4), 138; doi:10.3390/toxins9040138.
11. Rady I, Siddiqui IA, Rady M, Mukhtar H. Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy. *Cancer Lett.* 2017;402:16-31. doi: 10.1016/j.canlet.2017.05.010.
12. Inubushi T, Kamemura N, Oda M, Sakurai J, Nakaya Y, Harada N, et al. L-tryptophan suppresses rise in blood glucose and preserves insulin secretion

in type-2 diabetes mellitus rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* [Internet]. 2012;58(6):415–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23419400>

13. Chen T, Zheng X, Ma X, et al. Tryptophan Predicts the Risk for Future Type 2 Diabetes. Guillemin GJ, ed. *PLoS ONE*. 2016;11(9):e0162192. doi:10.1371/journal.pone.0162192.
14. Khalil SR, Abd-Elhakim YM, Selim ME, Al-Ayadhi LY.. Apitoxin protects rat pups brain from propionic acid-induced oxidative stress: The expression pattern of Bcl-2 and Caspase-3 apoptotic genes. *Neurotoxicology*. 2015;49:121-31. doi: 10.1016/j.neuro.2015.05.011.
15. Azman KF, Zakaria R, Abdul Aziz CB, Othman Z. Tualang Honey Attenuates Noise Stress-Induced Memory Deficits in Aged Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:1549158. doi:10.1155/2016/1549158.
16. Shibata T, Shibata S, Shibata N, et al. Propolis, a Constituent of Honey, Inhibits the Development of Sugar Cataracts and High-Glucose-Induced Reactive Oxygen Species in Rat Lenses. *Journal of Ophthalmology*. 2016;2016:1917093. doi:10.1155/2016/1917093.
17. Larrauri JA, Rupérez P, Saura-Calixto F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J Agric Food Chem*. 1997;45:1390–3. doi: 10.1021/jf960282f.
18. Leonarduzzi G, Sottero B, Poli G. Targeting tissue oxidative damage by means of cell signaling modulators: The antioxidant concept revisited. *Pharmacol Ther* [Internet]. Elsevier Inc.; 2010;128(2):336–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.08.003>
19. Likidlilid A, Patchanans N, Peerapatdit T, Sriratanasathavorn C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of type 2 diabetic patients. *J Med Assoc Thai*. 2010;93(6):682-93.
20. Fatani SH, Babakr AT, NourEldin EEM, Almarzouki AA. Lipid peroxidation is associated with poor control of type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab*

Syndr Clin Res Rev. 2016; 2016;(15)30061-8. doi: 10.1016/j.dsx.2016.01.028.

21. Magder S. Reactive oxygen species : toxic molecules or spark of life ? 2006;8:1–8.. doi:10.1186/cc3992.
22. Svilar D, Goellner EM, Almeida KH, Sobol RW. Base Excision Repair and Lesion-Dependent Subpathways for Repair of Oxidative DNA Damage. Antioxidants & Redox Signaling. 2011;14(12):2491-2507. doi:10.1089/ars.2010.3466.
23. Kanwar YS, Wada J, Sun L, Xie P, Wallner EI, Chen S, et al. Diabetic Nephropathy: Mechanisms of Renal Disease Progression. Exp Biol Med [Internet]. 2008;233(1):4–11. Available from: <http://ebm.rsmjournals.com/cgi/doi/10.3181/0705-MR-134>.
24. Madsen-Bouterse SA, Kowluru RA. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. Rev Endocr Metab Disord. 2008;9(4):315–27. doi: 10.1007/s11154-008-9090-4.
25. Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: The oxidative stress theory of diabetic neuropathy. Rev Endocr Metab Disord. 2008;9(4):301–14.. doi: 10.1007/s11154-008-9104-2.
26. Baynes JW. Role of Oxidative Stress in Development of Complications in Diabetes. Diabetes [Internet]. 1991;40(4):405–12. Available from: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diab.40.4.405>
27. Kokil GR, Veedu RN, Ramm GA, Prins JB, Parekh HS. Type 2 Diabetes Mellitus : Limitations of Conventional Therapies and Intervention with Nucleic Acid-Based Therapeutics. 2014;10;115(11):4719-43. doi: 10.1021/cr5002832.
28. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Diabetes Res Clin Pract [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2014;103(2):137–49. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002>

29. Noeman S, Hamooda HE, Baalash AA. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetol Metab Syndr*. 2011;3(1):17.. doi: 10.1186/1758-5996-3-17.
30. Emami SR, Jafari M, Haghshenas R, Ravasi A. Impact of eight weeks endurance training on biochemical parameters and obesity-induced oxidative stress in high fat diet-fed rats. *J Exerc Nutr Biochem* [Internet]. 2016;20(1):30–6. Available from: http://jenb.or.kr/_common/do.php?a=full&bidx=489&aidx=6156.
31. Hjartåker A, Langseth H, Weiderpass E. Obesity and diabetes epidemics: cancer repercussions. *Adv Exp Med Biol*. 2008;630: 72-93.
32. Nunes-souza V, César-gomes CJ, José L, Da S, Da G, Guedes S, et al. Aging Increases Susceptibility to High Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome in C57BL / 6 Mice : Improvement in Glycemic and Lipid Profile after Antioxidant Therapy. 2016;2016.. doi:10.1155/2016/1987960.
33. Kang YM, Kim F, Lee WJ. Role of NO / VASP Signaling Pathway against Obesity- Related Inflammation and Insulin Resistance. *Diabetes Metab J*. 2017;89–95. doi.org/10.4093/dmj.2017.41.2.89.
34. El-sayed MK. Effects of *Portulaca oleracea* L . seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *J Ethnopharmacol* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2011;137(1):643–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.06.020>
35. Umeno A, Horie M, Murotomi K, Nakajima Y, Yoshida Y. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules*. 2016; 21(6):708doi: 10.3390/molecules21060708.
36. Gupta D, Gupta RK. Bioprotective properties of Dragon’s blood resin: In vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity. *BMC Complement Altern Med*. 2011;11.doi: 10.1186/1472-6882-11-13.
37. Ferreira J, Pereira U, Fernando L, Macorini B, Mary A, Benedito J, et al. Antimicrobial , antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera , Apidae). *FOOD Chem Toxicol* [Internet]. Elsevier

Ltd; 2014;(January). Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.01.008>

38. Aragão DMO, Guarize L, Lanini J, Juliana C, Garcia RMG, Scio E. Hypoglycemic effects of *Cecropia pachystachya* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2010;128:629–33.. doi: 10.1016/j.jep.2010.01.008.
39. Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med.* 1993;15(4):353–63.. doi 10.1016/0891-5849(93)90035-S.
40. KIHO T, USUI S, HIRANO K, AIZAWA K, INAKUMA T. Tomato Paste Fraction Inhibiting the Formation of Advanced Glycation End-products. *Biosci Biotechnol Biochem* [Internet]. 2004;68(1):200–5. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1271/bbb.68.200>
41. Barros BF, Varela SAM, Pereira HM, Vicente L. Medicinal use of fauna by a traditional community in the Brazilian Amazonia Medicinal use of fauna by a traditional community in the Brazilian Amazonia. *Ethnobiol Ethnomedicine.* 2012;8(1):1–19. doi: 10.1186/1746-4269-8-37.
42. Chaves TP, Clementino ELC, Felismino DC, Alves RRN, Vasconcellos A, Coutinho HDM, et al. Antibiotic resistance modulation by natural products obtained from *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) and its nest. *Saudi J Biol Sci.* 2015;22(4):404–8.. doi:10.1016/j.sjbs.2014.12.005.
43. Tulloch AP. The composition of beeswax and other waxes secreted by insects. *Lipids.* 1970;5(2):247–58. doi.org/10.1007/BF02532476.
44. Fratini F, Cilia G, Turchi B, Felicioli A. Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pac J Trop Med* [Internet]. Elsevier B.V.; 2016;9(9):839–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.07.003>
45. Dhanya R, Arun KB, Nisha VM, Syama HP, Nisha P, Kumar TRS. Preconditioning L6 Muscle Cells with Naringin Ameliorates Oxidative Stress

and Increases Glucose Uptake. 2015;1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0132429>

46. Krishna MS, Joy B, Sundaresan A. Effect on oxidative stress, glucose uptake level and lipid droplet content by Apigenin 7, 4'-dimethyl ether isolated from Piper longum L. *J Food Sci Technol*. 2015;52(6):3561–70. doi: 10.1007/s13197-014-1387-6.
47. Kuliaviene I, Gulbinas A, Cremers J, Pundzius J, Kupcinskas L, et al. Fatty acids of erythrocyte membrane in acute pancreatitis patients. *World J Gastroenterol*. 2013;19:5678-84. doi: 10.3748/wjg.v19.i34.5678 38.
48. Chisté RC, Freitas M, Mercadante AZ, Fernandes E. Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. *Life Sci [Internet]*. Elsevier B.V.; 2014;99(1–2):52–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2014.01.059>.
49. Haider L, Fischer MT, Frischer JM, Bauer J, Höftberger R, Botond G, et al. Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain*. 2011;134(7):1914–24.. doi: 10.1093/brain/awr128.
50. Sobral F, Sampaio A, Falcão S, Queiroz MJRP, Ricardo C, Vilas-boas M, et al. Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal.; *Food Chem Toxicol*. 2016;94:172-177. doi: 10.1016/j.fct.2016.06.008.
51. American Diabetes Association.. Postprandial Blood Glucose. *Diabetes Care*. 2001;24(4): 775-778. doi: 10.2337/diacare.24.4.775.
52. Parkin CG, Brooks N., 2002. Is Postprandial Glucose Control Important? Is It Practical In Primary Care Settings? *Clinical Diabetes*. 2002; 20(2): 71-76. Available from: <http://dx.doi.org/10.2337/diaclin.20.2.71>.
53. Kurth-Kraczek EJ, Hirshman MF, Goodyear LJ, Winder WW. 5' AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. *Diabetes*. 1999;48:1667–1671. doi.org/10.2337/diabetes.488.1667.

54. Yamaguchi S, Katahira H, Ozawa S, Nakamichi Y, Tanaka T, Shimoyama T, et al. Activators of AMP-activated protein kinase enhance GLUT4 translocation and its glucose transport activity in 3T3-L1 adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;289(4):E643-9 doi: 10.1152/ajpendo.00456.2004.
55. Mousavi SM, Imani S, Haghighi S, Mousavi SE, Karimi A., 2012. Effect of Iranian Honey bee (*Apis mellifera*) Venom on Blood Glucose and Insulin in Diabetic Rats. *J Arthropod Borne Dis.* 2012;6(2):136-43.
56. Simonsson E, Karlsson S, Ahre B, Aa MH. Islet Phospholipase A 2 Activation Is Potentiated in Insulin Resistant Mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;543:539–43.
57. Kang YH, Cho MH, Kim JY, Kwon MS, Peak JJ, Kang SW, Yoon SY, Song Y. Impaired macrophage autophagy induces systemic insulin resistance in obesity. *Oncotarget.* 2016; 7:35577-35591. doi: 10.18632/oncotarget.9590.
58. Becattini B, Zani F, Breasson L, Sardi C, Agostino VGD, Choo M, et al. JNK1 ablation in mice confers long-term metabolic protection from diet-induced obesity at the cost of moderate skin oxidative damage. *FASEB J.* 2016;26.pii:fj.201600393R. doi: 10.1096/fj.201600393R.
59. Zhao F, Pang W, Zhang Z, Zhao J, Wang X, Liu Y, et al. Pomegranate extract and exercise provide additive benefits on improvement of immune function by inhibiting inflammation and oxidative stress in high-fat-diet-induced obesity rats. *J Nutr Biochem [Internet]. Elsevier Inc.;* 2016;32:20–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.02.003>
60. Brownlee, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001;414(December):813–20. doi:10.1038/414813a.
61. Osawa T, Kato Y. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1043:440-51. doi: 10.1196/annals.1333.050.

62. Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006;212:167–78. doi: 10.1016/j.taap.2006.01.003.
63. Monnier VM, Nagaraj RH, Portero-Otin M, Glomb M, Elgawish AH, Sell DR, Friedlander MA. Structure of advanced Maillard reaction products and their pathological role. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11 Suppl 5:20-6
64. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2014;18(1):1-14. doi:10.4196/kjpp.2014.18.1.1.
65. Alhaider AA, Korashy HM, Sayed-Ahmed MM, Mobark M, Kfoury H, Mansour MA. Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chem Biol Interact.* 2011;192(3) 233-242. doi:10.1016/j.cbi.2011.03.014.
66. Marycz K, Tomaszewski KA, Kornicka K, Henry BM, N SW, Tarasiuk J, et al. Metformin Decreases Reactive Oxygen Species , Enhances Osteogenic Properties of Adipose-Derived Multipotent Mesenchymal Stem Cells In Vitro , and Increases Bone Density In Vivo. *Hindawi Publishing Corporation;* 2016;2016. doi: 10.1155/2016/9785890.
67. Avogaro A, Albiero M, Menegazzo L, De Kreutzenberg S, Fadini GP. Endothelial dysfunction in diabetes: The role of reparatory mechanisms. *Diabetes Care.* 2011;34(SUPPL. 2):285–90.. doi: 10.2337/dc11-s239.
68. Cao A, Wang L, Chen X, Guo H, Chu S, Zhang X. Ursodeoxycholic Acid Ameliorated Diabetic Nephropathy by Attenuating Hyperglycemia-Mediated Oxidative Stress. 2016;39(8):1300–8. doi: 10.1248/bpb.b16-00094.
69. Aluwong T, Ayo JO, Kpukple A, Oladipo OO. Amelioration of Hyperglycaemia, Oxidative Stress and Dyslipidaemia in Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats Treated with Probiotic and Vitamin C. *Nutrients.* 2016;1–15. doi: 10.3390/nu8050151.

- 70.** Zhang Y, Wu L, Ma Z, Cheng J, Liu J. Anti-Diabetic, Anti-Oxidant and Anti-Hyperlipidemic Activities of Flavonoids from Corn Silk on STZ-Induced Diabetic Mice. *Molecules*. 2016; 21(1):7doi: 10.3390/molecules21010007.

Suporte de informação

S1 Texto. Modelo de entrevista semiestruturada aplicada para o registro do conhecimento tradicional.

1- Idade _____ (anos)

2- Sexo F () M ()

3. Ocupação: () estudante () técnico () professor

4. Pertence a alguma comunidade tradicional:

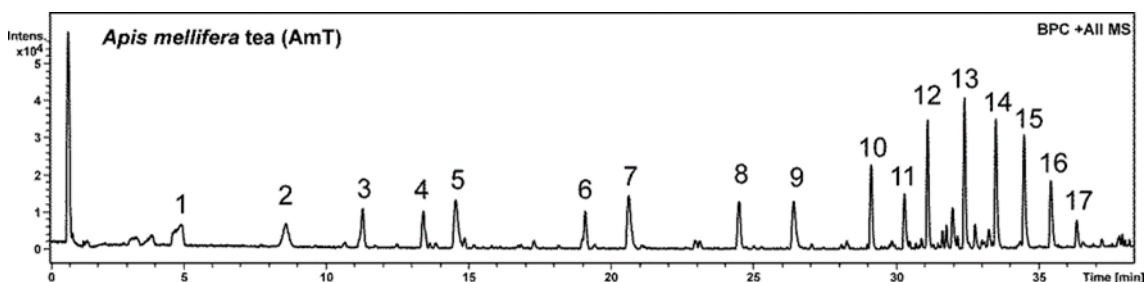
() Não () Sim. Qual? () quilombola () do campo () indígena () outra _____.

5. Você tem conhecimento de algum remédio natural produzido com partes de animais?

() Não () Sim. Preencha a tabela a seguir.

NOME DO ANIMAL	INDICAÇÃO (DOENÇA)	PARTE DO ANIMAL UTILIZADA	MODO DE UTILIZAÇÃO/ CONSUMO

S1 Fig. Perfil cromatográfico do chá de *Apis mellifera* (AmT).



S1 Tabela. Compostos caracterizados por HPLC-DAD-MS / MS no chá de *Apis mellifera* (AmT).

ID	Composto	Tempo de retenção	$[M+H]^+$ (m/z)	Erro (ppm)	formula molecular
1	Tryptophan derivative	5.0	188.0706	0.9	$C_{11}H_9NO_2$
2	Unknown	8.7	181.1335	2.0	$C_{10}H_{16}N_2O$
3	Unknown	11.3	347.1337	3.1	$C_{15}H_{22}O_9$
4	Unknown	13.5	277.1442	0.0	$C_{16}H_{24}O_{10}$
5	Unknown	14.6	195.1499	3.4	$C_{11}H_{18}N_2O$
6	Unknown	19.2	225.1598	4.2	$C_{12}H_{20}N_2O_2$
7	Unknown	20.7	209.1648	4.4	$C_{12}H_{20}N_2O$
8	Unknown	24.5	239.1754	0.7	$C_{13}H_{22}N_2O_2$
9	Unknown	26.4	223.1805	2.3	$C_{13}H_{22}N_2O$
10	Unknown	29.2	253.1919	3.3	$C_{14}H_{24}N_2O_2$
11	Unknown	30.3	237.1981	1.2	$C_{14}H_{24}N_2O$
12	Unknown	31.1	267.2069	0.8	$C_{15}H_{26}N_2O_2$
13	Unknown	32.4	281.2230	2.3	$C_{16}H_{28}N_2O_2$
14	Unknown	33.5	295.2385	1.5	$C_{17}H_{30}N_2O_2$
15	Unknown	34.5	309.2548	3.7	$C_{18}H_{32}N_2O_2$
16	Unknown	35.5	323.2693	4.9	$C_{19}H_{34}N_2O_2$
17	Unknown	36.4	337.2864	4.4	$C_{20}H_{36}N_2O_2$

ID = Cromatograma do pico de base no modo de ionização positiva.

Toxicidade aguda e atividade antioxidante e anti-hiperglicêmica da bile de *Cuniculus paca*

Janielle da Silva Melo da Cunha^{1,2}, Tamaeh Monteiro Alfredo², Katia Ávila Antunes², Daniel Ferreira Leite², Edson Lucas dos Santos², Kely de Picoli Souza^{2*}

¹Campus Binacional Oiapoque, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Amapá, Brasil;

²Grupo de Pesquisa em Biotecnologia e Bioprospecção Aplicados ao Metabolismo; Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais; Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, Dourados, Brasil.

⁴Faculdade de Ciências Farmacêuticas; Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil.

*Autor correspondente

Email: kelypicoli@gmail.com (KPS)

Resumo

O uso de animais e seus derivados para fins medicinais, denominado zooterapia, é uma prática milenar em diferentes culturas. No Brasil, como em outros países, o uso da bile do mamífero *Cuniculus paca* (Linnaeus, 1766) é descrito na medicina tradicional para o tratamento de diferentes doenças, dentre elas a diabetes. No entanto, ainda não existem registros científicos sobre sua toxicidade e potencial farmacológico. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a toxicidade e o potencial antioxidante e anti-hiperglicemiante do extrato biliar de *Cuniculus paca*. Para isso, foi preparado o extrato etanólico da vesícula biliar contendo bile (CpE) e utilizado em todos os ensaios. Foi realizado o teste de toxicidade aguda em camundongos fêmeas C57Bl/6. A atividade antioxidante foi avaliada *in vitro* pelos ensaios de captura de radicais livres, hemólise oxidativa e peroxidação lipídica (MDA) em eritrócitos humanos. *In vivo*, a atividade anti-hiperglicemiante foi avaliada em camundongos machos C57Bl/6 normoglicêmicos submetidos ao teste de tolerância à glicose, e, em animais induzidos à hiperglicemia por dieta hiperlipídica tratados com o CpE por 60 dias, pela dosagem dos níveis séricos de glicose e hemoglobina glicada, bem como pelos níveis de malondialdeído no sangue, fígado, sistema nervoso e olhos. Os resultados dos animais tratados com o CpE foram comparados com os grupos Controle e Metformina. Não foram observados sinais de toxicidade durante 14 dias nos camundongos tratados agudamente com o CpE. A atividade antioxidante do CpE foi observada *in vitro* e *in vivo*, pela capacidade do extrato de capturar de radicais livres, bem como pelos menores níveis de hemólise e MDA gerados, tanto em eritrócitos humanos como no sangue e órgãos de camundongos induzidos à hiperglicemia. A atividade anti-hiperglicemiante do CpE foi demonstrada pelos menores níveis glicêmicos em camundongos normoglicêmicos no teste de tolerância à glicose, expresso em área sobre a curva. O tratamento com o CpE também foi capaz de reduzir a glicemia e a hemoglobina glicada no sangue de camundongos induzidos à hiperglicemia ao final do tratamento, comparados ao grupo Controle. Em suma, o CpE não apresentou toxicidade no modelo animal avaliado e indicou atividade antioxidante e anti-hiperglicemiante.

Palavras chave: zooterapia; animais medicinais; diabetes.

Introdução

A zooterapia, descrita como o uso de animais para fins medicinais, é uma prática milenar em diferentes povos e culturas, reconhecida pela Organização Mundial da Saúde, que tem subsidiado o desenvolvimento de produtos farmacêuticos, ocupando importante papel na medicina moderna [1,2,3,4].

Na América Latina, já foram registrados 584 animais com valor terapêutico indicados pela medicina tradicional, distribuídos em 13 táxons [2], sendo o Brasil, responsável pelo registro de 326 desses animais indicados para o tratamento de diversas doenças [5], dentre elas a diabetes [6,7]. Estima-se que a prevalência global de diabetes aumentará de 451 para 693 milhões de pessoas entre 2017 e 2045 [8]. No quadro diabético destacam-se duas alterações metabólicas, a hiperglicemia e o estresse oxidativo [9]. Produtos com propriedades antioxidantes e anti-hiperglicemiantes, portanto podem ser alternativas terapêuticas para o tratamento dessa doença, em especial pelo controle glicêmico, redução de espécies reativas e conseqüentemente das complicações diabéticas [7,9,10,11]

O uso da bile do mamífero *Cuniculus paca* (Linnaeus, 1766), também denominado *Agouti paca* (Linnaeus, 1766), é descrito na medicina tradicional para dores no estômago, coração e fígado; leishmaniose; doenças urinárias; mordida de cobra; reumatismo; febre [12]; processos inflamatórios [13], extração de espinhos da pele; furúnculos; derrame; hipercolesterolemia e diabetes [6,14]. A composição química da bile inclui ácidos biliares, fosfolípidos, proteínas, colesterol e bilirrubina. Dentre os ácidos biliares estão os ácidos desoxicólicos e litocólicos, bem como ácidos sulfolitoscólicos e ursodesoxicólicos [15,16,17].

Este último, com destaque por sua atividade antioxidante [18], imunomoduladora [19], por melhorar a resistência à insulina e diminuir o estresse oxidativo em tecidos vasculares [20].

Nesta perspectiva, este estudo avalia pela primeira vez a toxicidade aguda e o potencial farmacológico antioxidante e anti-hiperglicemiante do extrato biliar do mamífero *Cuniculus paca* (Linnaeus, 1766).

Materiais e métodos

Animais experimentais

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética e experimentação animal da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD (autorização nº 48/2016) e realizado de acordo com os padrões do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). A quantidade de 1 vesícula biliar *in natura* da espécie *Cuniculus paca* foi obtida por meio de doação junto ao criadouro de pacas “Aurélio Guedes Cardoso” com licença categoria 20-23 criação comercial, e, imediatamente pesada e congelada. Camundongos C57Bl/6 (n=47 machos; n=10 fêmeas), provenientes do Biotério Central da UFGD foram alojados em gaiolas de polietileno (n=4 por gaiola), em ambiente com ciclos de luminosidade claro/escuro de 12 h e temperatura controlada, com acesso *ad libitum* à água e ração.

Preparação do extrato

A vesícula biliar congelada, contendo a bile, foi colocada em etanol 48% na proporção de 8 g para 400 mL (m/v) por um período de 7 dias e mantida em

temperatura de 10°C. Após este período o extrato da vesícula biliar (CpE) foi rotaevaporado e liofilizado obtendo-se um rendimento de 37,5%. O CpE foi mantido a 10°C e dissolvido em água imediatamente antes do uso nos ensaios.

Toxicidade aguda

O teste de toxicidade aguda foi realizado com base nos protocolos da *Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) - Guidelines 425*. Foram utilizados 10 camundongos fêmeas C57Bl/6 pesando entre 25-30g. Para este ensaio, no primeiro dia, um camundongo fêmea C57bl/6 em jejum de 8 h recebeu via oral a dose de 2000 mg de CpE/kg de massa corporal. Sequencialmente, outros quatro animais foram submetidos a jejum e dose única de 2000 mg de CpE/kg de massa corporal. O mesmo procedimento foi realizado posteriormente com outro grupo de animais aos quais foi administrada a dose de 5000 mg de CpE/kg de massa corporal para definir possível dose letal para 50 % dos animais (DL50). Os animais foram observados periodicamente durante as primeiras 24 h, posteriormente, uma vez ao dia durante 14 dias. O consumo hídrico, de ração e a massa corporal foram registrados. Ao final do período de observação, todos os animais foram anestesiados, o sangue foi retirado por punção cardíaca para análises bioquímicas e os animais submetidos à eutanásia. Os órgãos: coração, pulmão, fígado e rins, foram retirados, pesados e analisados macroscopicamente.

Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

Ensaio de captura de radicais livres ABTS

A atividade antioxidante *in vitro* foi determinada pelo método de captura de radicais livres 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico - ABTS [21]. Para isso utilizou-se o CpE nas concentrações de 5, 10, 50, 100, 300, 500 e 1000 µg/mL. Em seguida foram transferidos 20 µL do CpE em cada concentração e adicionado 1980 µL de ABTS. Os padrões ácido ascórbico e hidroxitolueno de butila (BHT) foram preparados nas mesmas concentrações do CpE. Três experimentos independentes foram realizados em duplicata. A leitura foi realizada após 6 min da reação em espectrofotômetro UV/VIS a 734 nm (PG instrumentes LTD). A porcentagem de inibição do radical ABTS foi calculada de acordo com a equação (1).

$$\text{Inibição (\%)} = [\text{Abs controle} - (\text{Abs amostra}/\text{Abs controle})] \times 100 \quad (1)$$

Ensaio de captura de radicais livres DPPH

A atividade de captação de radicais livres foi avaliada pelo ensaio de 2,2-difenil-1-picrilidrazilo - DPPH [22], com algumas modificações, usando uma série de diluição, que envolveu a mistura de 1800 µL de solução de DPPH (0,12 mM de DPPH em 80% de etanol) com 200 µL de CpE (5, 10, 50, 100, 300, 500 e 1000 µg/mL). Após 30 min, os radicais DPPH restantes foram avaliados em espectrofotômetro UV/VIS a 517 nm. O ácido ascórbico e o hidroxitolueno butilado - BHT foram utilizados como antioxidantes de referência. Os testes foram realizados em duplicata em três experimentos independentes. A solução DPPH foi utilizada como controle. A porcentagem de inibição foi calculada a partir do controle pela equação 2:

$$\text{Inibição (\%)} = (1 - \text{Abs amostra}/\text{Abs controle}) \times 100 \quad (2)$$

Atividade hemolítica e hemólise oxidativa em eritrócitos humanos

O procedimento experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da UFGD (autorização nº 1.858.809). Foi avaliada a atividade hemolítica do CpE e o potencial de proteção contra a hemólise oxidativa induzida pelo agente oxidante 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) dihydrochlorido - AAPH [23]. Para isso, coletou-se 15 mL de sangue humano periférico de um indivíduo adulto saudável. O sangue foi centrifugado a velocidade de 2000 rpm, e o plasma e a camada leucocitária foram descartados. Os eritrócitos foram lavados três vezes em NaCl 0,9 % e, após as lavagens, preparou-se suspensão de eritrócitos a 10 % em NaCl 0,9 %. Em seguida, incubou-se o material a 37 °C, durante 30 min em tubos de ensaio na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico ou CpE (50, 100, 300, 500, 1000 µg/mL). Posteriormente, adicionou-se NaCl 0,9 % ou AAPH 50 mM, para avaliar a capacidade hemolítica e inibição da hemólise oxidativa, respectivamente. As amostras permaneceram a 37 °C até 240 min, com agitação periódica. Foram realizados três experimentos independentes em duplicata. A porcentagem de hemólise foi determinada através da mensuração da absorbância a 540 nm, pela equação (3).

$$\text{Hemólise (\%)} = (\text{Abs amostra} / \text{Abs hemólise total}) \times 100 \quad (3)$$

Níveis de MDA em eritrócitos humanos

Suspensões de eritrócitos humanos a 10 % foram incubados a 37 °C durante 30 min na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico ou

CpE (50, 100, 300, 500, 1000 µg/mL). Em seguida, adicionou-se AAPH 50 mM à suspensão de eritrócitos, sendo incubado a 37 °C durante 240 min, com agitação periódica. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 2000 rpm e alíquotas de 500 µL do sobrenadante foram transferidas para tubos com 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 10 nmol. Como padrão 500 µL de solução de MDA 20 mM foram adicionados a 1 mL de TBA. As amostras foram incubadas a 96 °C durante 45 min. Em seguida, foram adicionados 4 mL de álcool n-butílico e centrifugadas a 2000 rpm. A absorbância dos sobrenadantes foi mensurada a 532 nm [24]. Dois experimentos independentes foram realizados em triplicata. A concentração de MDA nas amostras é expressa em nmol/mL e foi obtida a partir da equação (4).

$$MDA = Abs amostra \times (20 \times 220,32 / Abs MDA) \quad (4)$$

Ensaio *in vivo*: camundongos C57Bl/6

Teste oral de tolerância à glicose

O teste oral de tolerância à glicose (OGTT) foi realizado após 12 horas de jejum em quinze camundongos machos C57Bl/6 adultos, normoglicêmicos. Os camundongos foram distribuídos randomicamente em 3 grupos (n=5 cada grupo) de acordo com os tratamentos dos grupos: Controle tratados com água (100 mg/kg de massa corporal), Metformina tratados com metformina (100 mg/kg de massa corporal) e CpE tratados com CpE (200 mg/kg de massa corporal). Após 30 min dos tratamentos os camundongos receberam sobrecarga de glicose por gavagem (2 g/Kg de massa corporal) e, nos tempos 0 (imediatamente antes à sobrecarga de glicose), 30, 60, 90, 120 e 180 min após administração da

sobrecarga de glicose foi avaliada a glicemia dos camundongos via sangue venoso caudal [25], utilizando-se o glicosímetro Accu-chek Active (Roche) e fitas glicométricas específicas.

Dosagem de glicemia, HbA1C e níveis de MDA em camundongos hiperglicêmicos

Camundongos machos C57Bl/6 adultos, normoglicêmicos (n=32) foram divididos randomicamente em 4 grupos (n=8 cada grupo). Os camundongos receberam durante 130 dias as dietas de acordo com seus respectivos grupos: (1) ração Labina padrão para roedores, e (2) ração hipercalórica para indução da hiperglicemia (14% proteína, 60% lipídios, 26% carboidratos PragSoluções). Após este período, foi avaliada a glicemia e observando-se a indução da hiperglicemia (H), por glicemia \geq 200 mg/dL, os camundongos (n=8 por grupo) continuaram em dieta hipercalórica e foram tratados por 60 dias com água (Grupo H-Controle), metformina (100 mg/Kg de massa corporal, Grupo H-Metformina) e CpE (200 mg/Kg de massa corporal, Grupo D-CpE). Os camundongos alimentados com ração Labina padrão para roedores foram considerados normoglicêmicos (N) e tratados com água por 60 dias, formando o Grupo N-Controle.

Ao final do tratamento foi novamente dosada a glicemia dos camundongos, os mesmos foram anestesiados e eutanasiados sendo retirados: sangue arterial, olhos, sistema nervoso e fígado para a dosagem de MDA [7]. A hemoglobina glicada presente no sangue foi avaliada com Kits específicos seguindo as especificações do fabricante (Gold Analisa).

Análises Estatísticas

Os resultados são expressos como médias \pm erro padrão da média. A análise de variância (ANOVA) seguida da análise pós-teste de Student-Newman-Keuls foi usada para comparações múltiplas de resultados, e o teste t de Student foi usado para comparar os resultados de glicemia entre os dias inicial e final de tratamento de cada grupo. As análises foram realizadas com o auxílio do software Prism 5 GraphPad. O nível de significância foi $P < 0,05$.

Resultados

Toxicidade aguda

Os animais tratados com CpE (2000 mg/kg e 5000 mg/kg) não apresentaram sinais de toxicidade, não sendo observadas alterações comportamentais, variação da massa corporal, ingestão de água e ração, bem como de parâmetros hematológicos (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros biométricos e hematológicos de animais controles e de tratados com o CpE (2000 mg/kg e 5000 mg/kg) no ensaio de toxicidade aguda.

Parâmetros	Controle	CpE 2000 mg/kg	CpE 5000 mg/kg
Biométricos			
Δ Massa corporal (%)	1,10 \pm 0,20	0,90 \pm 0,40	0,80 \pm 0,10
Ingestão de água (mL/dia/animal)	1,21 \pm 0,70	1,14 \pm 0,28	1,14 \pm 0,14
Ingestão de ração (g/dia/animal)	1,56 \pm 0,11	1,68 \pm 0,27	1,50 \pm 0,06
Hematológicos ($\times 10^6 \mu\text{L}$)			
WBC	2,06 \pm 0,25	2,44 \pm 0,23	3,45 \pm 0,52
RBC	10,26 \pm 0,40	9,14 \pm 0,31	9,78 \pm 2,42
HGB	14,22 \pm 0,47	12,98 \pm 0,33	13,84 \pm 3,42
HCT	56,46 \pm 2,51	50,52 \pm 1,44	54,00 \pm 13,35
VCM	54,98 \pm 0,51	55,32 \pm 0,40	55,22 \pm 14,12
HCM	13,86 \pm 0,12	14,24 \pm 0,15	14,14 \pm 3,59

CHCM	25,22 ± 0,30	25,70 ± 0,16	25,60 ± 6,51
RDW-SD	26,48 ± 0,57	27,44 ± 0,18	26,10 ± 6,87
RDW-CV	19,82 ± 0,40	18,94 ± 0,39	19,00 ± 4,91
NEUT	0,08 ± 0,03	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01
LYMPH	1,95 ± 0,23	2,40 ± 0,23	2,35 ± 0,51
MONO	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00
EO	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BASO	0,01 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Δ = variação; WBC = glóbulos brancos; RBC = glóbulos vermelhos; HGB = hemoglobina HCT = hematócito; VCM = volume globular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração da hemoglobina corpuscular média; RDW-SD = amplitude de Distribuição de Glóbulos Vermelhos como desvio padrão; RDW-CV = amplitude de Distribuição de Glóbulos Vermelhos como coeficiente de variação; NEUT = neutrófilos; LYMPH = linfócitos; MONO = monócitos; EO = eosinófilos; BASO = basófilos.

Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

Ensaio de captura de radicais livres ABTS e DPPH

A atividade antioxidante do CpE expressa pela captura direta de radicais livres ABTS e DPPH é apresentada em valores de IC₅₀ e atividade máxima na Tabela 2. O CpE apresentou IC₅₀ maior que os controles ácido ascórbico e BHT e atingiu atividade máxima em concentração superior aos controles.

Tabela 2. Atividade de captura de radicais livres ABTS e DPPH do extrato biliar de *Cuniculus paca* (CpE) e dos controles antioxidantes ácido ascórbico (AA) e BHT.

Amostra	ABTS			DPPH		
	IC ₅₀	Inibição máxima		IC ₅₀	Inibição máxima	
	µg/mL	%	µg/mL	µg/mL	%	µg/mL
AA	4,59 ± 0,66	97.29 ± 0.14	10	6.07 ± 0.78	92.84 ± 0.57	50
BHT	10,09 ± 1,00	95.79 ± 0.26	50	19,44 ± 1,28	91,83 ± 0,51	500
CpE	35,88 ± 1,55	99.02 ± 0.08	1000	70,62 ± 1,84	99,02 ± 0,08	1000

IC₅₀, concentração necessária para capturar 50% de radicais livres ABTS e 50% de radicais livres DPPH. Valores são expressos em média ± erro padrão da média.

Atividade hemolítica, hemólise oxidativa e níveis de MDA em eritrócitos humanos

A ausência de toxicidade também foi observada no ensaio de atividade hemolítica, pela ausência de hemólise observada em eritrócitos incubados com o CpE, exceto na maior concentração avaliada, de forma semelhante ao ácido ascórbico (Fig. 1A).

A atividade antioxidante do CpE também foi confirmada pela capacidade de captura de radicais livres gerados pelo indutor AAPH no ensaio de hemólise oxidativa em eritrócitos humanos, no qual o CpE protegeu de forma eficiente os eritrócitos contra a hemólise oxidativa, exceto na maior concentração avaliada, de forma semelhante ao ácido ascórbico (Fig. 1B).

A redução da peroxidação lipídica em eritrócitos induzidos com AAPH foi observada aos 240 min pelos menores níveis de MDA nas amostras incubadas com o CpE, exceto na maior concentração avaliada, de forma semelhante ao ácido ascórbico (Fig. 1C).

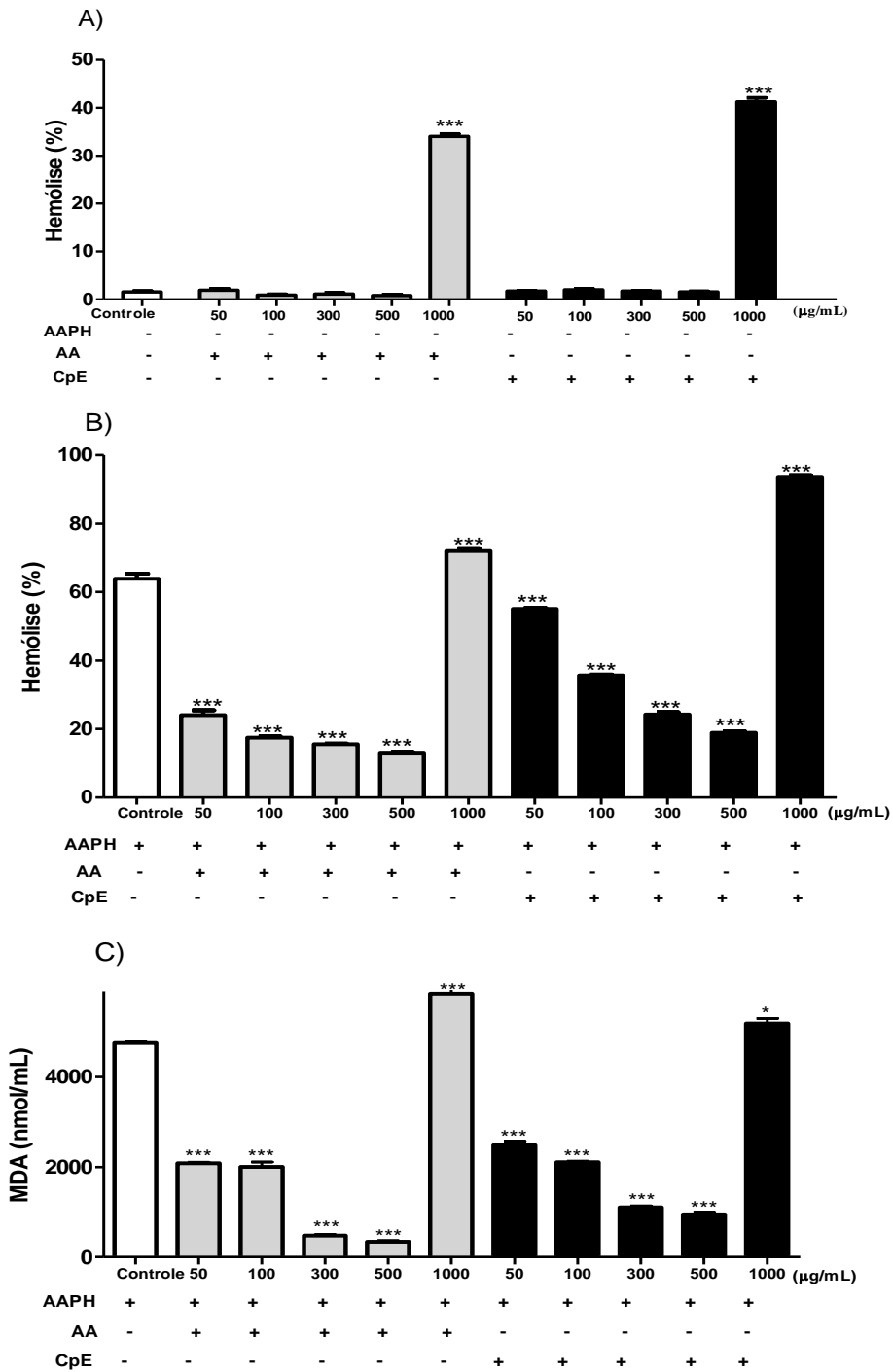


Figura. 1. Hemólise e conteúdo de MDA em eritrócitos humanos incubados por 240 min. Atividade do AA ou CpE em (A) hemólise, (B) inibição de hemólise e (C) conteúdo de malondeialdeído (MDA) resultante de peroxidação lipídica induzida por AAPH. Os valores são apresentados como as médias \pm SEM. *P <0,05; e ***P <0,001 versus amostra controle. AA = ácido ascórbico e CpE = extrato biliar de *Cuniculus paca*

Ensaio *in vivo*: camundongos C57BI/6

Teste oral de tolerância a glicose em camundongos normoglicêmicos

Após 60 min da sobrecarga oral de glicose, os camundongos normoglicêmicos tratados com CpE mostraram menores níveis glicêmicos em comparação com os camundongos do grupo controle e tratados com metformina (Fig. 2A). Essa redução na hiperglicemia também foi observada pela análise de área sob a curva, na qual o grupo tratado com o CpE apresentou o menor valor comparado aos grupos controle e metformina. (Fig. 2B).

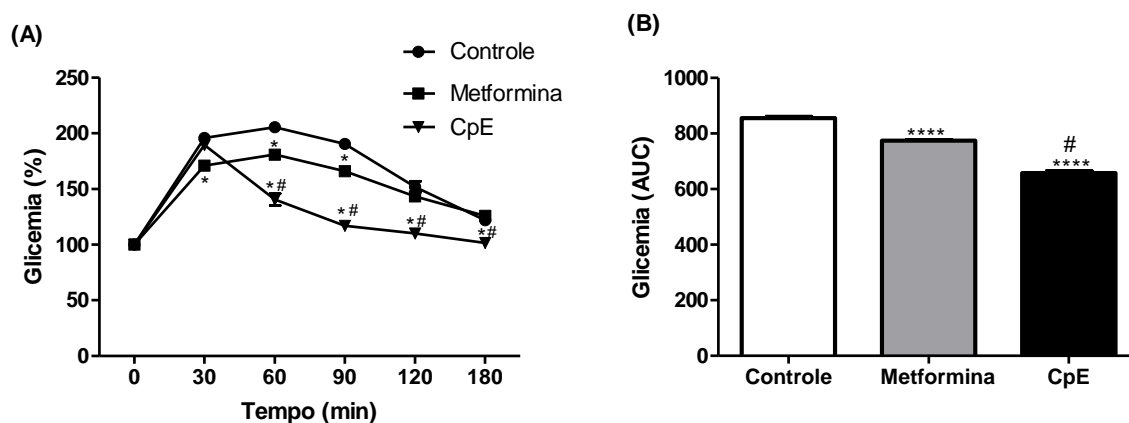


Figura 2. Teste oral de tolerância à glicose. (A) Variação e **(B)** área sob a curva de glicemia a 0 (imediatamente antes da sobrecarga de glicose), 30, 60 e 180 min após sobrecarga de glicose em camundongos normoglicêmicos tratados com água, metformina e CpE. Os valores são apresentados como as médias \pm SEM. * $P < 0,05$; e **** $P < 0,0001$ versus grupo Controle. # $P < 0,001$ versus grupo Metformina.

Dosagem de glicemia e HbA1C em camundongos hiperglicêmicos

A avaliação da glicemia de camundongos hiperglicêmicos no primeiro (imediatamente antes do início do tratamento) e no sexagésimo dia de tratamento, demonstra que o CpE reduziu a hiperglicemia de forma semelhante a ação da metformina (Fig.3A). Essa redução é confirmada pelos níveis de hemoglobina glicada, ao final do tratamento, pela qual observa-se níveis semelhantes desse parâmetro entre os grupos tratados, de forma semelhante ao controle normoglicêmico (Fig.3B).

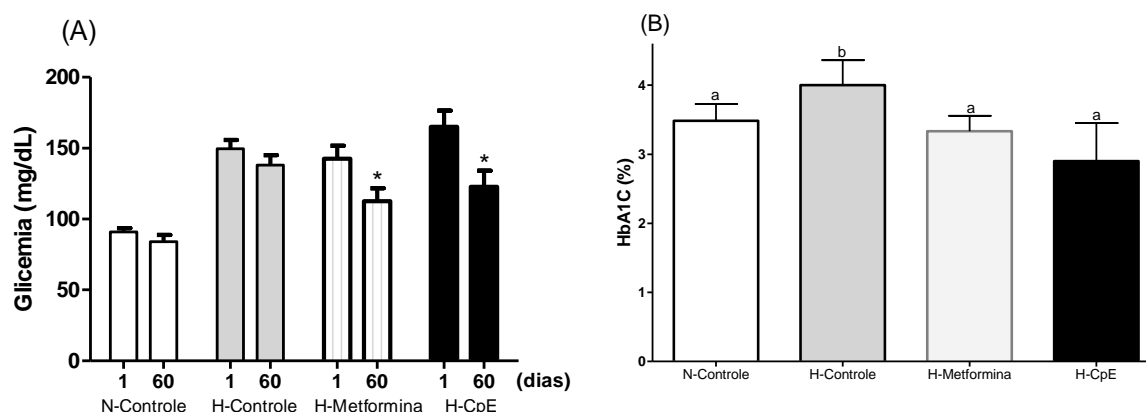


Figura 3. Glicemia e hemoglobina glicada. (A) Glicemia no 1º (imediatamente antes do início do tratamento) e 60º dias de tratamento. Valores comparados entre os dias 1 e 60 de cada grupo utilizando teste T de *Student*. (B) Níveis de hemoglobina glicada no final do tratamento. Os valores são apresentados como as médias \pm SEM. * $P < 0.05$ versus dia 1 do respectivo grupo. Letras diferentes correspondem à diferença estatística entre os grupos $P < 0.05$.

Dosagem de MDA em camundongos hiperglicêmicos

Os camundongos hiperglicêmicos controles (H-Controle) apresentaram, aos 60 dias de tratamento, maiores níveis de MDA no sistema nervoso, coração, fígado e rins, comparados aos camundongos normoglicêmicos (N-Controle) (Fig.

4). Os camundongos tratados com o CpE por 60 dias apresentaram níveis de MDA semelhantes aos controles normoglicêmicos, enquanto nos tratados com metformina essa redução foi observada apenas no tecido cardíaco e renal (Fig.4).

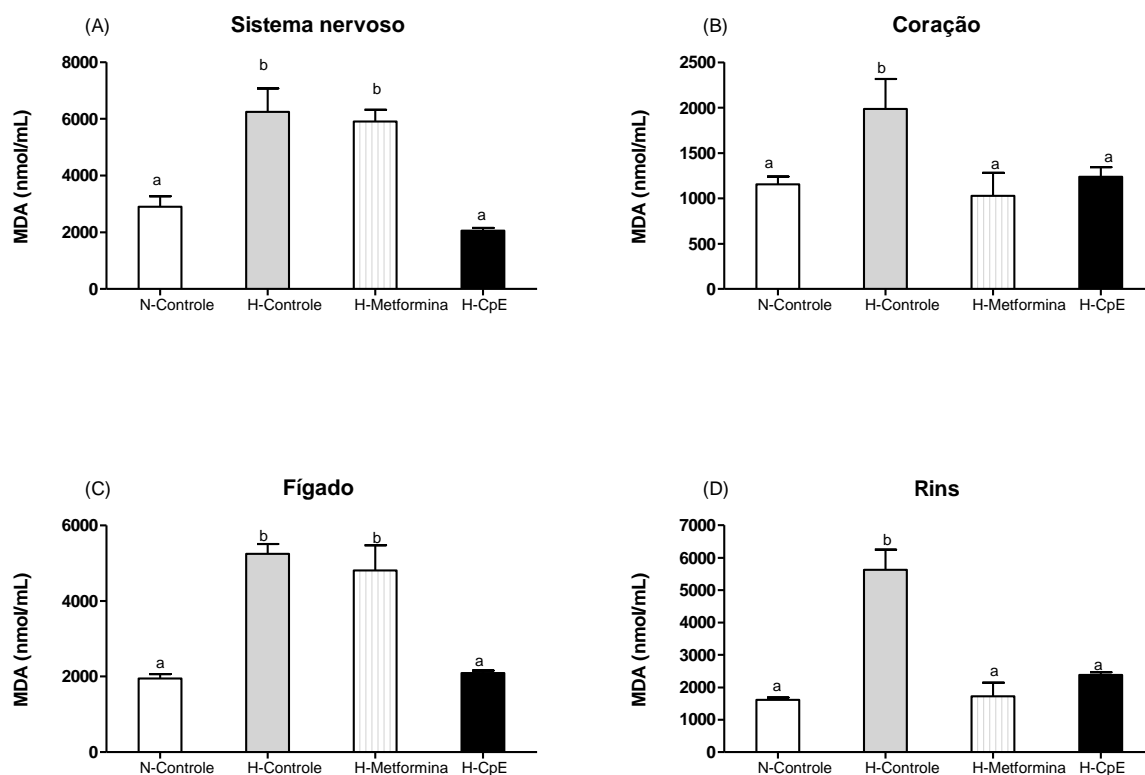


Figura 4. Concentração de Malondialdeído (MDA) no sistema nervoso, coração, fígado e rins de camundongos após 60 dias de tratamento. Grupos: N-Controle, H-Controle, H-Metformina, e H-CpE após 60 de tratamento. Os valores são apresentados como as médias \pm SEM. Valores são comparados entre cada grupo. Letras diferentes correspondem a diferença estatística $P < 0.05$.

Discussão

O conhecimento tradicional, altamente difundido em todos os povos do mundo, engloba o uso de diversos recursos naturais, além de outros aspectos culturais. Embora menos popular comparado ao uso de plantas medicinais, a

zooterapia se configura um conhecimento de muitos povos e representa uma fonte para o desenvolvimento de novos produtos para prevenção e tratamento de doenças. A bile de *Cuniculus paca* (Linnaeus, 1766) é indicada pela medicina tradicional para o tratamento de diabetes, doenças urinárias e febre [6,12], no entanto, são escassos os dados sobre sua toxicidade e atividade farmacológica.

É crescente a busca por produtos naturais para a manutenção da saúde e o tratamento de diversas doenças [7,11,24,26], em especial, pelo conceito de que esses produtos seriam supostamente mais seguros e menos tóxicos. A toxicidade de produtos de origem animal, em especial as peçonhas de cobras, aranhas, abelhas e escorpiões (27) é bastante conhecida, no entanto, outras partes dos animais usados na zooterapia não geram nos usuários imediatamente a ideia de tal risco. Contudo, a segurança de uso de todas as indicações populares depende de avaliações toxicológicas [28] e, neste estudo, o extrato da bile de *Cuniculus paca* (CpE) não demonstrou efeitos tóxicos tanto no ensaio celular em eritrócitos humanos como em camundongos submetidos ao teste de toxicidade aguda e os alimentados com dieta de alta gordura (HFD) tratados com o CpE.

A hiperglicemia e o excesso de espécies reativas são duas condições que geram e agravam o quadro de diabetes e suas comorbidades [9]. O controle do estresse oxidativo busca reduzir os danos celulares causados pelo excesso de espécies reativas de oxigênio e pode envolver atividade sequestradora direta de radicais livres, como observada para o CpE, bem como a ativação de defesas endógenas [7,9]. Embora o CpE tenha apresentado ação de sequestro de radicais livres inferior aos controles ácido ascórbico e BHT, em eritrócitos, a proteção celular contra o estresse oxidativo foi semelhante ao do controle ácido

ascórbico. Nos sistemas biológicos, além da captura direta de radicais livres, podem ser ativados sistemas endógenos de defesa antioxidante. Neste sentido, a modulação de substrato antioxidante glutatona e de enzimas antioxidantes tem sido atribuída ao ácido ursodesoxicólico [18,29,30], uma substância presente na bile de mamíferos [17]. Na maior concentração avaliada, o mesmo efeito pró-oxidante conhecido do ácido ascórbico [7] foi apresentado pelo CpE.

Dentre os danos decorrentes do estresse oxidativo está a indução de defeitos na secreção e na sensibilidade à insulina, alterações iniciais no quadro de hiperglicemia e que podem gerar outras complicações associadas ao diabetes [31]. Um dos mecanismos envolvidos nessas complicações é a peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados na membrana celular, induzida pelo excesso de espécies reativas [32], que causa liberação de malondialdeído (MDA) [33] podendo levar a danos e morte celular [31]. Eritrócitos e animais tratados com o CpE apresentaram redução nos níveis de MDA gerados nos quadros de estresse oxidativo e de hiperglicemia, respectivamente.

O controle da hiperglicemia pós-prandial tem sido associado à redução do dano vascular em pacientes diabéticos [34,35,36], e os animais normoglicêmicos tratados com o CpE apresentaram uma taxa de decaimento da glicemia superior comparados ao controle e a droga de referência metformina, como expresso pela área sobre a curva do GTT realizado. Além disso, o controle da hiperglicemia também tem sido relacionado a ação dos ácidos biliares reduzindo MDA, AGEs e aumentando GSH [20].

Durante a progressão do diabetes, o excesso de glicose presente no sangue reage com hemoglobina para formar HbA1c [34]. No presente estudo, o CpE foi eficaz na redução dos níveis de glicemia e HbA1c em camundongos

diabéticos tratados por 60 dias de forma semelhante ao efeito do tratamento com metformina.

A detecção e tratamento precoce dos níveis dos produtos de peroxidação lipídica na diabetes reduzem as complicações diabéticas, como disfunção endotelial, neuropatia e retinopatia, que são mediadas pelo excesso de espécies reativas atingindo diferentes tecidos [37,38,39]. Corroborando com os resultados antioxidante *in vitro* e *in vivo* e anti-hiperglicemiante *in vivo*, o efeito protetor do CpE foi demonstrado pela redução da peroxidação lipídica nos órgãos e tecidos de camundongos diabéticos tratados, que apresentaram níveis de MDA semelhantes aos animais normoglicêmicos ao final do tratamento.

Em conjunto, as atividades antioxidante e anti-hiperglicemiante apresentadas pelo CpE indicam seu potencial para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o controle glicêmico, redução de espécies reativas e conseqüentemente das complicações diabéticas [7,9,10,11].

Conclusão

O extrato biliar de *Cuniculus paca* (CpE) usado na medicina tradicional para diversas finalidades terapêuticas dentre elas a diabetes, não apresentou toxicidade no modelo animal avaliado e indicou potencial antioxidante e anti-hiperglicêmico.

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse em relação à publicação deste artigo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso do Sul - FUNDECT, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Agência Federal de Apoio e Avaliação do Ensino de Pós-Graduação - CAPES e anúncio de financiamento FUNDECT / CAPES nº 27/2015 - PAPOS FASE III.

Referências

1. Costa-Neto EM. 1999. Healing with animals in Feira de Santana City, Bahia, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. Volume 65, Issue 3, June, Pages 225–230. doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00158-5.
2. Alves RR, Alves HN. 2011. The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 7:9. doi:10.1186/1746-4269-7-9.
3. Holenavar, PS. 2015. Use of animal and animal derived products as medicines by the inhabitants of villages in Athani Taluka of Belagavi District (Karnataka). *Intl. J. Appl. Res.* 1 (12), 437-440.
4. Yeshi K. Morisco P. Wangchuk P. 2017. Animal-derived natural products used in the Bhutanese Sowa Riga medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. doi.org/10.1016/j.jep.2017.06.009.
5. Costa-Neto, EM. Alves, RRN. 2010a. Estado da arte da zooterapia popular no Brasil. In: E.M. Costa-Neto & R.R.N. Alves (eds), *Zooterapia: os animais na medicina popular brasileira*. NUPEEA, Recife, p. 13–54.
6. Barros FB. Varela SAM. Pereira HM. Vicente L. 2012. Medicinal use of fauna by a traditional community in the Brazilian Amazonia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 8:37 doi: 10.1186/1746-4269-8-37.

7. Melo da Cunha, JS. Alfredo, TM. Dos Santos, JM. Alves Junior, VV. Rabelo, LA. Lima, ES. et al. 2018. Antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity of *Apis mellifera* bee tea. PLoS ONE, 13(6), e0197071. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071>
8. Cho, NH. Shaw, JE. Karuranga, S. Huang, Y. da Rocha Fernandes, JD. Ohlrogge, AW. Malanda, B. 2018. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. Diabetes Research and Clinical Practice.. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.
9. Baynes, JW. 1991. Role of Oxidative Stress in Development of Complications in Diabetes. Diabetes. (40): 405-412. doi: 10.2337/diab.40.4.405.
10. El-Sayed MI. 2011. Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. J Ethnopharmacol. 137: 643-651. doi:10.1016/j.jep.2011.06.020.
11. Umeno A. Horie M. Murotomi K. Nakajima Y. Yoshida Y. 2016. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. Molecules. May 30;21(6). doi: 10.3390/molecules21060708.
12. Apaza, L. Godoy, R. Wilkie, D. Byron, E. Huanca, T. Leonard, WR. Vadez, V. 2003. Markets and the use of wild animals for traditional medicine: A case study among the Tsimane' Amerindians of the Bolivian rainforest. Journal of Ethnobiology, 23, 47-64.
13. Rodrigues, E. 2006. Plants and animals utilized as medicines in the Jaú National Park (JNP), Brazilian Amazon. PHYTOTHERAPY RESEARCH 20, 378–391. doi: 10.1002/ptr.1866.
14. Pinto, AAC. Maduro, CB. 2003. Produtos e subprodutos da medicina popular comercializados na cidade de Boa Vista, Roraima. Acta Amaz. [online]. vol.33, n.2, pp.281-290. ISSN 0044-5967. doi: 10.1590/1809-4392200332290.
15. Dam H. Kruse I. Krogh Jensen M. Kallehauge H E. 1967. Studies on Human Bile II: Influence of two different fats on the composition of human

- bile}, Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation.V.19 n.4 p.367-378. doi: 10.3109/00365516709090652.
16. Agellon, L B. 2002. Metabolism and function of bile acids. D.E. Vance and J.E. Vance (Eds.) Biochemistry of lipids lipoproteins and membranes. 4th Edtt. Elsevier Science B.V. CHAPTER 16 p 433-448.
 17. Reshetnyak, V I. 2013. Physiological and molecular biochemical mechanisms of bile formation. World J Gastroenterol p.7341-7360. doi:10.3748/wjg.v19.i42.7341.
 18. Lapenna D. Ciofani G. Festi D. Neri M. Pierdomenico SD. Giamberardino MA. Cuccurullo F. 2002. Antioxidant properties of ursodeoxycholic acid. Biochem Pharmacol. Dec 1;64(11):1661-7. doi.org/10.1016/S0006-2952(02)01391-6.
 19. Ma J, Nakajima T, Iida H, Iwasawa K, Terasawa K, *et al.* 2003. Inhibitory effects of ursodeoxycholic acid on the induction of nitric oxide synthase in vascular smooth muscle cells. European journal of pharmacology 464: 79–86.
 20. Mahmoud AAA, Elshazly SM. 2014 Ursodeoxycholic Acid Ameliorates Fructose-Induced Metabolic Syndrome in Rats. PLoS ONE 9(9): e106993. doi:10.1371/journal.pone.0106993.
 21. Larrauri JA, Rupérezc P, Saura-Calixto F. 1997. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. J. Agric. Food Chem. v. 45, p.1390-1393.
 22. Gupta, D. Gupta, RK. 2011. Bioprotective properties of Dragon's blood resin: in vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity. Complement Altern. Med. 11, 1–9. doi: 10.1186/1472-6882-11-13.
 23. Campos JF, Santos UP, Macorini *et al.*, 2014. "Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae Food Chem Toxicol. Mar; 65: 374-80. doi: 10.1016/j.fct.2014.01.008 .
 24. Campos JF, Santos UP, Rocha PS, Damião MJ, Balestieri JB Perrella, Cardoso CAL, *et al.*, 2015. Antimicrobial, Antioxidant, Anti-

- Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí). Evid Based Complement Alternat Med. 296186. doi: 10.1155/2015/296186.
25. Aragão DMO, Guarize L, Lanini J, Costa JC, Garcia RM, SCIO E. 2010. Hypoglycemic effects of *Cecropia pachystachya* in normal and allox-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. Apr 21;128(3):629-33. doi: 10.1016/j.jep.2010.01.008.
26. Haider L, Fischer MT, Fischer JM, Bauer J, Hoftberger R, *et al.* 2011. Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. Brain. 134: 1914–1924. doi: 10.1093/brain/awr128.
27. Oliveira, HFA. Costa, CF. Sassi, R. (2013). Injuries caused by venomous animals and folk medicine in farmers from Cuité, State of Paraíba, Northeast of Brazil. Revista Brasileira de Epidemiologia, 16(3), 633-643. <https://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2013000300008>
28. de Oliveira, AM. de Luna Freire, MO. da Silva, WAV. Ferreira, MRA. Paiva, PMG. Soares, LAL. de Medeiros, PL. de Melo Carvalho, B. Napoleão, TH. 2018. Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination, Regulatory Toxicology and Pharmacology, doi:10.1016/j.yrtph.2018.04.004.
29. Yokoyama, K. Tatsumi, Y. Hayashi, K. Goto, H. Ishikawa, T. Wakusawa, S. 2017. Effects of Ursodeoxycholic Acid and Insulin on Palmitate-Induced ROS Production and Down-Regulation of PI3K/Akt Signaling Activity. Biol Pharm Bull. 2017;40(11):2001-2004. doi: 10.1248/bpb.b17-00423.
30. Cao A, Wang L, Chen X, Guo H, Chu S, Zhang X. Ursodeoxycholic Acid Ameliorated Diabetic Nephropathy by Attenuating Hyperglycemia-Mediated Oxidative Stress. 2016;39(8):1300–8. doi: 10.1248/bpb.b16-00094.
31. Dhanya R. Arun KB. Nisha VM. Syama HP. Nisha P. Santhosh-Kumar TR. Jayamurthy P. 2015. Preconditioning L6 Muscle Cells with Naringin Ameliorates Oxidative Stress and Increases Glucose Uptake. PLoS One. Jul 6;10(7):e0132429. doi: 10.1371/journal.pone.0132429.

32. Kuliaviene I, Gulbinas A, Cremers J, Pundzius J, Kupcinskas L, *et al.* 2013. Fatty acids of erythrocyte membrane in acute pancreatitis patients. *World J Gastroenterol.* 19: 5678-84. doi: 10.3748/wjg.v19.i34.5678 38.
33. Chiste RC, Freitas M, Mercadante AZ, Fernandes E. 2014. Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. *Life Sci.* 99: 52-60. doi: 10.1016/j.lfs.2014.01.059.
34. American Diabetes Association. 2001. Postprandial Blood Glucose. *Diabetes Care.* 24 (4) 775-778. doi: 10.2337/diacare.24.4.775.
35. Parkin CG, Brooks N. 2002. Is Postprandial Glucose Control Important? Is It Practical In Primary Care Settings? *Clinical Diabetes.* Apr; 20(2): 71-76. doi.org/10.2337/diaclin.20.2.71.
36. Mohammadi J, Naik PR. 2008. Evaluation of hypoglycemic effect of *Morus alba* in an animal model. *Indian Journal of Pharmacology.* 40(1):15-18. doi:10.4103/0253-7613.40483.
37. Avogaro A, Albiero M, Menegazzo L, Kreutzenberg S, Fadini GP. 2011. Endothelial dysfunction in diabetes: the role of reparatory mechanisms. *Diabetes Care.* May;34 Suppl 2:S285-90. doi: 10.2337/dc11-s239.
38. Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. 2008. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord.* 9(4); 301-14. doi: 10.1007/s11154-008-9104-2.
39. Madsen-Bouterse SA, Kowluru RA. 2008. Oxidative stress and diabetic retinopathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Rev Endocr Metab Disord.* 9(4):315–327. doi: 10.1007/s11154-008-9090-4.

Apêndices

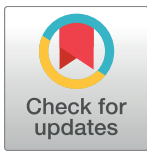
RESEARCH ARTICLE

Antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity of *Apis mellifera* bee tea

Janielle da Silva Melo da Cunha^{1,2}, Tamaeh Monteiro Alfredo², Jéssica Maurino dos Santos², Valter Vieira Alves Junior³, Luiza Antas Rabelo⁴, Emerson Silva Lima⁵, Ana Paula de Araújo Boleti², Carlos Alexandre Carollo⁶, Edson Lucas dos Santos^{2,3}, Kely de Picoli Souza^{2,3*}

1 Binational Campus Oiapoque, Federal University of Amapá—UNIFAP, Amapá, Brazil, **2** Research Group on Biotechnology and Bioprospecting Applied to Metabolism, Federal University of Grande Dourados—UFGD, Dourados, Brazil, **3** School of Environmental and Biological Science, Federal University of Grande Dourados—UFGD, Dourados, Brazil, **4** Laboratory of Cardiovascular Reactivity—LRC, Nucleus of Metabolic Syndrome, Biological Sciences and Health Institute—ICBS, Federal University of Alagoas—UFAL, Alagoas, Brazil, **5** Faculty of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Amazonas, Manaus, Brazil, **6** Laboratory of Natural Products am Mass Spectrometry, Federal University of Mato Grosso do Sul—UFMS, Mato Grosso do Sul, Brazil

* kelypicoli@gmail.com



OPEN ACCESS

Citation: Melo da Cunha JdS, Alfredo TM, dos Santos JM, Alves Junior VV, Rabelo LA, Lima ES, et al. (2018) Antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity of *Apis mellifera* bee tea. PLoS ONE 13(6): e0197071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071>

Editor: M. Faadiel Essop, Stellenbosch University, SOUTH AFRICA

Received: August 31, 2017

Accepted: April 25, 2018

Published: June 5, 2018

Copyright: © 2018 Melo da Cunha et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This work was supported by grants from Foundation to Support to Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) - <http://fundect.ledes.net/>; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - <http://www.capes.gov.br/>; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Abstract

Diabetes has emerged as one of the largest global epidemics; it is estimated that by 2035, there will be 592 million diabetic people in the world. Brazilian biodiversity and the knowledge of traditional peoples have contributed to the treatment of several diseases, including diabetes. *Apis mellifera* bee tea is used by indigenous Brazilians to treat diabetes, and this traditional knowledge needs to be recorded and studied. The objective of this study was to record the use and to evaluate the antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity of *Apis mellifera* bee tea, which is used by the Guarani and Kaiowá indigenous people for the treatment of diabetes. Semi-structured interviews were performed with Guarani and Kaiowá ethnic indigenous people from the State of Mato Grosso do Sul, Brazil, seeking to identify the animal species used for medicinal purposes. For the experimental procedures, tea prepared with macerated *Apis mellifera* bees was used. In vitro assays were performed to evaluate antioxidant activity; direct free radical scavenging, protection against oxidative hemolysis, lipid peroxidation were evaluated in human erythrocytes and potential in inhibiting the formation of advanced glycation end products (AGEs). In vivo, normoglycemic Swiss male mice treated with *Apis mellifera* tea (AmT) were subjected to the oral glucose tolerance test and compared with control and metformin-treated groups. Diet-induced diabetic mice were treated for 21 days with AmT and evaluated for glycemia and malondialdehyde levels in the blood, liver, nervous system, and eyes. During interviews, the indigenous people described the use of *Apis mellifera* bee tea for the treatment of diabetes. In in vitro assays, AmT showed direct antioxidant activity and reduced oxidative hemolysis and malondialdehyde generation in human erythrocytes. The AmT inhibited the formation of AGEs by albumin-fructose pathways and methylglyoxal products. In vivo, after oral glucose overload, normoglycemic mice treated with AmT had reduced hyperglycemia at all times evaluated up to 180 min. AmT also reduced hyperglycemia and malondialdehyde levels in the blood,

Tecnológico (CNPq) – <http://www.cnpq.br/>; and Funding announcement FUNDECT/CAPES no. 27/2015 – PAPOS FASE II. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

liver, nervous system, and eyes of diabetic mice to similar levels as those in metformin-treated mice and normoglycemic controls. In summary, *Apis mellifera* bee tea showed antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity, which provides support for the therapeutic application of Guarani and Kaiowá indigenous knowledge.

Introduction

In Brazil, several animal species are used for medicinal purposes in folk medicine and by indigenous communities [1], and much of this knowledge has not been scientifically described or proven [2]. The zootherapeutic knowledge of the Guarani and Kaiowá ethnic groups, who are located in the center-west region of Brazil, has not been sufficiently studied.

Thus, we chose to study the zotherapy used by the Guarani and Kaiowá ethnicities, who reported the use of *Apis mellifera* bee tea for the treatment of diabetes. Research on zotherapy is very important for cultural maintenance and to measure pharmacological effects [1,2,3].

Apiculture substances have been used since ancient times for many therapeutic purposes [4]. Examples include the use of honey in the treatment of wounds and burns [5,6], propolis as an antioxidant and antitumor agent [7,8], and bee venom for the reduction of complications arising from diabetes, which is an effect mediated by decreased human hemoglobin glycation [9]. In addition, some components isolated from bee venom, such as melittin, have anti-inflammatory and anti-carcinogenic effects [10,11], and tryptophan suppresses the elevation of blood glucose and preserves the insulin secretion from β -cells [12], and also considered a new marker associated with diabetes decreased risk [13].

In this context, several products derived from bees have been used in the prevention and treatment of diseases related to oxidative stress and diabetes [14,15,16]. The antioxidants are capable of directly enhancing the endogenous defense system [17] and modulating the enzymatic systems [18, 19] involved in reducing reactive species, especially reactive oxygen species (ROS). These activities ultimately prevent cell damage resulting from cell membrane lipid peroxidation [20], the oxidation of hormone receptors [21], and changes in the genetic material [22], which can lead to irreversible systemic damage such as nephropathy [23], retinopathy [24], and peripheral neuropathy [25]. These complications, in addition to their individual relevance, are aggravated in the context of diabetes [26, 27].

It is estimated that the global prevalence of diabetes will increase from 382 to 592 million people between 2013 and 2035 [28] because of factors such as aging, sedentary lifestyle, eating habits, and obesity. Obesity is associated with the increased production of ROS species [29, 30], and it is one of the main risk factors for the development of type 2 diabetes, which is characterized by insulin resistance and imbalanced glycemic homeostasis [31,32,33].

Thus, compounds with antioxidant properties may be a therapeutic alternative because they can reduce oxidative stress, hyperglycemia, and diabetes complications [26,34,35].

From this perspective, this is the first study that describes and evaluates the antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activity of *Apis mellifera* bee tea used by Guarani and Kaiowá indigenous people for the treatment of diabetes.

Materials and methods

Zootherapeutic knowledge

Semi-structured interviews (S1 Text) were conducted to record information on the species and animal resources used in the traditional medicine of the indigenous peoples of the

Guarani and Kaiowá ethnic groups living in Mato Grosso do Sul, Brazil. Twenty (20) students of the Federal University of Grande Dourados (UFGD, Dourados, Brazil) belonging to the Guarani and Kaiowá ethnic groups consented to interviews (authorized by the Ethics Committee for research involving human subjects of UFGD under No. 1.858.827).

The Guarani and Kaiowá ethnic groups are distributed in 21 of the 79 municipalities of Mato Grosso do Sul; together they account for an estimated population of 42,000 and represent the second largest indigenous population of Brazil.

Tea preparation

Bees of the species *Apis mellifera* were captured from their hives in the apiary of the School of Biological Sciences of the Federal University of Grande Dourados and immediately frozen to avoid metabolic changes. The tea was prepared according to information learned in interviews as follows: ten bees were macerated and placed in 10 mL of hot water (approximately 100°C), which corresponds to approximately 0.1 g of bees per mL of water, for 10 min. After this infusion period, the *Apis mellifera* tea (AmT) was filtered (Whatman filter paper, grade 40) and kept at 10°C in the refrigerator until use, which was no more than 48 h after preparation.

HPLC

The AmT was analyzed in an analytical CLAE (Shimadzu), with two LC-20AD pumps, SIL-20A auto-injector, SPD-M20A diode array detector (DAD), CBM-20A controller and CTO-20A oven. The chromatograph was also coupled to a microTOFIII mass spectrometer (Bruker Daltonics) with electrospray ionization source and quadrupole time-of-flight analyzer (Q-TOF). The chromatographic column used was Kinetex C-18 (150 x 2.1 mm, Phenomenex), coupled to a pre-column with the same material. The mobile phase was composed by acetonitrile (B) and deionized water (A), both containing 1% of formic acid (v/v) under a flow rate of 0.3 ml/min and the oven temperature was 50 oC. The gradient method applied was: 0–2 min. 3% B (isocratic), 2–25 min. 3 to 25% B, 25–40 min. 25 to 80% B and 40–43 min. to 80% B (isocratic). Followed by washing and reconditioning the column. The molecular formula of each compound was determined based on the error of up to 5 ppm and mSigma below 30.

ABTS free radical scavenging activity

The antioxidant activity was determined *in vitro* by studying the scavenging of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) free radicals, as described previously by Larrauri et al., [17]. For this purpose, AmT was used at concentrations of 5, 50, 100, 500, and 1,000 µg/mL. A total of 20 µL of each AmT concentration was mixed with 1980 µL of ABTS. Ascorbic acid and butyl hydroxytoluene (BHT) standards were prepared at the same concentrations used for AmT, and three independent experiments were performed in duplicate. After 6 min, the absorbance at 734 nm was recorded with a UV/VIS spectrophotometer (PG instruments, Ltd.). The percentage of ABTS radical inhibition was calculated according to Eq 1:

$$\text{Scavenging activity (\%)} = (1 - \text{Abs sample}/\text{Abs control}) \times 100 \quad (1)$$

DPPH free radical scavenging activity

Free radical-scavenger activity was determined by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay, as described previously by Gupta and Gupta [36], with some modifications. The antiradical activity of the extracts was evaluated using a dilution series, which involved the mixing of 1.8 mL of DPPH solution (0.11 mM DPPH in 80% ethanol) with 0.2 mL of AmT (5–1000 µg/mL). After 30 min, the remaining DPPH radicals were quantified by absorption at 517 nm.

The absorbance of each concentration of the AmT was subtracted from absorbance of the samples with DPPH solution. Ascorbic acid and butylated hydroxytoluene (BHT) were used as reference antioxidants. The tests were performed in duplicate in three independent experiments. DPPH solution without the tested sample was used as a control. The percentage inhibition was calculated from the control with the following Eq 2:

$$\text{Scavenging activity (\%)} = (1 - \text{Abs sample}/\text{Abs control}) \times 100 \quad (2)$$

Oxidative hemolysis induced by AAPH

The experimental procedure was submitted to and approved by the Research Ethics Committee involving human beings of the UFGD (authorization No. 1.627.746). The ability of AmT to protect against oxidative hemolysis was evaluated by assessing hemolysis induced by the oxidizing agent 2,2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH) [37]. Fifteen milliliters of human peripheral blood from a single healthy adult individual was collected. The blood was centrifuged at 2,000 rpm, and the plasma and the leukocyte layer were discarded. The erythrocytes were washed three times in 0.9% NaCl, and after washing, a 10% erythrocyte suspension in 0.9% NaCl was prepared. Subsequently, the material was incubated at 37°C for 30 min in test tubes in the presence of different concentrations of ascorbic acid or AmT (50, 100, 500, 1000 µg/ml). Subsequently, 0.9% NaCl or 50 mM AAPH was added to evaluate the hemolytic capacity and the inhibition of oxidative hemolysis, respectively. The samples were kept at 37°C for 240 min with periodic stirring. Three independent experiments were performed in duplicate. The percentage of hemolysis was determined by measuring the absorbance at 540 nm and using Eq 3:

$$\text{Hemolysis (\%)} = (\text{Abs sample}/\text{Abs total hemolysis}) \times 100 \quad (3)$$

Measurement of MDA in human erythrocytes

Lipid peroxidation assays were performed with 10% erythrocyte suspensions. The erythrocytes were incubated at 37°C for 30 min in the presence of different concentrations of ascorbic acid or AmT (50, 100, 500, 1000 µg/ml). Thereafter, 50 mM AAPH was added to the erythrocyte solution and incubated at 37°C for 4 h with periodic stirring. After this period of time, the samples were centrifuged at 2,000 rpm, and 500-µL aliquots of the supernatant were transferred to tubes containing 1 mL of 10 nmol thiobarbituric acid (TBA). As a standard, 500 µL of 20 µM malondialdehyde (MDA) solution was added to 1 mL of TBA. Samples were incubated at 96°C for 45 min. Then, 4 mL of n-butyl alcohol was added and centrifuged at 2,000 rpm. The absorbance of the supernatants was measured at 532 nm. Two independent experiments were performed in triplicate. The concentration of MDA in the samples is expressed in nmol/mL and was obtained from Eq 4:

$$\text{MDA} = \text{Abs sample} \times (20 \times 220.32/\text{Abs standard}) \quad (4)$$

Oral glucose tolerance test in normoglycemic mice

All experimental animal procedures were submitted to and approved by the UFGD Ethics Committee for Animal Use (authorization No. 25.2016) and performed according to the standards of the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

The oral glucose tolerance test (OGTT) was performed after 12 hours of fasting in 15 normoglycemic *Swiss* adult male mice weighing between 55 and 60 g. The mice were given water, metformin (100 mg/kg body weight), or AmT (200 mg/kg body weight), respectively forming the following groups: (1) Control, (2) Metformin, and (3) AmT. After 30 min of treatment, the mice received glucose overload by gavage (2 g/kg body weight). At times 0, 30, 60, 90, 120, and

180 min after the administration of glucose, the glycemia of the mice was measured using caudal venous blood [38] using the Accu-chek Active (Roche) glucose meter and specific glucose test strips.

Measurement of glycemia and tissue MDA levels in diabetic mice

Approximately 60-day-old normoglycemic Swiss male mice were maintained under controlled temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) on a 12-hour light, 12-hour dark cycle with free access to food and water.

The mice were fed for 120 days with a control diet (standard Labina feed for rodents) or a high-calorie diet for the induction of hyperglycemia [32]. After this period, blood glucose levels were measured using the Accu-chek Active (Roche®) device and specific glucose test strips. Hyperglycemic mice (glycemia ≥ 200 mg/dL) fed a high-calorie diet were divided randomly ($n = 5$ per group) and treated for 21 days with water (D-Control Group), 100 mg/kg body weight metformin (D-Metformin Group), or 1 g/mL body weight AmT (D-AmT Group). Normoglycemic mice fed a control diet and water formed the ND-Control Group ($n = 5$).

At the end of the treatment, the blood glucose level of the mice was measured again. The mice were then anesthetized and euthanized. Arterial blood was collected by cardiac puncture, and the liver, nervous system, and eyes were collected for the measurement of MDA by a method adapted from [39]. Arterial blood samples and tissues were homogenized with 1.15% KCl (potassium chloride) and centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. Then, 500 μL of the sample supernatant or 500 μL of the 20 μM MDA standard was added to 1 mL of 10% trichloroacetic acid (TCA) and 1 mL of 10 nmol thiobarbituric acid (TBA) and incubated at 96°C for 45 min. After cooling for 15 min in an ice bath, 3 ml of n-butyl alcohol was added, and the mixture was vortexed and centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. Subsequently, the absorbance of 2 mL of the supernatant was measured at 532 nm on a UV/VIS spectrophotometer. The concentration of MDA in the samples is expressed in nmol/mL and was obtained from Eq (5):

$$MDA = Abs\ sample \times (20 \times 220.32 / Abs\ standard) \quad (5)$$

Biometric parameters of diabetic mice. Body weight (g), water consumption (mL), and feed (g) were evaluated three times per week during the 21 days of treatment. In addition, different deposits of white adipose tissue (epididymal, subcutaneous, mesenteric, and retroperitoneal) were removed and weighed after euthanasia.

Glycation inhibition assay

The potential in inhibiting glycation was performed considering the fructose and methylglyoxal pathway as described by Kiho et al., [40]. Bovine serum albumin 8 mg/mL, 0.1mM fructose and 30 mM methylglyoxal were prepared in phosphate buffer 0.2 M, pH 7.4, containing 3 mM sodium azide, as an antimicrobial agent. To 30 μL AmT (1–1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) was mixed with 135 μL of bovine serum albumin and 135 μL of fructose or 135 μL of methylglyoxal. The mixture reaction was incubated at 37°C for 48 h or 72 h (under sterile conditions in the dark), for inhibition of glycation fructose or glyoxal pathway, respectively. After this period, each sample was examined for the development of fluorescence using a microplate reader DTX 800, Beckman (λ_{ex} 330 nm and λ_{ex} 420 nm) against a blank. Quercetin (1–1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) was used as standard. The control consisted of mixing 30 μL of 80% ethanol with 135 μL of bovine serum albumin and 135 μL of fructose or 135 μL methylglyoxal. Three independent experiments were carried out in triplicate. The percentage of inhibition of glycation was obtained by the Eq (6)

and IC₅₀ values were obtained by non-linear regressions of the concentration-response curve.

$$\text{Inhibition glycation (\%)} = [1 - (\text{Fluorescence} / \text{Fluorescence})] \times 100 \quad (6)$$

Statistical analysis

Results are expressed as the means ± standard error of the mean. Analysis of variance (ANOVA) followed by post-test Student-Newman-Keuls analysis was used for multiple comparisons of results, and Student's t test was used to compare the results of both groups using the Prism 5 GraphPad software. The level of significance was P < 0.05.

Results

Zootherapeutic knowledge

In the interviews of twenty Guarani and Kaiowá indigenous people aged between 20 and 40 years concerning the animal species used in traditional medicine, 30% described the use of *Apis mellifera* bee tea for the treatment of diabetes. This use was reported by individuals aged between 30 and 40 years.

HPLC

The AmT was filtered and analyzed in HPLC-DAD-MS/MS in the positive and negative ionization modes, we observed a significant ionization only in the positive ionization mode (S1 Fig) which was used to characterize Tryptophan derivative, as well as 16 other compounds that still need to be identified (S1 Table).

Antioxidant activity

ABTS and DPPH free radical scavenging. AmT showed excellent direct antioxidant activity with an IC₅₀ value similar to that of BHT and higher than that of ascorbic acid (Table 1).

AAPH-Induced oxidative hemolysis. The antioxidant activity of AmT was also confirmed by the scavenging of free radicals generated by AAPH thermolysis in the human erythrocyte assay. AmT efficiently reduced erythrocyte oxidative hemolysis in a dose- and time-dependent manner, similar to all concentrations of ascorbic acid (Fig 1) except for 1,000 µg/mL, a dose at which ascorbic acid behaved as a pro-oxidant substance.

Measurement of MDA in human erythrocytes. Once protection against oxidative hemolysis was confirmed, its correlation with the reduction of lipid peroxidation was investigated by evaluating the malondialdehyde (MDA) marker in erythrocytes induced with AAPH. Fig 2 indicates that erythrocytes incubated with concentrations greater than 100 µg/mL AmT demonstrated reduced generation of MDA, similar to the observations in erythrocytes incubated

Table 1. ABTS and DPPH free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee tea (AmT) and the standard antioxidants ascorbic acid (AA) and BHT.

Sample	ABTS			DPPH		
	IC ₅₀	Maximum inhibition		IC ₅₀	Maximum inhibition	
	µg/mL	%	µg/mL	µg/mL	%	µg/mL
AA	3.39 ± 0.02	97.30 ± 0.14	10	4.55 ± 0.05	94.77 ± 0.11	50
BHT	13.12 ± 0.13	95.79 ± 0.26	50	21.21 ± 0.8	86.77 ± 0.18	500
AmT	15.63 ± 0.06	95.33 ± 0.68	100	33.74 ± 0.8	87.25 ± 0.44	500

IC₅₀, concentration required to capture 50% of ABTS and 50% of DPPH free radicals from the reaction. Values are expressed as the means ± SEM.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.t001>

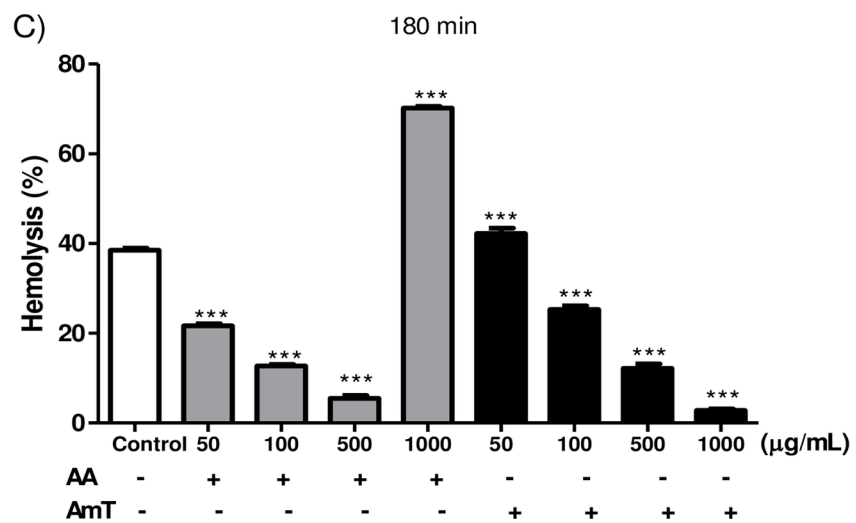
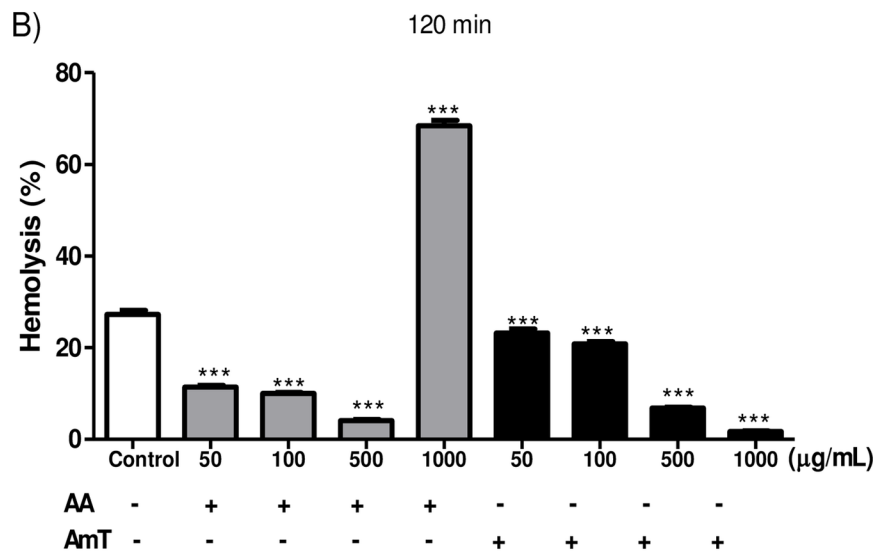
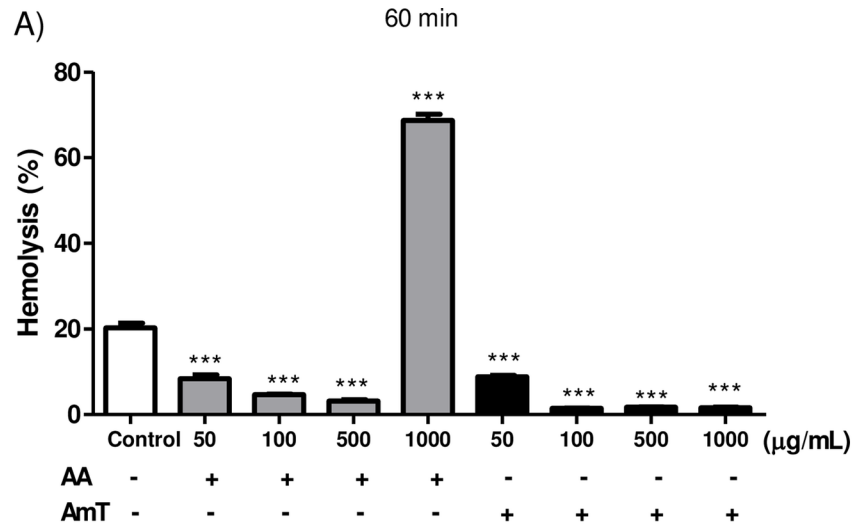


Fig 1. Oxidative hemolysis induced by AAPH. Human erythrocytes incubated with different concentrations (50–1,000 µg/mL) of ascorbic acid (AA) and *Apis mellifera* bee tea (AmT) (A) 60, (B) 120, and (C) 180 min after the addition of AAPH. Values are presented as the means ± SEM. * P<0.05; ** P<0.01; and *** P<0.001 versus Control sample.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.g001>

with ascorbic acid, except at the highest evaluated concentration of 1,000 µg/mL, at which the ascorbic acid demonstrated pro-oxidant activity.

Antihyperglycemic activity

Oral glucose tolerance test in normoglycemic mice. After oral glucose overload, the normoglycemic mice treated with AmT showed a reduced hyperglycemia peak after 30 min and lower blood glucose values at all times evaluated up to 180 min compared to the control mice (Fig 3A). This reduction in serum hyperglycemia can also be observed in the area under the curve, which shows that AmT is more efficient compared with both control and metformin treatment (Fig 3B).

Antidiabetic activity

Glycemia of diabetic mice. The evaluation of glycemia in high-calorie diet-induced diabetic mice on the first (1st) and last (21st) day of treatment demonstrated the antidiabetic activity of AmT. Fig 4 demonstrates that AmT reduced the hyperglycemia of diabetic mice similarly to treatment with metformin and to normoglycemic controls.

Biometric parameters of diabetic mice. The biometric parameters evaluated during the treatment are presented in Table 2. The diabetic mice presented reduced body weights compared to normoglycemic mice, although no variation in feed consumption was observed between groups. Water intake of diabetic mice was approximately 3-fold higher than that of normoglycemic mice. Treatment with AmT reduced water intake to similar levels as the normoglycemic control and metformin groups. In addition, a reduction of subcutaneous WAT is seen in diabetic mice treated with water compared to diabetic mice treated with metformin or

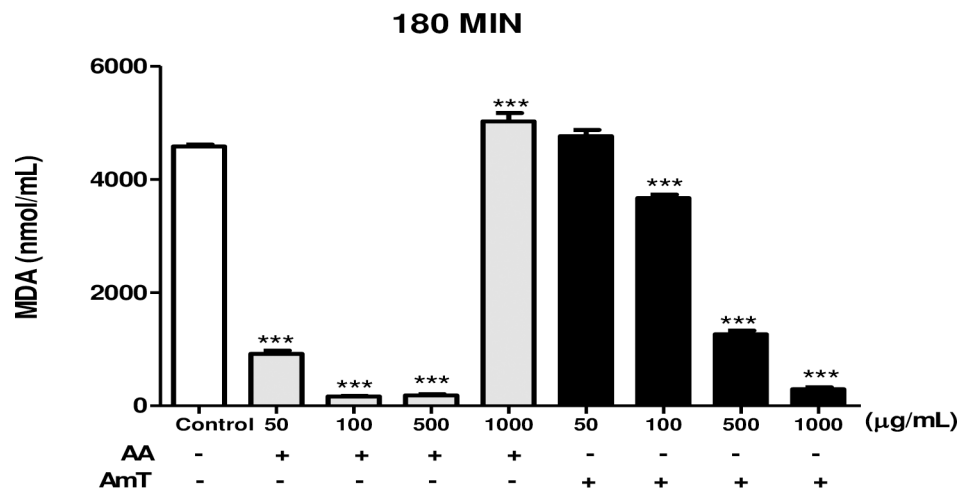


Fig 2. Measurement of MDA in human erythrocytes. Malondialdehyde (MDA) concentration 180 min after the addition of the oxidizing agent (AAPH) in erythrocytes incubated with different concentrations (50–1,000 mg/mL) of ascorbic acid (AA) or *Apis mellifera* bee tea (AmT). Values are presented as the means ± SEM. * P<0.05; ** P<0.01; and *** P<0.001 versus Control sample.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.g002>

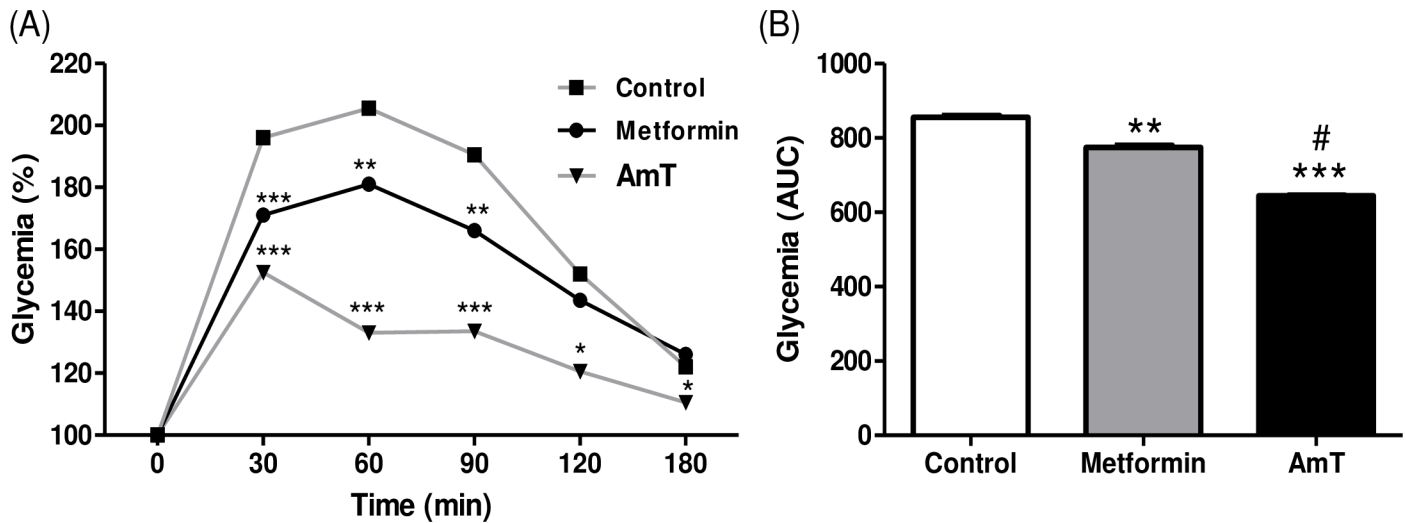


Fig 3. Oral glucose tolerance test in normoglycemic mice. (A) Variation and (B) area under the glycemia curve at 0, 30, 60, and 180 min for mice treated with water, metformin, and AmT after glucose overload. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; and *** $P < 0.001$ versus Control group. # $P < 0.001$ vs. Metformin group.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.g003>

AmT or to normoglycemic mice. The other WAT deposits evaluated were similar among the groups investigated.

Tissue MDA levels in diabetic mice. Compared to normoglycemic mice, diabetic mice treated with water (D-Control) presented increased levels of MDA in the arterial blood (76%), liver (64%), nervous system (152%), and eyes (142%) (Fig 5). AmT-treated diabetic mice showed decreased levels of MDA in the blood (37%), liver (37%), nervous system (48%), and eyes (48%) compared to the D-Control group and similar levels as those of the metformin and normoglycemic control groups (Fig 5). No differences were observed in the relative mass of the organs between the evaluated groups.

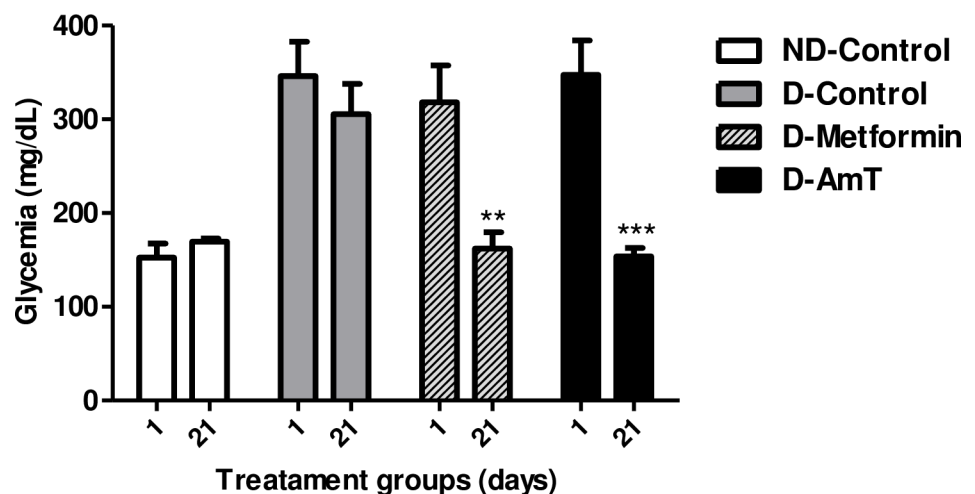


Fig 4. Glycemia of normoglycemic and high-calorie diet-induced diabetic mice treated for 21 days. Glycemia in mice from the ND-Control (normoglycemic + water), D-Control (diabetic + water), D-Metformin (diabetic + metformin), and D-AmT (diabetic + AmT) groups on days 1 and 21 of treatment. Values were compared between days 1 and 21 for each experimental group. ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ versus day 1 of the respective group.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.g004>

Table 2. Biometric parameters and consumption of feed and water of non-diabetic (ND) mice treated with water (D-Control), metformin (D-Metformin), and *Apis mellifera* bee tea (D-AmT) for 21 days.

Parameters	ND-Control	D-Control	D-Metformin	D-AmT
Δ body weight (%)	5.9 ± 0.2 ^a	-13.7 ± 0.4 ^b	-9.8 ± 0.3 ^c	-13.8 ± 0.3 ^b
Feed consumption (g/day/animal)	4.2 ± 0.5 ^a	3.3 ± 0.4 ^a	3.9 ± 0.7 ^a	3.9 ± 0.4 ^a
Water intake (mL/day/animal)	2.7 ± 0.3 ^a	8.3 ± 0.7 ^b	2.1 ± 0.4 ^a	1.8 ± 0.4 ^a
Subcutaneous WAT (g/100 g of BW)	0.29 ± 0.07 ^a	0.08 ± 0.02 ^b	0.18 ± 0.05 ^a	0.23 ± 0.06 ^a
Mesenteric WAT (g/100 g of BW)	0.68 ± 0.15 ^a	1.12 ± 0.27 ^a	0.96 ± 0.26 ^a	1.23 ± 0.31 ^a
Epididymal WAT (g/100 g of BW)	2.99 ± 0.30 ^a	2.09 ± 0.41 ^a	1.63 ± 0.49 ^a	1.97 ± 0.26 ^a
Retroperitoneal WAT (g/100 g of BW)	0.75 ± 0.11 ^a	0.71 ± 0.08 ^a	0.78 ± 0.20 ^a	0.98 ± 0.22 ^a

Δ, body weight variation between the beginning and end of the 21-day treatment expressed in %; WAT, white adipose tissue. Different letters indicate P<0.05 between groups.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.t002>

Glycation inhibition assay. The potential in inhibiting the formation of advanced glycation end products (AGEs) are presented in Table 3. The AmT was able to inhibit 53.23% of glycation by the methylglyoxal pathway and 98.73% by the fructose pathway.

Discussion

Traditional indigenous knowledge about zootherapy is the result of centuries of accumulated experiences and cultural practices. However, with increased globalization and interculturality,

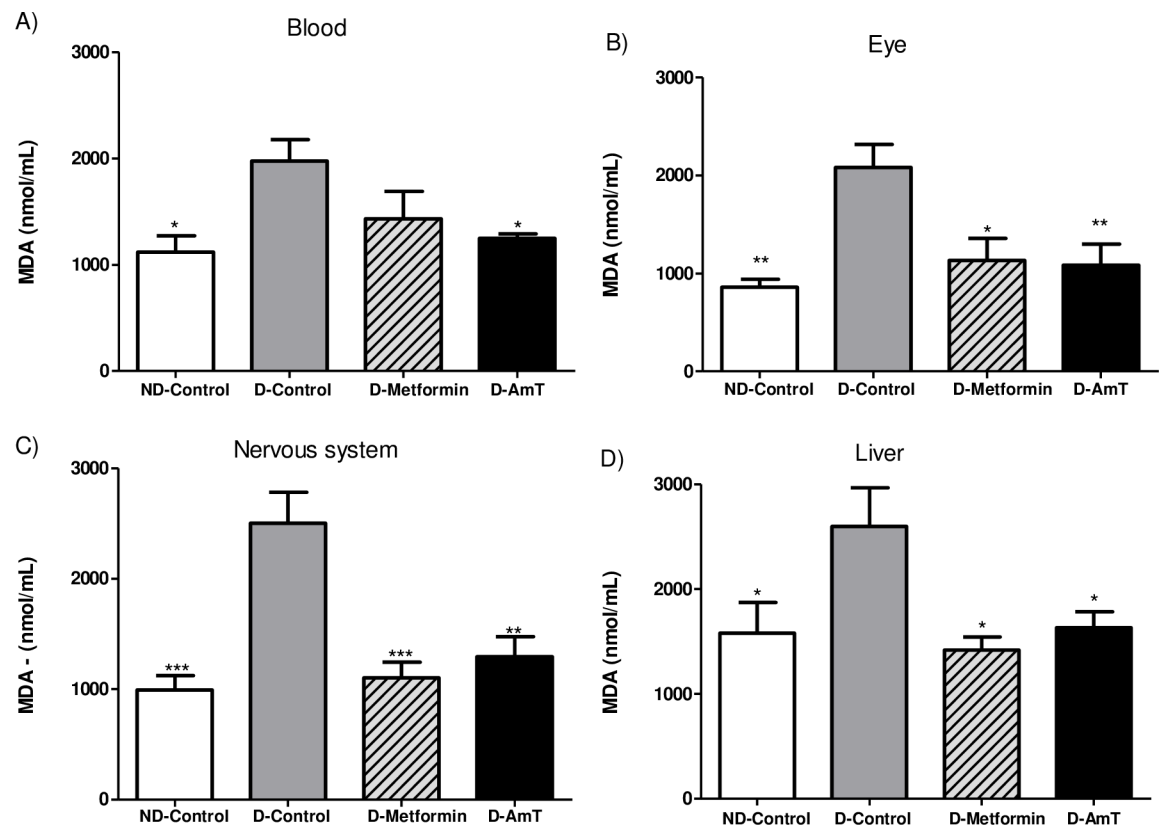


Fig 5. Malondialdehyde concentration (MDA) in the arterial blood, liver, nervous system, and eyes of normoglycemic and diabetic mice. Groups include ND-Control (normoglycemic + water), D-Control (diabetic + water), D-Metformin (diabetic + metformin), and D-AmT (diabetic + AmT) after 21 days of treatment. Data are presented as the means ± SEM. * P<0.05; ** P<0.01; and *** P<0.001 versus D-Control group.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.g005>

Table 3. Glycation inhibition assay.

Sample	Methylglyoxal			Fructose		
	IC ₅₀	inhibition		IC ₅₀	inhibition	
	µg/mL	%	µg/mL	µg/mL	%	µg/mL
Quercetin	35.57 ± 0.85	80.13 ± 0.34	100	0.31 ± 0.02	99.23 ± 0.84	100
AmT	932.63 ± 0.13	53.23 ± 1.54	1000	111.67 ± 3.51	98.73 ± 2.82	1000

The potential for inhibition of glycation by the methylglyoxal and fructose pathways for AmT and Quercetin Control. IC₅₀ values were obtained by non-linear regressions of the concentration-response curve.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197071.t003>

this knowledge, which remains poorly recorded, is being lost over time. Records and scientific research are needed so that experiences accumulated over centuries will not be lost, thus depriving future generations and other communities of this knowledge. Research surveying zotherapies used in Brazil is a recent development [2,41,42], and no study of the knowledge of the Guarani and Kaiowá ethnicities has been performed. Thus, this study contributes to the maintenance of this information and to cultural revitalization by recording and evaluating the use of *Apis mellifera* bee tea for the treatment of diabetes.

In the characterization of chemical compounds, compound 1 showed a UV compatible with Tryptophan and an m/z 188.0706 compatible with the tryptophan skeleton without the ammonium group, as well as 16 other compounds that still need to be identified. The ability to tryptophan of reducing the elevation of blood glucose and improving insulin secretion from β-cells [12] may have contributed for glycemic normalization in diabetic mice treated with AmT. The presence of tryptophan in the blood has been considered a marker of lower risk of diabetes development [13]. For the other compounds we observed two series of compounds, compounds 3 and 4 with the formulas C₁₅H₂₂O₉ and C₁₆H₂₄O₁₀, respectively, both without significant UV absorption and without MS/MS fragments. The search for similar compounds in the literature did not return results. The second series as formed by the compounds number 2, 5–17 which have two nitrogen in their composition with increasing carbonic chain length (C₁₀ to C₂₀), in addition to 1 or 2 oxygen, no one of these compounds also absorbed in the UV spectrum. Again the search for compatible compounds in literature did not return positive results. Several authors demonstrate the presence of waxes in the body composition of bees and other insects, but these do not present nitrogen in their composition [43, 44]. We believe that both classes of compounds could be new in the literature; unfortunately a positive characterization will require other work with this focus.

Oxidative stress promotes insulin secretion defects, decreases insulin sensitivity in peripheral tissues, and causes other complications associated with diabetes, and oxidative stress control is helpful in diabetes treatment [45]. Antioxidant activity is important in biological systems exposed to excess reactive species. For example, muscle cells cultured in the presence of an ROS inducer show reduced glucose uptake that is overcome upon treatment with antioxidant substances [45, 46].

In the present study, AmT showed potential antioxidant, antihyperglycemic, and antidiabetic activities. The antioxidant activity of AmT was demonstrated *in vitro* by the direct scavenging of ABTS and DPPH reactive species, the inhibition of lipid peroxidation induced by AAPH, and the reduction of oxidative hemolysis and malondialdehyde production in human erythrocytes. The peroxidation of polyunsaturated fatty acids in the cell membrane, which is induced by excess free radicals [47], causes damage and cell death [48] and the release of malondialdehyde (MDA), a byproduct derivative of lipid peroxidation [49]. Our results suggest a synergy between compounds with antioxidant properties obtained from macerated whole bees

compared to synthetic antioxidants, ascorbic acid, and BHT. Recently, [50] observed that *Apis mellifera iberiensis* bee venom had antioxidant activity, but they could not attribute this activity to the major compounds, which were identified as melittin, phospholipase A2, and apamine.

The antihyperglycemic activity of AmT was indicated *in vivo* by the control of postprandial hyperglycemia in normoglycemic mice subjected to glucose overload, and this activity was similar to that of metformin. Although the main cellular damage related to diabetes is caused by prolonged exposure to hyperglycemia, strategies to control postprandial hyperglycemia peaks have been associated with reduced vascular damage in diabetic patients [51, 52]. Considering the short time between the administration of AmT and improved glycemic control, it is possible to infer that rapidly acting mechanisms are being activated, such as GLUT4 translocation in skeletal muscle tissue and white adipose tissue [53] or the activation of kinases, which is important in processes related to insulin sensitivity and glucose uptake [54], but these mechanisms still need to be investigated. Additionally, [55], reported that the administration of bee venom (apitoxin) in alloxan-induced diabetic rats increased serum insulin secretion and reduced blood glucose levels. However, melittin, the main constituent of apitoxin, improves insulin sensitivity through the activation of phospholipase A2 in diabetic mice induced by diet [56]. Both apitoxin and melittin may have contributed to the glycemic control observed in this study, although insulin resistance is the predominant mechanism that triggers diet-induced diabetes [57, 58, 59], which was the model used in this study.

In addition, in diabetic mice treated with AmT, the reduction of glycemic parameters to levels similar to metformin and normoglycemic controls and the reduction of lipid peroxidation were observed in the different tissues and organs evaluated.

The involvement of oxidative stress in the etiology and progression of diabetes has created opportunities for the development of antidiabetic therapies linked to the blockade of oxidative pathways with the use of antioxidant substances [40, 60]. In diabetes, hyperglycemia intensifies oxidative stress through mechanisms involving increased aldose reductase enzyme activity, protein kinases [61], and formation of advanced glycation end products [62]. Protein glycation occurs commonly in non-enzymatic reactions, called the Maillard reaction, occurring between free amino groups of proteins and carbonyl groups of reducing sugars such as glucose, fructose, pentoses, galactose, mannose and xylulose, forming a compound unstable, the Schiff base, which undergoes a rearrangement to a more stable product known as Amadori product [63]. The Amadori product degrades to a variety of reactive dicarbonyl compounds, such as methylglyoxal and deoxyglucosones, by dehydration, oxidation and other chemical reactions [64]. In the formation of AGEs, reactive oxygen species can be generated and increase oxidative stress leading to structural and functional damage of macromolecules [40, 63, 64]. The ability of AmT to inhibit the formation of AGEs by fructose pathways was nine times more significant than the inhibition of the reaction of methylglyoxal products, increasing the possibility that this is one of the mechanisms of action of the AmT, contributing to the improvement of glycemic control and complications of diabetes. Metformin is effective in the control of diabetes because it has antioxidant and antihyperglycemic activities that are mediated by different mechanisms [65, 66].

The periodic evaluation of lipid peroxidation products in diabetes is recommended because their detection and early treatment reduce the diabetic complications, such as endothelial dysfunction, neuropathy, and retinopathy, that are mediated by excess reactive species reaching different tissues [67, 68]. The protective effect of AmT was indicated by the reduction of lipid peroxidation in the organs and tissues of diabetic mice; these mice presented levels of MDA similar to normoglycemic animals at the end of treatment. This effect was also observed in diabetic rats treated with combinations of probiotics and vitamin C [69]. In addition, parameters that demonstrate improvement in diabetes, such as the normalization of water intake and the

maintenance of the deposition of subcutaneous white adipose tissue [33, 70], were observed in this study.

Conclusions

Apis mellifera bee tea, a traditional diabetes treatment used by the indigenous Guarani and Kaiowá people groups, in this study showed potential antioxidant, and was efficient in controlled the postprandial hyperglycemia of normoglycemic mice, and normalized glycemia in diabetic mice. These data are important because they contribute to the recording of traditional zotherapeutic knowledge used for the treatment of diabetes.

Supporting information

S1 Text. Semi-structured interview model applied to register traditional knowledge.
(DOCX)

S1 Fig. Chromatography profile of the *Apis mellifera* Tea (AmT).
(TIF)

S1 Table. Compounds characterized by HPLC-DAD-MS/MS in *Apis mellifera* Tea (AmT).
(DOCX)

S1 File. Checklist.
(PDF)

Acknowledgments

The authors thank the support funding of Foundation for Support to the Development of Education, Science and Technology of Mato Grosso do Sul—FUNDECT, the National Council for Scientific and Technological Development—CNPq, and the Brazilian Federal Agency for the Support and Evaluation of Graduate Education—CAPES, and FUNDECT/CAPES No. 27/2015 –PAPOS FASE III.

Author Contributions

Conceptualization: Janielle da Silva Melo da Cunha, Tamaeh Monteiro Alfredo, Jéssica Maurino dos Santos, Luiza Antas Rabelo, Kely de Picoli Souza.

Data curation: Janielle da Silva Melo da Cunha, Kely de Picoli Souza.

Formal analysis: Janielle da Silva Melo da Cunha, Tamaeh Monteiro Alfredo, Jéssica Maurino dos Santos, Valter Vieira Alves Junior, Luiza Antas Rabelo, Emerson Silva Lima, Ana Paula de Araújo Boleti, Carlos Alexandre Carollo, Edson Lucas dos Santos, Kely de Picoli Souza.

Funding acquisition: Valter Vieira Alves Junior, Luiza Antas Rabelo, Carlos Alexandre Carollo, Edson Lucas dos Santos, Kely de Picoli Souza.

Investigation: Janielle da Silva Melo da Cunha, Tamaeh Monteiro Alfredo, Jéssica Maurino dos Santos, Valter Vieira Alves Junior, Luiza Antas Rabelo, Emerson Silva Lima, Ana Paula de Araújo Boleti, Carlos Alexandre Carollo, Edson Lucas dos Santos, Kely de Picoli Souza.

Methodology: Janielle da Silva Melo da Cunha, Tamaeh Monteiro Alfredo, Jéssica Maurino dos Santos, Valter Vieira Alves Junior, Luiza Antas Rabelo, Emerson Silva Lima, Ana Paula de Araújo Boleti, Carlos Alexandre Carollo, Kely de Picoli Souza.

Project administration: Janielle da Silva Melo da Cunha, Kely de Picoli Souza.

Supervision: Janielle da Silva Melo da Cunha, Kely de Picoli Souza.

Validation: Janielle da Silva Melo da Cunha, Jéssica Maurino dos Santos, Valter Vieira Alves Junior, Luiza Antas Rabelo, Carlos Alexandre Carollo, Edson Lucas dos Santos, Kely de Picoli Souza.

Visualization: Janielle da Silva Melo da Cunha, Carlos Alexandre Carollo, Edson Lucas dos Santos, Kely de Picoli Souza.

Writing – original draft: Janielle da Silva Melo da Cunha, Valter Vieira Alves Junior, Luiza Antas Rabelo, Edson Lucas dos Santos, Kely de Picoli Souza.

Writing – review & editing: Janielle da Silva Melo da Cunha, Edson Lucas dos Santos, Kely de Picoli Souza.

References

1. Costa-neto EM. Healing with animals in Feira de Santana City, Bahia, Brazil. 1999; 65(March 1998):225–30. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00158-5](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00158-5) PMID: 10404420
2. Alves RRN, Alves HN. The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. J Ethnobiol Ethnomed [Internet]. BioMed Central Ltd; 2011; 7(1):9. Available from: <http://www.ethnobiomed.com/content/7/1/9doi:10.1186/1746-4269-7-9>.
3. Lev E. Traditional healing with animals (zootherapy): Medieval to present-day Levantine practice. J Ethnopharmacol. 2003; 85(1):107–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00377-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00377-X) PMID: 12576209
4. Maurício J, Bankova V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? 2011; 133:253–60. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032> PMID: 20970490
5. Nazrul-Islam SK, Ferdous AJ, Hassan CM, Hassan M, Sultana S. Screening of honey for its antibacterial properties against pathogenic bacteria including resistant strains of Shigella. Fitoterapia-Milano. 1993; 64(2): 176–178.
6. Takzaree N, Hassanzadeh G, Rouini MR. Evaluation of the Effects of Local Application of Thyme Honey in Open Cutaneous Wound Healing. Iranian Journal of Public Health. 2017; 46(4):545–51. PMID: 28540272
7. Campos JF, Pereira U, Damião MJ, Benedito J, Balestieri P, Andrea C, et al. Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí). Evid Based Complement Alternat Med. 2015;2015. <https://doi.org/10.1155/2015/296186>.
8. Bonamigo T, Campos JF, Alfredo TM, Benedito J, Balestieri P, Andrea C, et al. Oxid Med Cell Longev. 2017;1038153. <https://doi.org/10.1155/2017/1038153>
9. Behrooz J, Divsalar A, Saboury AA. Honey bee venom decreases the complications of diabetes by preventing hemoglobin glycation. J Mol Liq [Internet]. Elsevier B.V.; 2014; 199:371–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2014.09.034>
10. Park JH, Park B, Park KK. Suppression of Hepatic Epithelial-to-Mesenchymal Transition by Melittin via Blocking of TGF- β /Smad and MAPK-JNK Signaling Pathways. Toxins. 2017; 9(4), 138; <https://doi.org/10.3390/toxins9040138>.
11. Rady I, Siddiqui IA, Rady M, Mukhtar H. Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy. Cancer Lett. 2017; 402:16–31. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.010> PMID: 28536009
12. Inubushi T, Kamemura N, Oda M, Sakurai J, Nakaya Y, Harada N, et al. L-tryptophan suppresses rise in blood glucose and preserves insulin secretion in type-2 diabetes mellitus rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) [Internet]. 2012; 58(6):415–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23419400>
13. Chen T, Zheng X, Ma X, et al. Tryptophan Predicts the Risk for Future Type 2 Diabetes. Guillemin GJ, ed. PLoS ONE. 2016; 11(9):e0162192. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162192> PMID: 27598004
14. Khalil SR, Abd-Elhakim YM, Selim ME, Al-Ayadhi LY. Apitoxin protects rat pups brain from propionic acid-induced oxidative stress: The expression pattern of Bcl-2 and Caspase-3 apoptotic genes. Neurotoxicology. 2015; 49:121–31. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.05.011> PMID: 26048086
15. Azman KF, Zakaria R, Abdul Aziz CB, Othman Z. Tualang Honey Attenuates Noise Stress-Induced Memory Deficits in Aged Rats. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016; 2016:1549158. <https://doi.org/10.1155/2016/1549158> PMID: 27119005

16. Shibata T, Shibata S, Shibata N, et al. Propolis, a Constituent of Honey, Inhibits the Development of Sugar Cataracts and High-Glucose-Induced Reactive Oxygen Species in Rat Lenses. *Journal of Ophthalmology*. 2016; 2016:1917093. <https://doi.org/10.1155/2016/1917093> PMID: 27242920
17. Larrauri JA, Rupérez P, Saura-Calixto F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J Agric Food Chem*. 1997; 45:1390–3. <https://doi.org/10.1021/jf960282f>.
18. Leonarduzzi G, Sottero B, Poli G. Targeting tissue oxidative damage by means of cell signaling modulators: The antioxidant concept revisited. *Pharmacol Ther* [Internet]. Elsevier Inc.; 2010; 128(2):336–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.08.003> PMID: 20732353
19. Likidilid A, Patchanans N, Peerapatdit T, Sriratanasathavorn C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of type 2 diabetic patients. *J Med Assoc Thai*. 2010; 93(6):682–93. PMID: 20572373
20. Fatani SH, Babakr AT, NourEldin EEM, Almarzouki AA. Lipid peroxidation is associated with poor control of type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2016; 2016;(15)30061–8. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2016.01.028>.
21. Magder S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? 2006; 8:1–8. <https://doi.org/10.1186/cc3992>.
22. Svilar D, Goellner EM, Almeida KH, Sobol RW. Base Excision Repair and Lesion-Dependent Subpathways for Repair of Oxidative DNA Damage. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011; 14(12):2491–2507. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3466>.
23. Kanwar YS, Wada J, Sun L, Xie P, Wallner EI, Chen S, et al. Diabetic Nephropathy: Mechanisms of Renal Disease Progression. *Exp Biol Med* [Internet]. 2008; 233(1):4–11. Available from: <http://ebm.rsmjournals.com/cgi/doi/10.3181/0705-MR-134>.
24. Madsen-Bouterse SA, Kowluru RA. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008; 9(4):315–27. <https://doi.org/10.1007/s11154-008-9090-4> PMID: 18654858
25. Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: The oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008; 9(4):301–14. <https://doi.org/10.1007/s11154-008-9104-2> PMID: 18709457
26. Baynes JW. Role of Oxidative Stress in Development of Complications in Diabetes. *Diabetes* [Internet]. 1991; 40(4):405–12. Available from: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diab.40.4.405> PMID: 2010041
27. Kokil GR, Veedu RN, Ramm GA, Prins JB, Parekh HS. Type 2 Diabetes Mellitus: Limitations of Conventional Therapies and Intervention with Nucleic Acid-Based Therapeutics. 2014;10; 115(11):4719–43. <https://doi.org/10.1021/cr5002832>.
28. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2014; 103(2):137–49. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002> PMID: 24630390
29. Noeman S, Hamooda HE, Baalash AA. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetol Metab Syndr*. 2011; 3(1):17. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-3-17> PMID: 21812977
30. Emami SR, Jafari M, Haghshenas R, Ravasi A. Impact of eight weeks endurance training on biochemical parameters and obesity-induced oxidative stress in high fat diet-fed rats. *J Exerc Nutr Biochem* [Internet]. 2016; 20(1):30–6. Available from: http://jenb.or.kr/_common/do.php?a=full&bidx=489&aidx=6156.
31. Hjartåker A, Langseth H, Weiderpass E. Obesity and diabetes epidemics: cancer repercussions. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 630: 72–93. PMID: 18637486
32. Nunes-souza V, César-gomes CJ, José L, Da S, Da G, Guedes S, et al. Aging Increases Susceptibility to High Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome in C57BL / 6 Mice: Improvement in Glycemic and Lipid Profile after Antioxidant Therapy. 2016;2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1987960> PMID: 27057272
33. Kang YM, Kim F, Lee WJ. Role of NO / VASP Signaling Pathway against Obesity- Related Inflammation and Insulin Resistance. *Diabetes Metab J*. 2017;89–95. <https://doi.org/10.4093/dmj.2017.41.2.89> PMID: 28447436
34. El-sayed MK. Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *J Ethnopharmacol* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2011; 137(1):643–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.06.020> PMID: 21718775
35. Umeno A, Horie M, Murotomi K, Nakajima Y, Yoshida Y. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules*. 2016; 21(6):708doi: 10.3390/molecules21060708.

36. Gupta D, Gupta RK. Bioprotective properties of Dragon's blood resin: In vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity. *BMC Complement Altern Med*. 2011; 11. doi: 10.1186/1472-6882-11-13.
37. Ferreira J, Pereira U, Fernando L, Macorini B, Mary A, Benedito J, et al. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae). *FOOD Chem Toxicol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;(January). Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.01.008>
38. Aragão DMO, Guarize L, Lanini J, Juliana C, Garcia RMG, Scio E. Hypoglycemic effects of *Cecropia pachystachya* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2010; 128:629–33. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.01.008> PMID: 20064597
39. Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med*. 1993; 15(4):353–63. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90035-S](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90035-S). PMID: 8225017
40. KIHO T, USUI S, HIRANO K, AIZAWA K, INAKUMA T. Tomato Paste Fraction Inhibiting the Formation of Advanced Glycation End-products. *Biosci Biotechnol Biochem* [Internet]. 2004; 68(1):200–5. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1271/bbb.68.200> PMID: 14745184
41. Barros BF, Varela SAM, Pereira HM, Vicente L. Medicinal use of fauna by a traditional community in the Brazilian Amazonia. *Ethnobiol Ethnomedicine*. 2012; 8(1):1–19. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-37>.
42. Chaves TP, Clementino ELC, Felismino DC, Alves RRN, Vasconcelos A, Coutinho HDM, et al. Antibiotic resistance modulation by natural products obtained from *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) and its nest. *Saudi J Biol Sci*. 2015; 22(4):404–8. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.005> PMID: 26150745
43. Tulloch AP. The composition of beeswax and other waxes secreted by insects. *Lipids*. 1970; 5(2):247–58. <https://doi.org/10.1007/BF02532476>.
44. Fratini F, Cilia G, Turchi B, Felicioli A. Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pac J Trop Med* [Internet]. Elsevier B.V.; 2016; 9(9):839–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.07.003> PMID: 27633295
45. Dhanya R, Arun KB, Nisha VM, Syama HP, Nisha P, Kumar TRS. Preconditioning L6 Muscle Cells with Naringin Ameliorates Oxidative Stress and Increases Glucose Uptake. 2015;1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0132429>
46. Krishna MS, Joy B, Sundaresan A. Effect on oxidative stress, glucose uptake level and lipid droplet content by Apigenin 7, 4'-dimethyl ether isolated from *Piper longum* L. *J Food Sci Technol*. 2015; 52(6):3561–70. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1387-6> PMID: 26028738
47. Kuliavienė I, Gulbinas A, Cremers J, Pundzius J, Kupcinskis L, et al. Fatty acids of erythrocyte membrane in acute pancreatitis patients. *World J Gastroenterol*. 2013; 19:5678–84. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i34.5678> PMID: 24039361
48. Chisté RC, Freitas M, Mercadante AZ, Fernandes E. Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. *Life Sci* [Internet]. Elsevier B.V.; 2014; 99(1–2):52–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2014.01.059>. PMID: 24486304
49. Haider L, Fischer MT, Frischer JM, Bauer J, Höftberger R, Botond G, et al. Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain*. 2011; 134(7):1914–24. <https://doi.org/10.1093/brain/awr128>.
50. Sobral F, Sampaio A, Falcão S, Queiroz MJRP, Ricardo C, Vilas-boas M, et al. Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal.; *Food Chem Toxicol*. 2016; 94:172–177. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.06.008> PMID: 27288930
51. American Diabetes Association. Postprandial Blood Glucose. *Diabetes Care*. 2001; 24(4): 775–778. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.4.775>. PMID: 11315848
52. Parkin CG, Brooks N., 2002. Is Postprandial Glucose Control Important? Is It Practical In Primary Care Settings? *Clinical Diabetes*. 2002; 20(2): 71–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.2337/diaclin.20.2.71>.
53. Kurth-Kraczek EJ, Hirshman MF, Goodyear LJ, Winder WW. 5' AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. *Diabetes*. 1999; 48:1667–1671. <https://doi.org/10.2337/diabetes.488.1667>. PMID: 10426389
54. Yamaguchi S, Katahira H, Ozawa S, Nakamichi Y, Tanaka T, Shimoyama T, et al. Activators of AMP-activated protein kinase enhance GLUT4 translocation and its glucose transport activity in 3T3-L1 adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005; 289(4):E643–9 <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00456.2004> PMID: 15928020

55. Mousavi SM, Imani S, Haghighi S, Mousavi SE, Karimi A., 2012. Effect of Iranian Honey bee (*Apis mellifera*) Venom on Blood Glucose and Insulin in Diabetic Rats. *J Arthropod Borne Dis.* 2012; 6(2):136–43. PMID: [23378971](#)
56. Simonsson E, Karlsson S, Ahre B, Aa MH. Islet Phospholipase A 2 Activation Is Potentiated in Insulin Resistant Mice. *Biochem Biophys Res Communi.* 2000; 543:539–43.
57. Kang YH, Cho MH, Kim JY, Kwon MS, Peak JJ, Kang SW, Yoon SY, Song Y. Impaired macrophage autophagy induces systemic insulin resistance in obesity. *Oncotarget.* 2016; 7:35577–35591. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9590> PMID: [27229537](#)
58. Becattini B, Zani F, Breasson L, Sardi C, Agostino VGD, Choo M, et al. JNK1 ablation in mice confers long-term metabolic protection from diet-induced obesity at the cost of moderate skin oxidative damage. *FASEB J.* 2016; 26.pii:fj.201600393R. <https://doi.org/10.1096/fj.201600393R>.
59. Zhao F, Pang W, Zhang Z, Zhao J, Wang X, Liu Y, et al. Pomegranate extract and exercise provide additive benefits on improvement of immune function by inhibiting inflammation and oxidative stress in high-fat-diet-induced obesity rats. *J Nutr Biochem [Internet]. Elsevier Inc.;* 2016; 32:20–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.02.003> PMID: [27142733](#)
60. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414 (December):813–20. <https://doi.org/10.1038/414813a> PMID: [11742414](#)
61. Osawa T, Kato Y. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1043:440–51. <https://doi.org/10.1196/annals.1333.050> PMID: [16037265](#)
62. Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006; 212:167–78. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2006.01.003> PMID: [16490224](#)
63. Monnier VM, Nagaraj RH, Portero-Otin M, Glomb M, Elgawish AH, Sell DR, Friedlander MA. Structure of advanced Maillard reaction products and their pathological role. *Nephrol Dial Transplant.* 1996; 11 Suppl 5:20–6
64. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2014; 18(1):1–14. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.1.1> PMID: [24634591](#)
65. Alhaider AA, Korashy HM, Sayed-Ahmed MM, Mobark M, Kfoury H, Mansour MA. Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chem Biol Interact.* 2011; 192(3) 233–242. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2011.03.014> PMID: [21457706](#)
66. Marycz K, Tomaszewski KA, Kornicka K, Henry BM, N SW, Tarasiuk J, et al. Metformin Decreases Reactive Oxygen Species, Enhances Osteogenic Properties of Adipose-Derived Multipotent Mesenchymal Stem Cells In Vitro, and Increases Bone Density In Vivo. *Hindawi Publishing Corporation;* 2016;2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9785890>.
67. Avogaro A, Albiero M, Menegazzo L, De Kreutzenberg S, Fadini GP. Endothelial dysfunction in diabetes: The role of reparatory mechanisms. *Diabetes Care.* 2011; 34(SUPPL. 2):285–90. <https://doi.org/10.2337/dc11-s239>
68. Cao A, Wang L, Chen X, Guo H, Chu S, Zhang X. Ursodeoxycholic Acid Ameliorated Diabetic Nephropathy by Attenuating Hyperglycemia-Mediated Oxidative Stress. 2016; 39(8):1300–8. <https://doi.org/10.1248/bpb.b16-00094> PMID: [27193377](#)
69. Aluwong T, Ayo JO, Kpukple A, Oladipo OO. Amelioration of Hyperglycaemia, Oxidative Stress and Dyslipidaemia in Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats Treated with Probiotic and Vitamin C. *Nutrients.* 2016;1–15. <https://doi.org/10.3390/nu8050151>
70. Zhang Y, Wu L, Ma Z, Cheng J, Liu J. Anti-Diabetic, Anti-Oxidant and Anti-Hyperlipidemic Activities of Flavonoids from Corn Silk on STZ-Induced Diabetic Mice. *Molecules.* 2016; 21(1):7doi: 10.3390/molecules21010007.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: POTENCIAL FARMACOLÓGICO DO CHÁ DE ABELHAS *Apis mellifera*.

Pesquisador: JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 55719916.1.0000.5160

Instituição Proponente: Fundação Universidade Federal da Grande Dourados/UFMS

Patrocinador Principal: FUND. DE APOIO E DE DESENV. DO ENSINO, CIENCIA E TECN. DO ESTADO DO MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.627.746

Apresentação do Projeto:

O Cerrado brasileiro representa a segunda maior área do País, entretanto, a fauna desta região ainda é pouco conhecida. A identificação de novos princípios ativos continua sendo a bioprospecção de recursos naturais. Entre o período de 1981 a 2002, foram introduzidos no mercado, 877 novos fármacos, sendo que 61% foram obtidos ou baseados em produtos naturais. O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do planeta, Os estudos voltados para a identificação de animais com potencial farmacológico para tratamento de doenças humanas ainda são escassos. O objetivo deste trabalho é avaliar a composição química e o potencial antioxidante e antidiabético do chá de abelhas *Apis mellifera*. As propriedades antioxidantes serão investigadas pelos métodos de captura do radical livre ABTS, pela inibição da peroxidação lipídica induzida por AAPH com dosagem de malonaldeído. As atividades anti-hiperglicemiante e antidiabética serão avaliadas pelo teste oral de tolerância a glicose e durante 28 dias em camundongos Swiss normoglicêmicos e hiperglicêmicos, respectivamente.

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

UF: MS

Município: DOURADOS

CEP: 79.803-010

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



Continuação do Parecer: 1.627.746

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a composição química do chá de abelhas *Apis mellifera* e seu potencial antioxidante e antidiabético

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos:

São pequenos e estão relacionados apenas aos procedimentos de coleta de sangue venoso. Podem ser provocados leve mal-estar, hipotensão leve e transitória, hematoma na área de coleta, desconforto pela pressão provocada pelo “garrote” e leve ardência pela penetração da agulha.

Os benefícios:

São indiretos, consistem na investigação e compreensão do potencial farmacológico do chá de abelhas *Apis mellifera*, que contribuirão para o desenvolvimento de dados que subsidiem a elaboração de produtos nutracêuticos e farmacológicos, tornando-se uma alternativa terapêutica para redução do estresse oxidativo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa usará apenas o sangue coletado para testes antioxidantes, oferecendo risco mínimo aos voluntários, que participarão apenas doando o sangue para as análises descritas no projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

o TCLE apresenta todos os requisitos previstos na resolução 466/12.

Recomendações:

Aprovar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_703782.pdf	03/05/2016 13:38:46		Aceito
Outros	resolucao.jpg	03/05/2016 13:37:21	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

CEP: 79.803-010

UF: MS

Município: DOURADOS

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



Continuação do Parecer: 1.627.746

Folha de Rosto	folhaDeRostoJani.pdf	02/05/2016 19:46:29	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	02/05/2016 19:28:55	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declara.pdf	02/05/2016 19:28:09	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termo.pdf	02/05/2016 19:27:47	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	02/05/2016 19:25:29	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	infra.pdf	02/05/2016 19:25:01	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	23/04/2016 18:27:33	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetodePesquisia.doc	23/04/2016 18:27:17	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

DOURADOS, 06 de Julho de 2016

Assinado por:
Leonardo Ribeiro Martins
(Coordenador)

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

UF: MS

Município: DOURADOS

CEP: 79.803-010

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: UTILIZAÇÃO DE RECURSOS ANIMAIS COMO FONTE DE NOVOS FÁRMACOS

Pesquisador: JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 61313616.0.0000.5160

Instituição Proponente: Fundação Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD-MS

Patrocinador Principal: FUND. DE APOIO E DE DESENV. DO ENSINO, CIENCIA E TECN. DO ESTADO DO MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.858.827

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma relevante pesquisa que visa mapear a utilização de recursos animais como fonte de novos produtos farmacológicos. A pesquisa se baseará em entrevistas com acadêmicos e servidores da UFGD. Trata-se de uma proposta bem descrita e com dimensões bem claras e objetivas. A metodologia (de natureza quantitativa e qualitativa) está bem descrita e adequada à proposta.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos estão claramente descritos e se baseiam na hipótese que os dados obtidos nesta pesquisa possam levar a uma melhor compreensão da zooterapia, levando em consideração não só os seus aspectos ecológicos, mas também culturais e farmacológicos relevantes pra a bioprospecção de novos produtos ativos. O objetivo principal da pesquisa é, assim, compilar informações sobre as espécies e recursos animais utilizados na medicina popular no estado de Mato Grosso do Sul e discutir possíveis implicações conservacionistas e farmacológicas decorrentes da exploração de algumas espécies. Como objetivo secundário, o projeto pretende identificar e descrever as espécies e os recursos animais utilizadas para fins medicinais; investigar as indicações terapêuticas e aspectos farmacológicos na utilização dos recursos naturais descritos; Investigar e relacionar os aspetos de biodiversidade e conservação dos recursos naturais

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

UF: MS

Município: DOURADOS

CEP: 79.803-010

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



Continuação do Parecer: 1.858.827

relacionados a utilização de animais como medicina popular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão suficientemente descritos prevendo, inclusive, eventuais desconfortos de cunho "psicológico", mas deixando claro que se tratam de riscos mínimos e que serão evitados sempre que possível. Os benefícios também estão claramente descritos e se são de médio e longo prazo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

É uma pesquisa relevante e importante, com grande potencial científico para o desenvolvimento de novos produtos e que podem servir de subsídio para políticas de preservação da fauna brasileira, destacadamente da região de Dourados/MS. A pesquisa não apresenta informações que possam indicar prejuízo à ética da pesquisa com seres humanos, demonstrando grande seriedade e profissionalismo da pesquisadora.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Está adequado e preenche os requisitos estabelecidos nas normativas nacionais.

Recomendações:

Sem recomendações, exceto pela aprovação do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pela aprovação do projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_814897.pdf	17/11/2016 10:40:01		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Corrigido.pdf	17/11/2016 10:39:06	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa_Entrevistas.doc	17/11/2016 10:37:35	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Outros	questionario.pdf	24/10/2016 12:13:32	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Outros	Resol279.pdf	24/10/2016	JANIELLE DA SILVA	Aceito

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

CEP: 79.803-010

UF: MS

Município: DOURADOS

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



Continuação do Parecer: 1.858.827

Outros	Resol279.pdf	12:12:07	MELO DA CUNHA	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	24/10/2016 12:08:27	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao.pdf	24/10/2016 12:08:02	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termo_de_compromisso.pdf	24/10/2016 12:07:34	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	infra_estrutura.pdf	24/10/2016 12:07:02	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	24/10/2016 12:06:03	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	24/10/2016 12:05:20	JANIELLE DA SILVA MELO DA CUNHA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

DOURADOS, 07 de Dezembro de 2016

Assinado por:
Leonardo Ribeiro Martins
(Coordenador)

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

UF: MS

Município: DOURADOS

CEP: 79.803-010

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS, 12 de maio de 2016.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Potencial farmacológico do chá de abelhas *Apis mellífera***", registrada sob o protocolo de nº 25/2016, sob a responsabilidade de *Kely de Picoli Souza e Janielle da Silva Melo da Cunha* – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 06/05/2016.

<i>Finalidade</i>	<i>(X) Ensino () Pesquisa Científica</i>
<i>Vigência da autorização</i>	<i>29/05/2016 a 30/08/2017</i>
<i>Espécie/linhagem/raça</i>	<i>Mus musculus Swiss</i>
<i>Nº de animais</i>	80
<i>Peso/idade</i>	60 dias
<i>Sexo</i>	70 Machos e 10 Fêmeas
<i>Origem</i>	Biotério da Universidade Federal da Grande Dourados

Melissa Negrão Sepulveda
Coordenadora CEUA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS, 31 de janeiro de 2017.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Potencial Farmacológico do Extrato Biliar de *Agouti paca***", registrada sob o protocolo de nº 48/2016, sob a responsabilidade de *Kely de Picoli Souza e Janielle da Silva Melo da Cunha* – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 18/11/2016.

<i>Finalidade</i>	<i>(X) Ensino () Pesquisa Científica</i>
<i>Vigência da autorização</i>	<i>01/02/2017 a 30/07/2017</i>
<i>Espécie/linhagem/raça</i>	<i>Mus musculus / C57Bl/6</i>
<i>Nº de animais</i>	90
<i>Peso/idade</i>	60 dias
<i>Sexo</i>	70 machos e 20 fêmeas
<i>Origem</i>	Biotério Central da UFGD

Melissa Negrão Sepulvida

Melissa Negrão Sepulvida
Coordenadora CEUA



RESOLUÇÃO Nº 279, DE 19 DE OUTUBRO DE 2016.

A PRESIDENTE DO CONSELHO DIRETOR DA FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS, da Fundação Universidade Federal da Grande Dourados, no uso de suas atribuições legais, **RESOLVE, ad referendum:**

I. Aprovar o projeto de pesquisa "Potencial farmacológico do extrato biliar de *Agouti pacá*", coordenado pela professora Kely de Picoli Souza.

II. Aprovar o projeto de pesquisa "Utilização de recursos animais como fonte de novos fármacos", coordenado pela professora Kely de Picoli Souza.

GISELE JANE DE JESUS
PRESIDENTE



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº AC4E106

A atividade de acesso ao Conhecimento Tradicional Associado, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AC4E106**
Usuário: **Janielle da Silva Melo da Cunha**
CPF/CNPJ: **975.542.861-53**
Objeto do Acesso: **Conhecimento Tradicional Associado**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

apenas descrição do nome de animais para fins medicinais.

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **UTILIZAÇÃO DE RECURSOS ANIMAIS COMO FONTE DE NOVOS FÁRMACOS**

Equipe

Janielle da Silva Melo da Cunha **Unifap**

Data do Cadastro: **21/03/2018 10:01:23**

Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **20:11** de **08/07/2018**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Certidão
Cadastro nº AC4E106**

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **AC4E106**
Usuário: **Janielle da Silva Melo da Cunha**
CPF/CNPJ: **975.542.861-53**
Objeto do Acesso: **Conhecimento Tradicional Associado**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

apenas descrição do nome de animais para fins medicinais.

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **UTILIZAÇÃO DE RECURSOS ANIMAIS COMO FONTE DE NOVOS FÁRMACOS**

Equipe

Janielle da Silva Melo da Cunha **Unifap**

Data do Cadastro: **21/03/2018 10:01:23**
Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **12:34** de **23/05/2018**.



**SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - SISGEN**